Основни техники за генетична модификация при растенията

Понастоящем се използват няколко техники за генетична модификация при растенията. Те изискват или отстраняване на клетъчната стена (протопластна трансформация), или позволяват въвеждането на нуклеинови киселини в клетки с клетъчна стена, интактни тъкани или дори цели растения.

Най-често използваните техники са: трансформация с вектор почвената бактерия *Agrobacterium tumefaciens* (Agrobacterium-медиирана генетична трансформация) и трансформации, при които се използват механични методи като ускоряване на частиците (най-често се прилага т.нар. бомбардиране с частици). Изборът на метод зависи от реципиентното растение и от желаните нови характеристики и употреби. Целта на генетичната модификация е да се получат линии селскостопански растения с предимства пред класическите: подобрени хранителни качества (например обогатяване на ориза с каротин – предшественика на витамин А); устойчивост към вредители и заболявания; толерантност към хербициди; повишена поносимост към засушаване или солена почва.

При Agrobacterium-медиираната трансформация се използва способността този вид бактерия да пренася ДНК в растителни клетки. *A. tumefaciens* естествено инфектира голям брой растителни видове и предизвиква образуване на растителни тумори, в които се развива. Туморите всъщност се причиняват от един плазмид на бактерията, наречен Ti (от англ. *tumor-inducing*). След като растението бъде заразено, Ti-плазмидът се прехвърля от бактериалната в растителна клетка, интегрира се в нейния геном и причинява злокачествената й трансформация. Ti-плазмидът не е канцерогенен за животните и човека и базирайки се на него са създадени вектори за клониране и експресия на чужди гени в растителни клетки. Чрез тях, например, е възможно да се

въведе в клетки от дадено културно растение инсектицидния ген на бактерията *B. thuringiensis.* Частта от бактериалната ДНК, която обикновено се внася от Agrobacterium в ДНК на растителната клетка, се заменя с инсектицидния ген. Полученото по този начин генетично модифицирано растение ще съдържа продукта на въведения нов ген и ще е устойчиво към неприятели. Първото генетично модифицирано растение – тютюн устойчив на хербициди – е разработено в началото на 80-те години по този метод.

Растенията, също така, могат да бъдат трансформирани с помощта на **вирусни вектори чрез директна инфекция.** При директната инфекция могат да се използват както ДНК-ови, така и РНК-ови вируси. Тъй като в тези случаи е възможно вирусът да присъства с голям брой копия и да е разпространен в цялото растение, а крайният продукт да бъде пречистен от всички вирусни остатъци, тези методи на трансформация се използват предимно за производство на протеини с промишлено значение като антитела и ваксинни антигени.

Бомбардирането с частици (наречено още генна пушка, или биолистично генетично модифициране) се състои в покриване на микроскопични частици, напр. злато, с ДНК, която трябва да бъде въведена в растението реципиент. След това под високо налягане с миниатюрните частици се „обстрелват“ растителните тъкани. В някои случаи екзогенната ДНК навлиза в клетъчното ядро където спонтанно се инкорпорира в растителния геном. В сравнение с Agrobacterium-медиираната генетична трансформация, този метод е по-малко ефективен. Въпреки това, той остава най-успешният начин за генетично модифициране на растения, които трудно се заразяват с Agrobacterium.

Генетичната трансформация при растенията е стабилна когато въведеният ДНК сегмент се интегрира в някоя от хромозомите на реципиентната клетка. Интеграцията се извършва на случайна позиция в генома, а експресията на новия ген зависи както от тази позиция (позиционен ефект[1]), така и от броя копия на интегрирания сегмент. Обикновено се предпочита въвеждане на едно копие, тъй като в този случай по-рядко се наблюдава ефект на генно заглушаване в гостоприемника. След въвеждането на

[1] промяна във фенотипната изява на един или повече гени, която се дължи на промени в тяхното местоположение в генома

екзогенната ДНК растенията могат да бъдат регенерирани от единични клетки или протопласти. Ефективността на процеса зависи от тъканта, от която са получени клетките, както и от използвания сорт. Регенерираните растения трябва да бъдат подложени на скрининг за да се елиминират тези с нежелани белези. Като крайни продукти се подбират генетично модифицираните растения с желаните нови белези, които съдържат само едно копие от въведения ген.

Тъй като едно или няколко копия на въведения ген (или негови фрагменти) се разполагат случайно на едно или няколко места в генома на растението гостоприемник, а експресията на новия ген зависи от местоположението му и от броя на неговите копия, е възможно да се получат непредвидени ефекти при генетичната трансформация. С други думи, всяко от генетично модифицираните растения с един и същ ДНК фрагмент ще има уникална експресия на въведената генетична информация поради различното й разположение. Случайното свързване на екзогенната ДНК може също така да предизвика мутации или да промени експресията на други гени.

Източник:

Explanatory note
New Techniques in Agricultural Biotechnology
SAM High Level Group of Scientific Advisors April 2017, 49-52

Д-р Антония Димитрова, главен експерт
Дирекция „Оценка на риска по хранителната верига“, ЦОРХВ
22.03.2018 г.