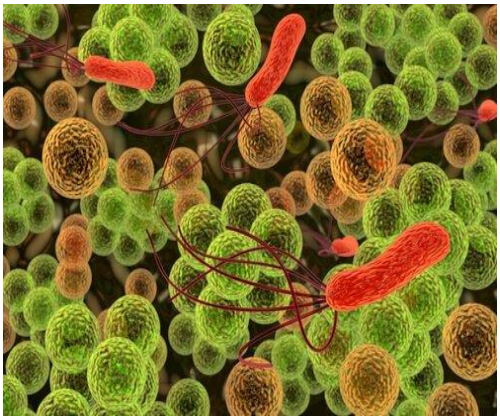
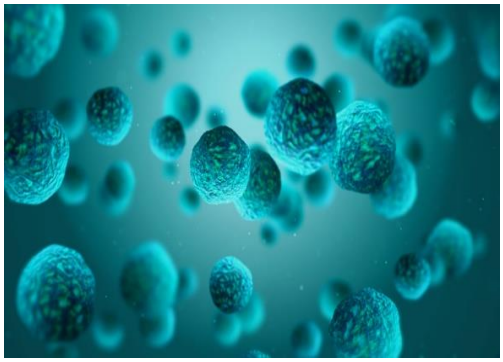
Основни техники за генетична модификация при миркоорганизмите



През 1973 г. H. Boyer и S. Cohen създават първия генетично модифициран организъм като въвеждат ген за антибиотична резистентност в плазмид на бактерията *Escherichia coli*. Продуктът на новия ген придава резистентност към антибиотика канамицин, а модифицираните *E. coli* могат да живеят в среда в присъствие на този антибиотик.

През 1976 г. е създадена първата компания занимаваща се с генетично инженерство, а само година по-късно тя произвежда човешкия протеин соматостатин (хормон, който инхибира хормона на растежа) в *E. coli*.

При микроорганизмите е възможно създадени *in vitro* ДНК фрагменти да се въвеждат в техния геном. Това се осъществява с различни методи. Един от често използваните е **електропорацията**. Тя е метод за **трансформация на ДНК**, при който чрез въздействие на външно електрическо поле върху липидните диполи на порите на клетъчната мембрана се способства пасивен мембранен транспорт. Процесът на генетична модификация резултат от директно абсорбиране през клетъчната мембрана на чужда ДНК от околната среда и интегрирането й в клетката гостоприемник, е трансформация. Трансформацията обикновено се отнася до трансфер на невирусна ДНК в бактерии и не-животински еукариотни клетки (растения и дрожди). В клетката на организма реципиент въведеният екзогенен ДНК фрагмент впоследствие се поддържа стабилно или чрез интегриране в генома на гостоприемника или в самостоятелно реплициращ се плазмид, в резултата на което се получава генетично модифициран/рекомбинантен организъм.



Доста по-рядко използван метод за въвеждане на ДНК при микроорганизмите е **конюгацията**. Тя е полов процес, при който временно се сливат два индивида (микроорганизми) и обменят части от ядрените си апарати, което води до изменение на конюгиращите индивиди. Конюгацията е особено полезна в случаите, при които реципиентът е устойчив на трансформация. **Трансдукцията**[1] също може да се използва за пренос на генетичен материал между близкородствени бактериални щамове. Тя играе важна роля и при картирането, изолирането и комбинирането на мутации в моделни бактерии като *E. coli*.

Стабилни модифицирани бактерии могат да бъдат получени и чрез сливане на протопласти след ензимно отстраняване на клетъчните им стени. Методиките имат вариации, но са приложими както за бактерии, така и за гъби, включително дрожди.

В зависимост от наличието на рекомбинантна ДНК, крайните продукти получени от ГМ микроорганизми са разделени в три групи от Европейския орган по безопасност на храните (EFSA, 2006):

- Химически чисти вещества и техни смеси, от които ГМ микроорганизмите и вмъкнатите нови гени са били отстранени (аминокиселини, витамини);
- Комплексни продукти, които не съдържат жизнеспособни микроорганизми, нито рекомбинантна ДНК (екстракти от клетки, фуражни ензимни препарати, вино, бира);
- Продукти, състоящи се или съдържащи ГМ микроорганизми способни да се размножават или интактна рекомбинантна ДНК (живи или термично инактивирани закваски, пробиотици, сирена, кисели млека).

Непредвидените ефекти от прилагане на основните техники за генетична модификация при микроорганизмите са значително по-малко от тези при растенията и животните поради по-малкия размер на микробния геном. При микроорганизмите тези техники обикновено включват прецизно въвеждане на генетичен материал, което

[1] Трансдукцията е пренос на ДНК от една клетка в друга посредством вирус. В частния случай при бактерии преносът се извършва от бактериофаги

обикновено не води до случайна/нежелана ДНК интеграция. Настоящото ниво на технологиите за секвениране на целия геном (*Whole genome sequences* – WGS) позволява пълно секвениране на микробните геноми за разлика от по-големите и сложни геноми на растенията и животните. Чрез WGS надеждно се потвърждават въведените нови гени, както и се откриват нежелани интеграции. Плейотропните[2] ефекти на въведените гени не могат обаче да се изключат.

Източник:

Explanatory note

New Techniques in Agricultural Biotechnology

SAM High Level Group of Scientific Advisors April 2017, 53-55

д-р Антония Димитрова, главен експерт

Дирекция „Оценка на риска по хранителната верига“, ЦОРХВ

4.07.2018 г.

[2] плейотропия – действие чрез което единичен ген влияе върху два или повече иначе явно несродни признаци във фенотипа на даден организъм