მწერების მიმართ რეზისტენტული გმ სიმინდის ეფექტური სკრინინგი PCR-დიაგნოსტიკით

თამუნა მამულაშვილი

სამაგისტრო ნაშრომი წარდგენილია ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და მედიცინის ფაკულტეტზე სურსათის მეცნიერების მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მინიჭების მოთხოვნის შესაბამისად

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: ნელი დათუკიშვილი, ასოცირებული პროფესორი, ბიოლოგიის დოქტორი

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

თბილისი, 2022

განაცხადი

როგორც წარდგენილი სამაგისტრო ნაშრომის ავტორი, ვაცხადებ, რომ ნაშრომი წარმოადგენს ჩემს ორიგინალურ ნამუშევარს და არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოუქვეყნებელ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად.

ავტორი: თამუნა მამულაშვილი

თარიღი: 04-07-2022

აბსტრაქტი

გენმოდიფიცირებული სიმინდი ერთ-ერთი ყველაზე ფართოდ გავრცელებული ტრანსგენური მცენარეა. უამრავი საკვები პროდუქტის წარმოებაში შეიძლება იქნეს გამოყენებული სიმინდი და მნიშვნელოვანია რომ ვიცოდეთ მისი ზუსტი შემადგენლობა.მცენარეთა ბიოტექნოლოგია ძირითადად მიმართულია სასოფლო-სამეურნეო კულტურების აგრონომიული ნიშან-თვისებების გაუმჯობესებაზე როგორიცაა: • მწერების მიმართ რეზისტენტობის გაუმჯობესება • პესტიციდებისა და ჰერბიციდების გამოყენების შემცირება • მცენარეთა სიცოცხლისუნარიანობის გაზრდა რთულ გარემო პირობებში. ზოგიერთი მცენარის აგრონომიული თვისებების გაძლიერება უკვე მიღწეულია, თუმცა როგორც ჩანს, საკვების მწარმოებლებისა და მომხმარებელთა მოთხოვნილების დასაკმაყოფილებლად გენეტიკური მოდიფიკაციით პროდუქტების გაუმჯობესების შესაძლებლობები მაინც შეზღუდულია. წარმოდგენილი კვლევის მიზანს წარმოადგენს გენმოდიფიცირებული სიმინდის სკრინინგისათვის ეფექტური პჯრ-პრაიმერებისა და მეთოდის შერჩევა. შემოწმდება ჰიპოთეზა: პჯრ-ის შედეგი დამოკიდებულია ამპლიკონის სიგრძეზე და პრაიმერების ეფექტურობაზე. ამისთვის გამოვიკვლევთ სხვადასხვა სახის პრაიმერებს, როგორიცაა გმო-ს რეგულატორული ელემენტების (პრომოტორისა და ტერმინატორის) სპეციფიკური პრაიმერები, აგრეთვე მწერების მიმართ რეზისტენტულ გმ სიმინდში კლონირებული ენდოტოქსინის გენის (cry1) -ის შესაბამისი პრაიმერები. სხვადასხვა პრაიმერებით ჩატარებული ამპლიფიკაციით მიღებული პჯრ-პროდუქტების შედარებით დადგინდება ყველაზე ეფექტური პჯრ-მეთოდი გმ სიმინდის სკრინინგისათვის. სამაგისტრო კვლევის მეთოდოლოგია მოიცავს რამდენიმე თანმიმდევრულ საფეხურს: გმ სიმინდის საკვლევი ნიმუშების შერჩევა და მომზადება. შემდგომ მოვახდენთ გენომური დნმ-ის რაოდენობისა და დეგრადაციის შემოწმება აგაროზას გელზე ელექტროფორეზით. შემდგომ ეტაპზე პჯრ აპარატის საშუალებით მოხდება დნმ-ის ამპლიფიკაცია სხვადასხვა პრაიმერებით. მიღებული პჯრ-პროდუქტების შეფასება აგაროზას გელზე ელეტროფორეზით და მიღებული შედეგების ანალიზი და ინტერპრეტაცია. კვლევის შედეგად აღმოჩნდა რომ Cry1A(b) ენდოტოქსინის გენის შესაბამისი პრაიმერებით (Cry98f/Cry98r Cry98f და Cry102f / Cry102r) შესაძლებელია გმ სიმინდის MON810- ვარიაციის დეტექცია, მაგრამ ისინი არ გამოდგება BT176-ვარიაციის დეტექციისათვის. მწერების მიმართ რეზისტენტული გმ სიმინდის ორივე ვარიაციის ეფექტური სკრინინგი პჯრ-დიაგნოსტიკით შესაძლებელია CaMV35S პრომოტორის სპეციფიკური პრაიმერებით (P35Sf / P35Sr). აგრეთვე ჩატარებული ცდების შედეგად დავადგინეთ რომ სიმინდის სახეობის ეფექტური დეტექცია შესაძლებელია ზეინის გენის შესაბამისი პრაიმერების (Zein94f და Zein94r) გამოყენებით პჯრ-მეთოდით.ამპლიფიკაციის შედეგად სინთეზირდება 94 bp სიგრძის ამპლიკონი.

ძირითადი საძიებო სიტყვები:

გენმოდიფიცირებული სიმინდი, MON 810, bt-176, cry1Ab -გენი, პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია (პჯრ), აგაროზას გელზე დნმის ელექტროფორეზი

სარჩევი

შესავალი 5

თავი 1. გენმოდიფიცირებული ორგანიზმები 7

1.1 გმოს ზოგადი დახასიათება 7

1.2 გმოს გავრცელება 8

1.3 გმოს სასარგებლო თვისებები 10

1.4 გმოს რისკები 12

1.5 გმორისკის შეფასება 13

თავი 2. გმოს დეტექციის მეთოდები 15

2.1 პჯრ ანალიზი 15

2.2 გმოს დეტექციის და რაოდენობის განსაზღვრა საკვებში 17

2.3 რაოდენობრივი PCR (Q-PCR) გამოყენება 18

2.4 მულტიპლექსური პჯრ 19

2.5 გმოს გამოვლენის თვისებრივი მეთოდები 19

თავი 3 .გმოს საკანონმდებლო რეგულაცია 20

3.1 გმოს საკანონმდებლო რეგულაცია საქართველოში 20

3.2 კარტახენის ოქმი 21

თავი 4 . გენმოდიფიცირებული სიმინდის დახასიათება 22

4.1 გმოსიმინდის ხაზი MON810 24

4.2 სიმინდის ხაზი Bt-176 25

მეთოდოლოგია 27

თავი 1. კვლევის ობიექტების შერჩევა 27
1.2 აგაროზას გელზე ელექტროფორეზი 28
1.3 კვლევის დროს გამოყენებული პჯრ მეთოდების აღწერა 28
შედეგები და განხილვა 31
დასკვნა 37
ბიბლიოგრაფია 38

აბრევიატურების ჩამონათვალი

გმო- გენეტიკურად მოდიფიცირებული ორგანიზმი;

გმ - გენეტიკურად მოდიფიცირებული;

PCR (პჯრ) - პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია;

Bp - ფუძეთა წყვილი;

FAO - სოფლის მეურნეობის ორგანიზაცია;

WHO - ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაცია;

პჯრ - პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია

დნმ - დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავა

FDA - სურსათისა და წამლის ადმინისტრაცია

CaMV 35S - ყვავილოვანი კომბოსტოს მოზაიკური ვირუსის პრომოტორი

NOS - აგრობაქტერიის ნოპალინ-სინთაზას გენის ტერმინატორი

Bt კულტურა - Bacillus thuringiensis - ის ტოქსინის გენის მქონე გმ კულტურა

MON 810 - გენეტიკურად მოდიფიცირებული ბტ სიმინდის კულტურა