

Клеткалық селекция әдістері

Жоспар:

1. Клеткалық селекция әдістері
2. Төзімді клеткаларды сұрыптау
3. Сомаклондық варианттар

Клеткалық селекция - *in vitro* жағдайында өсірілген клеткалардың арасынан **нақтылы бір селективтік жағдайға** сәйкес өзгеріске ұшырап, пайдалы қасиетке ие болған клеткаларды көбейтіп сұрыптап алу.

Клеткалық селекцияның артықшылығы:

- жыл мерзімінен тәуелсіздік;
- бір мезгілде миллиондаған дарақпен жұмыс істеу мүмкіндігі;
- уақыттың үнемділігі;
- егіс көлемінің үнемделегі

in vitro жағдайында өсімдік клеткаларының өзгергіштігі



Морфологиялық және биохимиялық қасиеті



Физиологиялық күйі



Генетикалық

➤ **Сомаклондық варианттар** - клетка линияларының немесе өсімдік регенеранттардың әр түрлілігі.

Экспланттағы сомалық
клеткаларының
генетикалық
гетерогенділігі

Генетикалық және
эпигенетикалық
өзгергіштік

**Сомаклондық варианттардың
шығуына әсер ететін факторлар**

Эксплант
генотипі

Өсіру
жағдайы

Түр және жас
ерекшеліктері

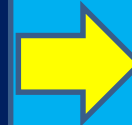
Плоидтылық
деңгейі

Клетка
культураларының
полиморфизмі

Қоректік
орта
құрамы

Корреляциялық
байланыстардың
жойылуы

өсіру
жағдайы



Клеткаларда туындайтын өзгерістер

Тұқым қуалайтын (генетикалық)

Генетикалық өзгерістер:

- ✓ жеке гендердің мутациялары,
- ✓ амплификация, делеция,
- ✓ ядродан тыс гендердің өзгеруі,
- ✓ хромосомалар құрылымындағы ауытқулар

Эпигенетикалық өзгерістер - геномда өзгеріс болмайды, тек организмнің дамуы кезінде **гендердің экспрессиясы** ғана өзгереді

Тұқым қуаламайтын (модификация)

Модификациялық өзгергіштік – клеткалардың тіршілік жағдайына бейімделуіне оңтайлы әсер етеді

Клеткалардағы мутагенез

```
graph TD; A[Клеткалардағы мутагенез] --> B[Кездейсоқ]; A --> C[Жасанды жолмен қоздыру]; B --> D[Клеткалардағы өзгергіштік]; C --> D; D --> E[Регенерант – өсімдіктер, Сомоклондық варианттар];
```

Кездейсоқ

**Жасанды жолмен
қоздыру**

Клеткалардағы өзгергіштік

**Регенерант – өсімдіктер,
Сомоклондық варианттар**

Клеткалық селекция әдістері



Тұра селекция

(эпигенетикалық өзгерістер арқасында белгілі бір стресс факторға төзімділік көрсеткен клеткалар ғана тірі қалады)

Кері немесе

негативтік селекция

(қажетті қасиеттері бар клеткалар өспеу үшін ерекше жағдай тудырады, осыдан кейін тірі қалған мутант клеткаларды қолайлы қоректік ортаға көшіріп, көбейтіп өсіріп, тұрақты линияларды алады)

Клеткалық селекция



Тоталды селекция

- барлық
клеткалар
клондарына
индиви-
дуалды
талдау жасау

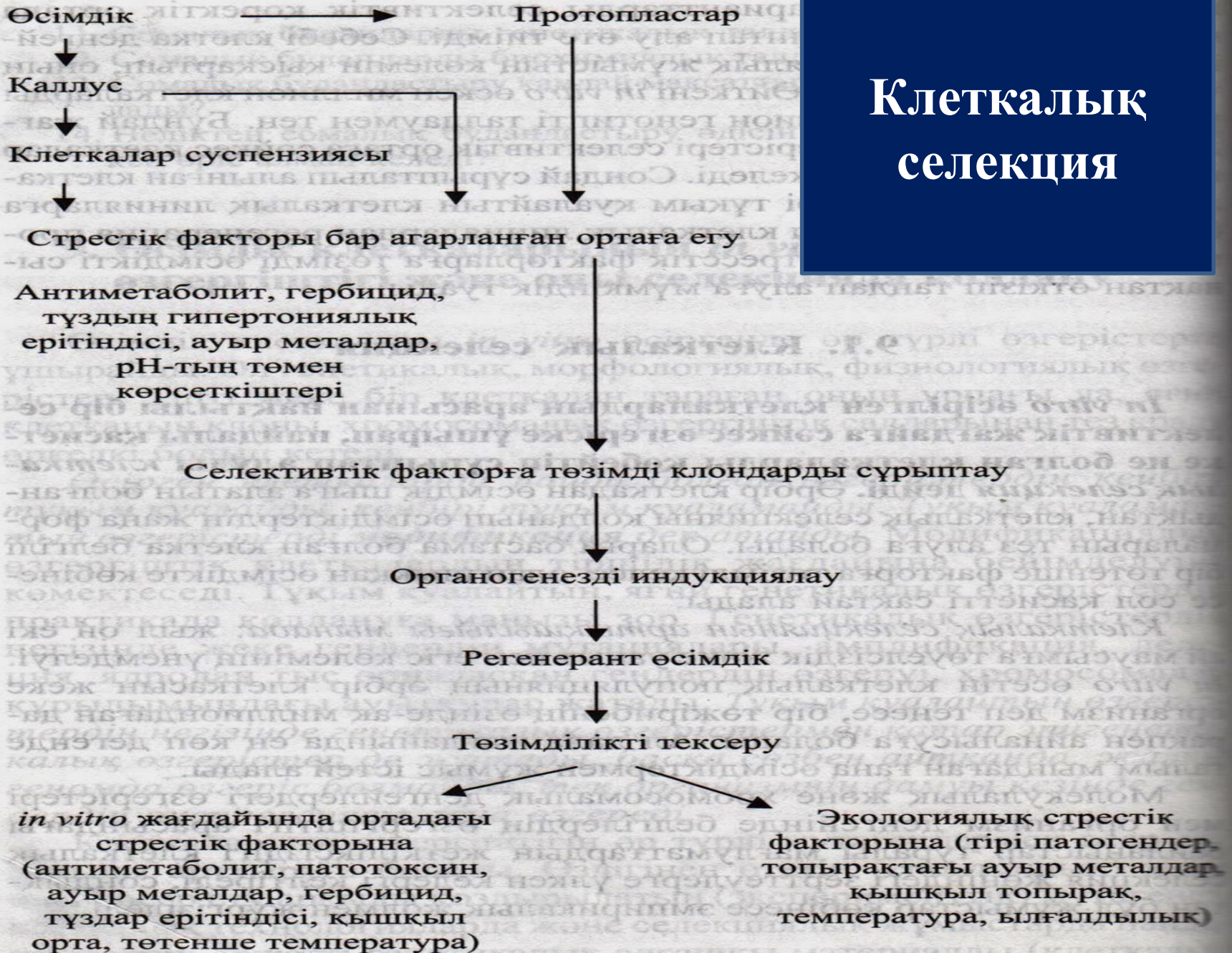


Визуалды және селективті емес сұрыптау

- визуалды немесе
биохимиялық әдістерді
қолдану

- ✓ қағаз және сұйық хроматография,
- ✓ радиоиммунды талдау,
- ✓ микроспектрофотометрия

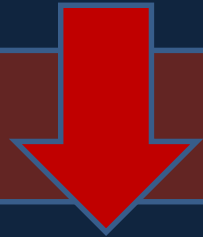
Клеткалық селекция



Мутацияны дәлелдетін белгілер:

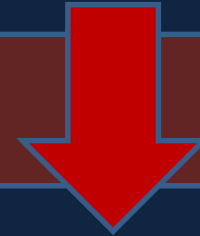
- Өзгерген клеткалар жиілігі өте төмен (1×10^{-6} - 10^{-7});
- Мутагендерді қолдану арқылы оны едәуір арттыруға болады (1×10^{-4} - 10^{-5});
- Өзгерген клеткалар ұзақ мерзім өсе алады;
- Жаңа белгі селективтік қысым болмаған жағдайда да сақталады;
- Өзгерген ген негізінде түзілетін зат табылады немесе жаңа пайда болған белгі анықталады.

Төзімді клеткаларды сұрыптау әдісі



Бір сатылы

Клеткалар
селективтік
факторы өте
жоғары ортада
өсіріледі



Көп сатылы

Клеткалар
селективтік
факторды біртіндеп
жоғарылатын
қоректік ортада
өсіріледі


Төзімділік белгісінің тұрақсыздығы

Стресс факторының әсерінен геномның зақымдануы реверсияларды тудырады.

- Реверсия немесе кері мутациялар — организмнің мутант күйінен жабайы типке кері көшуі.
- Немесе стресс факторының әсерімен пайда болған өзгеріс уақытша генетикалық немесе эпигенетикалық адаптация болуы мүмкін.
- Тұрақсыздық көбінесе клеткалық популяция құрамында жабайы клеткалардың сақталып қалуынан байланысты болады.

Төзімді және тұрақты линияларды алу

Генетикалық тұрақты клеткалық линиялар алу үшін 4-6 рет сұрыптаушы қоректік ортаға көшіріп отырғызу



Клеткаларды сұрыптаушы факторлары жоқ қоректік ортада 2-3 пассаж жасап өсіру



Сұрыптаушы факторы бар қоректік ортаға көшіру



Тұрақты клондарды бөліп алып, регенерант-өсімдіктерді алу

Индукцияланған мутагенез

Мутагенез тудыратын мутагендер:

- Рентген және ультракүльгүн сәулелер;
- Ниртозометилмочевина;
- Метилметансульфонат;
- Этионин,
- Колхицин