

5. Өндірістік биотехнология. Бактериялар және цианобактериялар.

Өсімдік клеткаларын биосинтездік өнеркәсібінде пайдалану. Бағалы биологиялық заттарды өндіруде клеткалық технологиялардың артықшылықтары. Имобилденген ферменттер және имобилденген клеткалар, олардың артықшылықтары. Өсімдік клеткаларды иммобильденудің негізгі тәсілдері. *(Иммобильденген клеткалар табиғи немесе синтетикалық заттардың беткі қабатында бекіген, немесе полимерлік гельдер құрамына енгізілген, қозғалысы шектелген, ортада өсетін клеткалар)*. In vitro жағдайында өсірілетін клеткаларда қосымша метаболиттердің қоры жиналуына әсер ететін факторлар. Қосымша заттарды, ББЗ алу үшін клеткалық технологияларды дайындау жұмыстардың негізгі кезеңдері. Өсімдіктерде зат алмасу процесіне қатысатын әр түрлі қосымша заттар синтезделеді. Клеткалар in vitro жағдайында әр өсімдік түріне тән қосымша заттарды синтездеу қабілетін сақтап қалады. Атап айтқанда: алкалоидтарды, терпеноидтарды, гликозидтарды, полифенолдарды, полисахаридтарды, эфир майларын, ерекше пептидтар мен белоктарды, таза бояғыш заттарды, стероидтарды, дәм татымдық заттарды, биоинсектицидтарды, витаминдерді синтездейді.

Маңызды заттарды синтездейтін клеткаларды өсіру биотехнологияның жаңа саласы. Дағдылы биотехнологиялар бағалы биологиялық активті заттарды алу үшін бүтін организмдерді пайдаланса, осы заманғы биотехнологиясы ерікті немесе иммобильденген өсімдік клеткаларын өсіруге сүйенген клеткалық технологияларға негізделген. Биосинтездік өнеркәсіпте қажетті өнімдерді биотрансформация арқылы алуға болады. Клеткалардың in vitro жағдайында биотрансформация жүргізуге мүмкіншілігі болатындығы дәлелденген, яғни кейбір биологиялық активті заттар арзан қарапайым бастаушы заттардан синтезделеді. Бұл қарапайым бастаушы заттар химиялық немесе микробиологиялық жолмен өзгертіле алмайды, тек қана өсірілетін клеткалардың ферменттерінің ықпалымен ақырғы бағалы өнімге айналып кетеді. Қоректік ортаның құрамы және басқа өсіру жағдайлары өзгеруі арқасында синтезделетін өнімдердің мөлшері тұрмақ сапасы да өзгереді, соның нәтижесінде мүлде жаңа, негізінде басқаша әсер ететін қосылыстар пайда болуы мүмкін. Өнеркәсіпте өсіруге жарайтын клеткалар жабайы мен екпе дәрілік және техникалық өсімдіктердің, микробиологиялық өндірістің және химиялық синтездің бәсекесінен озып шығуы қажет. Өсімдіктер көптеген маңызды заттардың бірден-бір қайнар көзі болып келеді, бірақ өсімдік шикі затының қоры табиғатта таусылып бара жатыр. Осыны еске алғанда, клеткалық технологиялардың орны болашақта ерекше зор екенін түсінуге болады. Клеткалық технологиялардың ғылыми лабораториялық зерттеулерден соң өнеркәсіпте қолданылуы қазір ғана басталып келе жатыр. Тиімділігі жоғары технологиялардың жасалуы өсімдіктерде қосымша зат алмасу процесінің генетикалық, биохимиялық, физиологиялық реттелуі жөніндегі теориялық білімнің жетіспеушілігімен шектеліп тұр, себебі бүтін өсімдіктегі зат алмасуында қосымша заттардың қызметі толық зерттеліп бітпеген.

6. Өсімдіктерді клондық микрокөбейту және сауықтыру. Криосақтау.

КЛОНДЫҚ МИКРОКӨБЕЙТУ - өсімдіктерді in vitro жағдайында жыныссыз жолмен көбейту. Пайда болған клон өсімдіктер бастапқы өсімдікпен генетикалық жағынан бірдей болады. Клон деген - жыныссыз жолмен, яғни вегетативтік көбею жолымен түзілетін организм. Клондық микрокөбейту әдісінде дағдылы вегетативтік жолмен көбейтумен салыстырғанда бірталай артықшылықтары бар: оның ішінде ең маңызды көбею коэффициенті өте жоғары. (Мысалы, гербера, хризантема, бүлдірген бір өсімдігінен in vitro жағдайында 1 жылдың ішінде 1 миллионнан астам клон өсімдіктер алуға болады. Алма ағашының 1 бүршігінен 8 айдың ішінде 60 мыңнан астам өркен шығады). Клондық микрокөбеюдің коэффициенті басқа вегетативтік көбею әдістерімен салыстырғанда мыңдаған есе артық. 2) Микрокөбеюмен қатар өсімдіктер вирустар мен патогендік микроорганизмдерден сауықтырылады. 3) Сұрыптау процесін жылдамдату. Жаңа

сорттарды тез көбейтіп, оларды ауыл шаруашылық өндірісінде пайдалану мерзімі едәуір қысқарады. 4) Вегетативтік жолмен көбейе алмайтын өсімдіктерді *in vitro* жағдайында көбейтуге болады. Осы әдіспен өнеркәсіп деңгейінде мысалы пальма өсімдіктерді көбейтеді. 5) Үнемділік. Арнайы бөлмеде пробиркаларда жыл бойы мыңдаған өсімдіктерді өсіру арқылы теплицалар алаңы үнемделеді. 6) Жас өсімдіктерді алу, яғни кәрі дарақтарды жасарту. 7) Өсу процесін жыл бойы үзбеге болады, әсіресе бұл дамуында тыныштық кезеңі болатын өсімдіктерді көбейтуге тиімді.

Клондық микрокөбейту әдістері *in vitro* жағдайында қолтық бүршік меристемаларын өсіруге негізделген және басқа экспланттардан немесе каллустардан бүршіктер мен эмбриондарды өсіруге негізделген. Микроклондар бұрыннан болған меристемалардан өсіп пайда болу мүмкін және де жаңадан пайда болған меристемалардан өсіп шығу мүмкін. Бұрыннан болған меристемалардан (сабақтың апексі, қолтық және бұйыққан бүршіктері) активтендіру жолымен шыққан өсімдіктер генетикалық жағынан аналық өсімдікпен пара-пар болады, өйткені *in vitro* жағдайында өсіргенде олар генетикалық тұрақтылығын сақтайды. Микроклондар *in vitro* жағдайында пайда болған бүршіктер мен эмбриондардан алынады (яғни жаңадан пайда болған меристемалардан). Бұл өсімдіктерде маманданған және каллус клеткаларынан шыққандығына байланысты генетикалық өзгергіштіктер орын алуы мүмкін, сондықтан шыққан клондар бастапқы өсімдіктен біршама ауытқып кете береді. Бұл әдісті тек каллустары тұрақты немесе регенеранттарда пайда болған өзгерістер табиғи өзгергіштіктен аспайтың өсімдіктерге пайдалануға болады. Эмбриондар экспланттан шыққан алғашқы каллустан пайда болу мүмкін немесе көшіріп отырғызған

каллустан және суспензиядағы клеткалардан пайда болу мүмкін. Көбеюді жылдамдату мақсатымен, алғашқы өркенді 5-7 жапырақ шыққан соң қалемшелейді. Әрбір қалемшеде бір жапырақ болуы керек. Қалемше биіктігі 1-1,5 см болады. Қалемшелерді бір-бірден пробиркаға отырғызады. Бұл тәсілді микроқалемшелеу деп атайды. Микроқалемшелеуді 2-3 реттен артық пайдалануға болмайды, одан кейін өркендерді тамырландыру керек.

Бұл әдіс қымбат және көп еңбекті қажет етеді, сондықтан әзірше ол көбінесе селекциялық жұмыстарда қолданылады және басқа жолдармен көбеймейтін кейбір өсімдіктерді көбейту үшін пайдаланылады. Сонымен бірге бұл әдіс лабораториялық деңгейінде екі жарым мыңдай өсімдік түрлеріне дайындалған, ал өндірістік технология ретінде біртіндеп өріс алып келеді. Қолтық бүршіктердің дамуын қоздырып, олардан шыққан қолтық өркендерді пайдалану, өсімдіктерді микрокөбейтудегі ең кең тараған әдіс. Бүтін өсімдікте қолтық бүршіктердің өсуін сабақ ұшындағы апекс тежейді (апикальдық басымдылық құбылысы бойынша). Қолтық меристемалардың өсуі сабақтың ұшын кесіп тастағанда немесе цитокининмен өндеген соң басталады. Экзогенді цитокининдер, яғни қоректік ортадағы цитокининдер бүршіктердің жандануына әсер етеді және қолтық өркендердің дамуына әсер етеді. Тез өсетін өркендердің шоғыры пайда болады, одан жеке өркендерді бөліп алып жаңа қоректік ортаға отырғызғанда олар өсіп қайта шоғырланады. Бірақ барлық өркендерде тамыр пайда бола бермейді, сондықтан оларды цитокинині жоқ ортаға көшіреді, бұл жағдайда тамырлары өзінен-өзі өсіп шығады (мысалы даражарнақты өсімдіктерде).

Қолтық бүршіктерді ояту және қоздыру үшін қоректік ортадағы фитогормондардың концентрациясын дұрыс анықтау керек. Қолтық бүршіктері бар сабақ кесінділерін лайықты қоректік ортада өсіріп, өркен алуға болады, ал басқа ортада тамырландырып бүтін өсімдікті шығаруға болады. Алғашқы өркенді бірнеше жапырақ шыққан соң қалемшелейді, одан кейін өркендерді (микроқалемшелерді) тамырландырады. *In vitro* жағдайында қолтық бүршіктерін оятып өсіру әдісімен жеміс-жидек, әсемдік өсімдіктерді (мысалы, фрезия сияқты), картопты, дәрілік өсімдіктерді (мысалы, стахис, стевия сияқты)

тағы басқа өсімдіктерді көбейтеді. Қосалқы өркендердің экспланттан тікелей пайда болуы Көптеген өсімдіктерде өркендер *in vitro* жағдайында тікелей экспланттың маманданған ұлпаларынан пайда болады.

8. Гендік инженерия негіздері. Гендік инженерияның даму тарихы. Рекомбинатты ДНҚ биотехнологиясы. Рекомбинатты ДНҚ құрастыру. Бөтен гендердің экспрессиясы. Түрлі организмдердегі гендер экспрессиясы және гендерді клондау. Гендік инженерия жетістіктерін мал шаруашылығында қолдану. Гендік инженерия әдістерін қолданып инсулин алу. Самотропин синтездеу. Интерферон алу.

Өсімдік биотехнологиясындағы гендік инженерияның принциптері. Гендерді өсімдіктерге тасымалдау әдістері (жалпы сипаттамасы); микроинъекция әдісі, электропорация, баллистік әдіс. Молекулалық клондауға арналған векторлар плазмидалар (әсіресе агробактериялардың плазмидалар), фагтік векторлар, вирустар. Өсімдік биотехнологиясында қолданылатын векторлық жүйелер: хлоропластық және митохондриялық ДНҚ. Трансгенді өсімдіктерді алу үшін геномның мобильді (жылжымалы) элементтері негізіндегі векторларларды қолдану. Жасанды хромосомалар көмегімен гендерді тасымалдау. Трансгендік өсімдіктерді пайдалану және олардың теориялық маңызы. Өсімдік ДНҚ геномының библиотекасын құрастыру. Гендік инженерияның мүмкіндіктері және оның болашағы. *In vitro* жағдайында жаңа формаларды шығаратын әдіске гендік инженерия жатады. Тікелей ДНҚ-ның деңгейінде өткізетін жасанды өзгерістер арқылы нәсілдік қасиеті өзгерген өсімдіктерді, тіпті мүлде жаңа формаларды шығаруға болады, бұндай тәжірибелерді гендік инженериясы атқарады. *In vitro* жағдайында пайда болатын генетикалық өзгерістер арқылы түзілген соматондық өсімдіктерді алу немесе трансгенді өсімдіктерді алу, яғни қажетті қасиеттерді белгілейтін бөтен генді мәдени өсімдіктің гендік аппаратына еңгізіп жаңа өзгерілген түрін алу (мысалы трансгендік технологиямен колорадтік қоңызға төзімді картоптың түрін алды, яғни *Bacillus turinga* деген топырақтадағы бактериядан қоңызға ұлы белокты белгілейтін генді *E.coli* арқылы картоптың ДНҚ-ға еңгізді, алынған трансгендік картоптың жапырақтарында қоңызға ұлы, бірақ адамға әсері етпейтін белок жиналады, сондықтан колорадтік қоңыз картопты жимейді да зиянды тигізбейді). Құрылымдық гендерде тек қана метаболизм өтудің нәтижесінде түзілетін заттардың (белоктың, мРНК-ның) коды жазылған. Оларда ген белсенділігін реттейтін бөлшек мүлдем жоқ. Сондықтан, жаңа құрылымдық гендерді иеленген клеткаларда ол гендер өз бетімен тиісті қызметін атқара алмайды. Гендердің клеткадағы әрекетін басқаратын репликация және транскрипция сигналдарын оларға вектор қамтамасыз етеді. Бөтен генді клетка ішіне тасымалдап алып баратын арнаулы ДНҚ молекуласын вектор дейді. Оған мынадай талаптар қойылады: 1) өз алдына репликациялану, яғни клетка ішіне бөтен генді алып кірген соң клеткамен бірге немесе өз алдына көбейе алатын болуы керек; немесе вектор клетка

хромосомасының құрамына еніп, онымен бірге ұрпақ клеткаларға беріліп отыруы керек; 2) трансформацияланған клеткаларды анықтау үшін оның ерекше генетикалық белгілері (маркерлері) болуы керек (мысалы, антибиотикке төзімділігі); 3) құрамында рестриктазалар үзе алатын нуклеотидтер тізбегі болуы керек және репликацияға қабілетін жоғалтпауы керек; 4) векторға орналастырылған бөтен ген оның атқаратын қызметін бұзбауы керек, ал вектор болса, ол да еңгізілген геннің ішінде дұрыс реттеліп жұмыс істеуін қамтамасыз ететін болуы керек; 5) вектордың көлемі кішігірім болуы керек. Әдетте, құрылымдық ген өте қысқа болып келеді (бірнеше жүз нуклеотид). Оны бірден көп мөлшерде бөліп алу қиын. Сондықтан оның көшірмелерін (молекулаларының санын) жетерліктей көбейту керек.

9. Метаболиттер өндірісі үшін биотехнологиялық процесстерді қолдану. Биотехнологиялық өндірісте пайда болатын өнімдер классификациясы. Алғашқы метаболиттер және екінші метаболиттер.

Биологиялық белсенді заттарды мысалы, антибиотиктарды, аминқышқылдарды, тероидттарды, спирттарды, нуклеозидтарды, витаминдерді, полиқанықпаған май қышқылдарды, феромондарды, гормондарды иммобилденген ферменттер арқылы алуға болады. 5) сауықтыру технология және клондық микрокөбейту технология арқылы шаруашылықта құнды мәдени өсімдіктерді сауқтырып, оларды аз уақытта көбейтуге болады, яғни вируссыз көшет материалды алу, сонымен қатар тиімді әсем гүлдерді және тез жоғалып бара жатқан жабайы

өсімдіктерді немесе табиғатта кездеспейтін өсімдіктерді жылдын ішінде миллион данаға дейін көбейту болады; Өсімдік клеткалық культурасы – ғарыш биотехнологиядағы модельдік жүйесі болып табылады. 1997 ж. ғылыми-зерттеу жұмыстарының жобалар бойынша картоптың каллус клеткаларды ғарышта өсірді. Ғарышта болған каллус ұлпаларды жаңа қоректік ортаға көшіріп содан кейін регенерант өсімдік алынды. Регенерант өсімдіктерді қалемшелеп, микроклондардан микротүйіндерді алды. Ғарышта өсірілген алғашқы каллустан түзілген өсімдіктерді көбейтіп картоптың жаңа сортты «Тохтар» алынды. Сонымен қатар өсімдік клеткалардың өсуіне және дамуына ғарыштадағы факторлардың әсерін зерттеу үшін бидайдың каллус клеткалары және жыныс клеткалардан пайда болған эмбриондар жіберілді. 1998-1999 ж. ғарышта будандастырудың іске асыруы мүмкіншілігі бар ма жоқ па зерттеу үшін ғарышқа оқшауланған бидайдың масақтары жіберілген. 2-3 аптадан кейін масақтадағы жыныс клеткаларды және пісіп жетілмеген ұрықтарды зерттелген болды. Пайда болған ұрықтарда әр түрлі цитогенетикалық өзгерістер байқалған болды.