



ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

Факультет Биология және биотехнология

**Курстың атауы: ID 101303 «Қолданбалы биофизика және биотехнология негіздері»
Бөлім 2. Биотехнология негіздері**

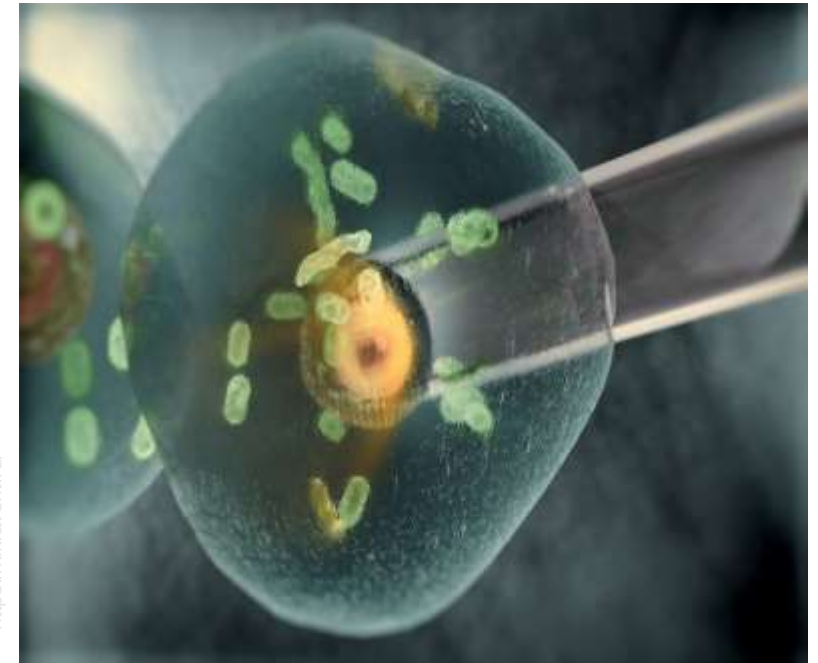
«6B05305 – Физика и нанотехнология» білім беру бағдарламасы, 3 курс

**Автордың аты-жөні: Асрандина Салтанат Шынтаевна
ғылыми дәрежесі, қызметі: б.ғ.к., профессор**

Тақырып: Өсімдіктердің клеткалық және гендік инженерия технологиялары

Жоспар

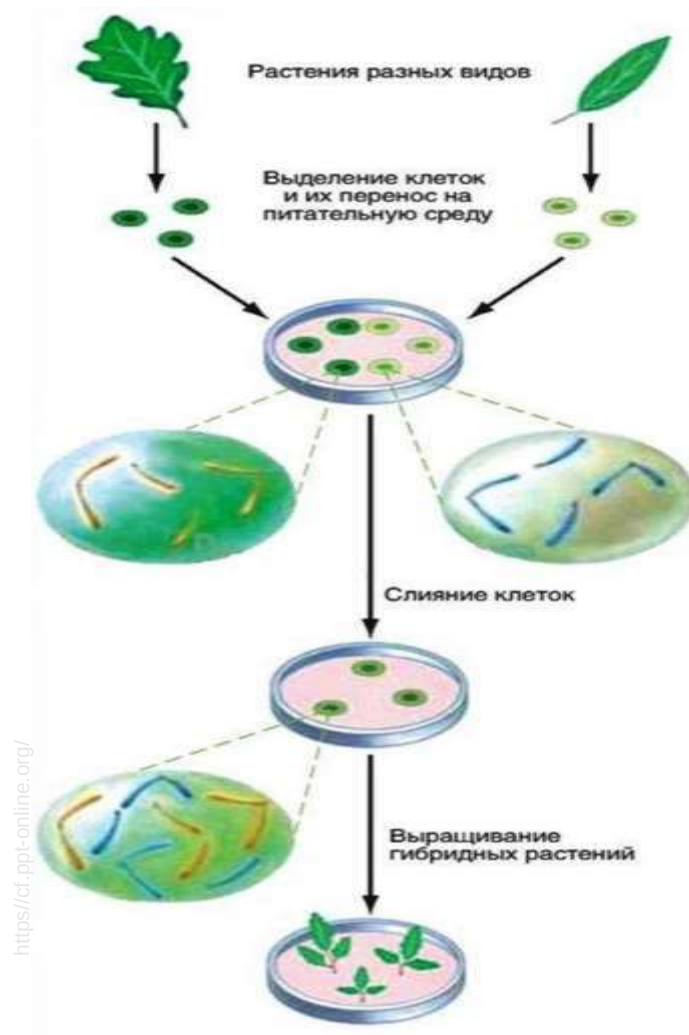
1. Клеткалық инженерия ғылым саласының маңызы.
2. Протопласт культураларын бөліп алу және өсіру әдістері.
3. Парасексуалды будандастыру әдістері.
4. Клеткалық сұрыптау әдістері.
5. Гендік инженерия технологиясы.



<https://kikifavorit.ru/>

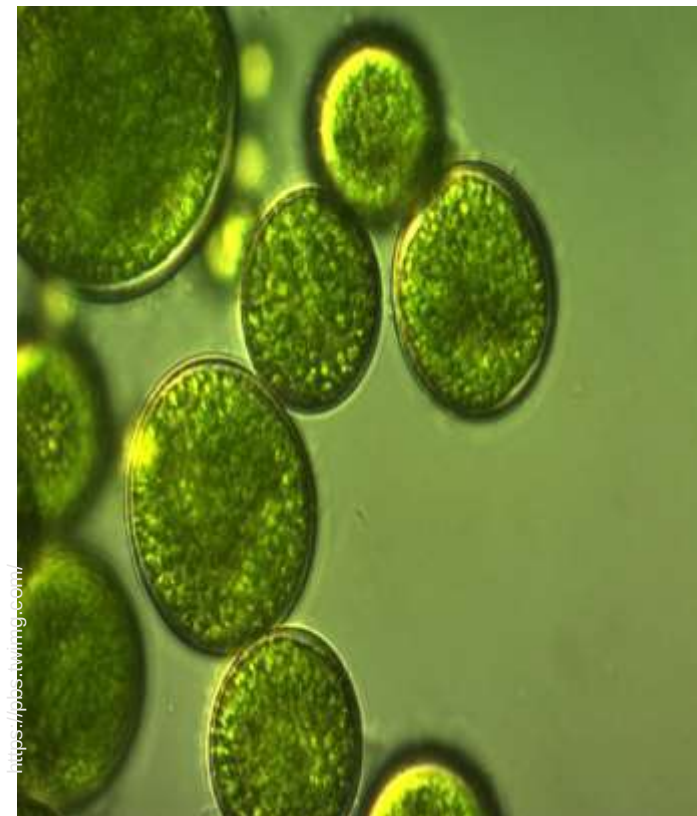
➤ **Клеткалық инженерия** – клеткаларды in vitro жағдайында будандастыру, реконструкциялау және культурада өсіру негізінде жаңа қасиеттерге ие клеткаларды алу технологиясы.

Протопласт – целлюлозалық қабықшадан айырылған, цитоплазмалық мембранамен қапталған клетка.

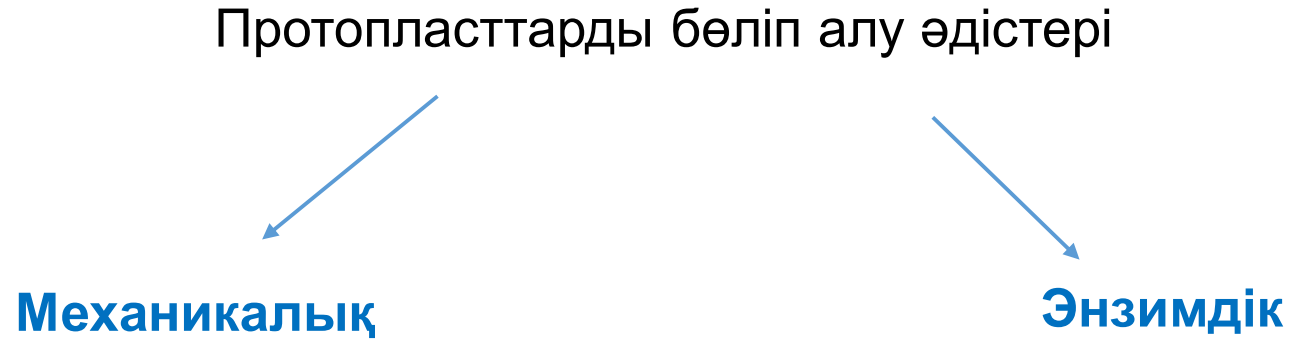


Протопласттарды қолдану аясы

1. Клетка қабықшасының химиялық құрамы мен құрылымын зерттеу.
2. Плазмалеммалардың қасиетін зерттеу.
3. Органеллаларды «жұмсақ жолмен» бөліп алу.
4. Клеткалардың дифференциалдану заңдылығын, сомалық будандарды зерттеу.
5. Бөтен органеллаларды ендіру.
6. Трансгенез.



Протопласттарды бөліп алу әдістері



```
graph TD; A[Протопласттарды бөліп алу әдістері] --> B[Механикалық]; A --> C[Энзимдік];
```

Механикалық

плазмолизденген клеткалардың
клетка қабығын кесу

- өнімділігі төмен, экстенсивті
плазмолизденген ұлпалар ғана
қолданылады, қиын әрі ұзақ

Энзимдік

клетка қабығын ферменттермен
(целлюлаза, гемицеллюлаза,
пектиназа) еріту

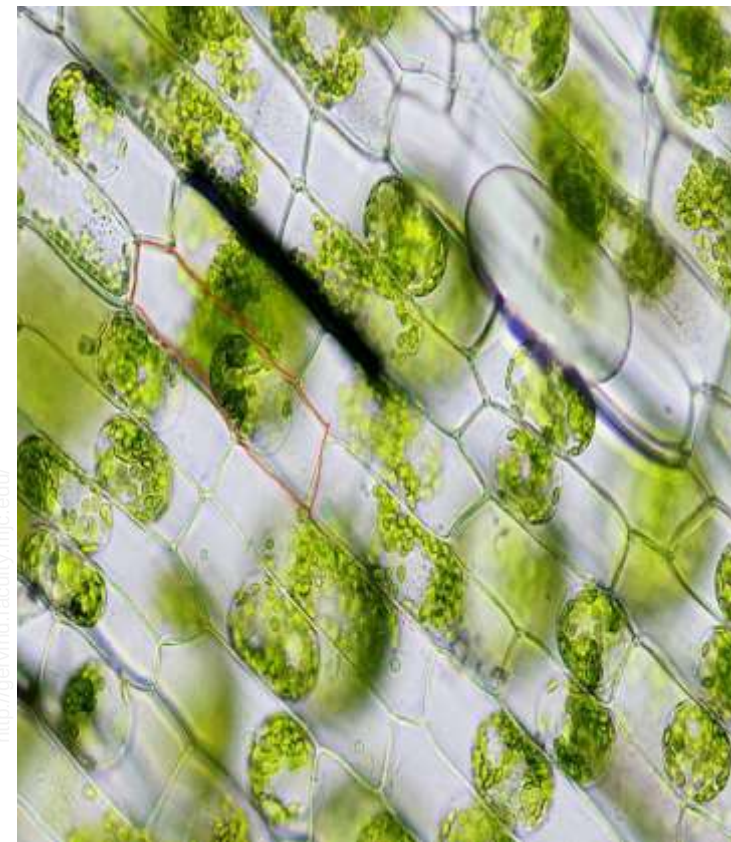
- 1 г ұлпа (клеткалар) / 10 млн
- осмостық стресске шалдықпайды;
зақымданбайды; тез орындалады

Протопласттарды бөліп алуда әсер ететін факторлар:

- ұлпа түрі, өсімдік сорты, түрі, физиологиялық күйі
- фермент табиғаты мен қоспа құрамы
- ортаның рН мен осмотик түрі

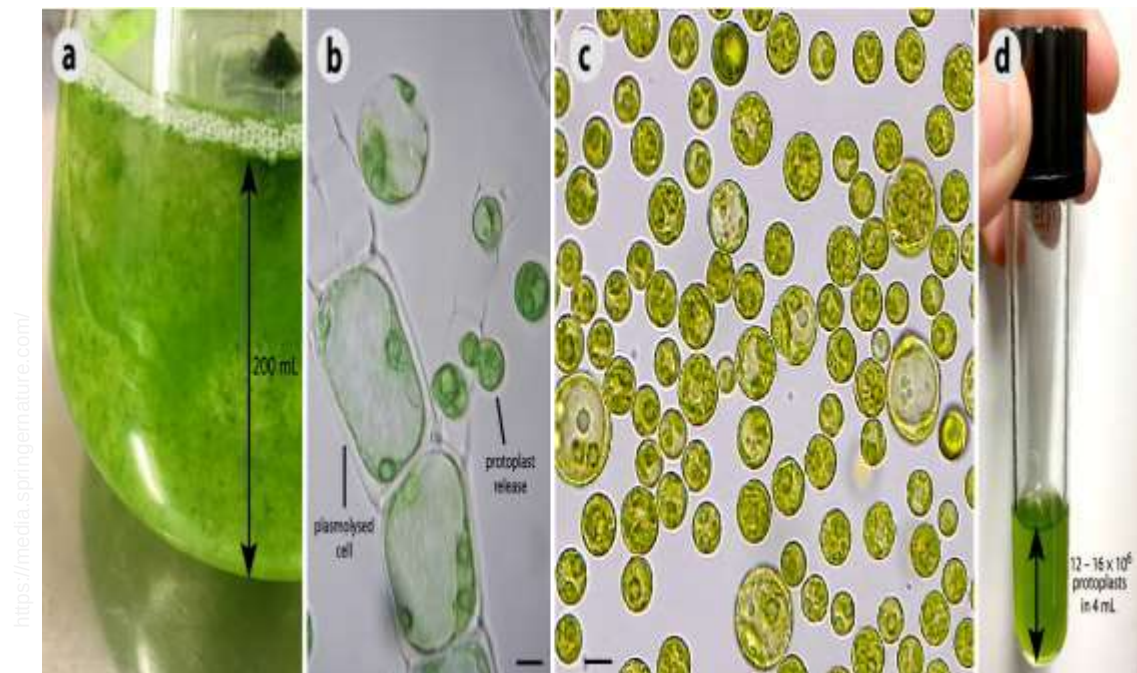
Осмотиктер: сахароза, маннит, сорбит.

Иондық осмотиктер: 0,3-0,8 моль/л CaCl_2 , KCl , Na_2HPO_4 .



Протопласттрады бөліп алу сатылары

1. Ферменттермен өңдеу.
2. Протопласттарды клетка қабықшаларынан бөліп алу.
3. Клетканың қалдықтарынан интактты протопласттрады тазарту.



Қоректік орталар:

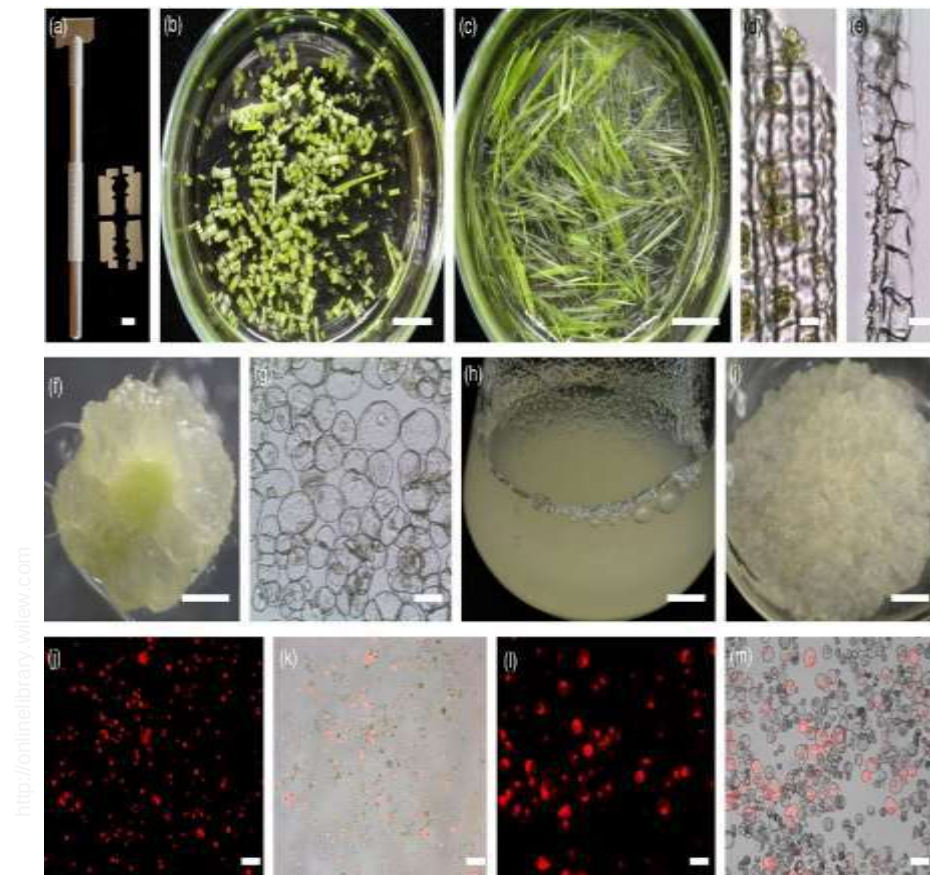
Мурасиге – Скуг (Нагата, Такебе),
Гамборг «В-5», Као Михайлюк.

pH - 5,4-5,8, t - 22-28 °C, жарық -2000 лк.

Егу тығыздығы - **1 мл /10⁴-10⁵**

Протопласттардың өміршеңдігін анықтау

- Флуоресцеиндиацетатпен (ФДА) бояу.
- Фукса – Розенталь камерасында санау.



Протопласттрады өсіру әдістері



Тамшыларда өсіру

Протопласттарды пластикалық Петри табақшаларында 1 мкл микротамшыларда өсіреді.

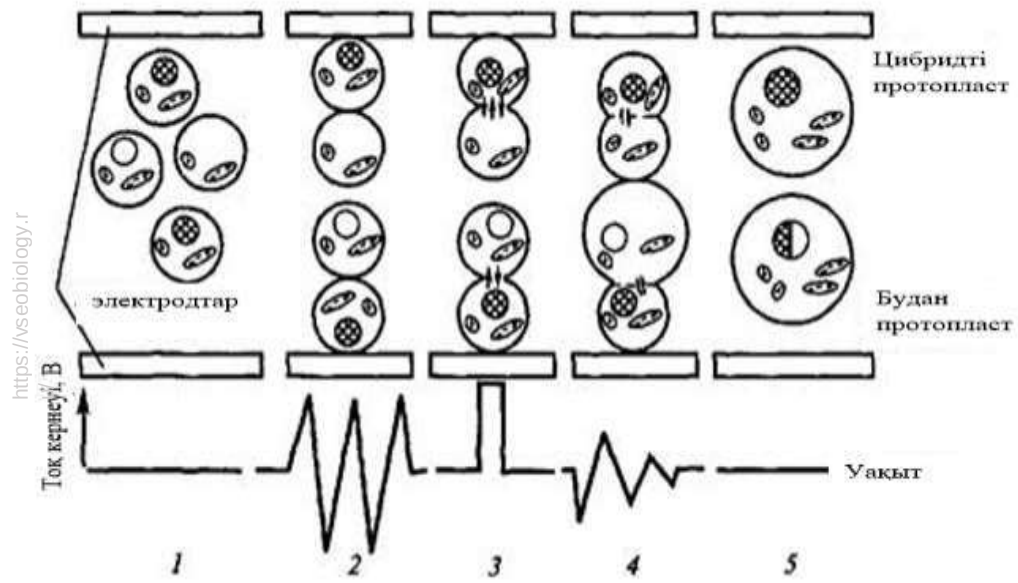


Бекіту әдісі

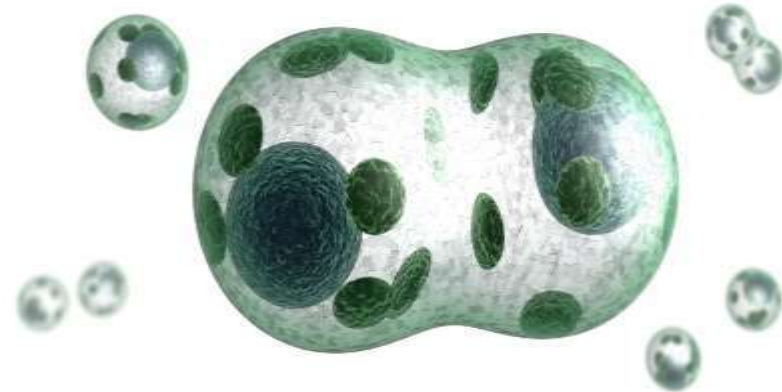
- Протопласттар суспензиясын Петри табақшаларын құйып, оның үстіне бірдей көлемде 1% агар қосылған қоректік орта (45°C) құяды.
- Қоректік орта қатқаннан кейін Петри табақшаларын аударып, протопласттарды 28°C өсіреді.

Протопласттарды парасексуалды (сомалық будандастыру)

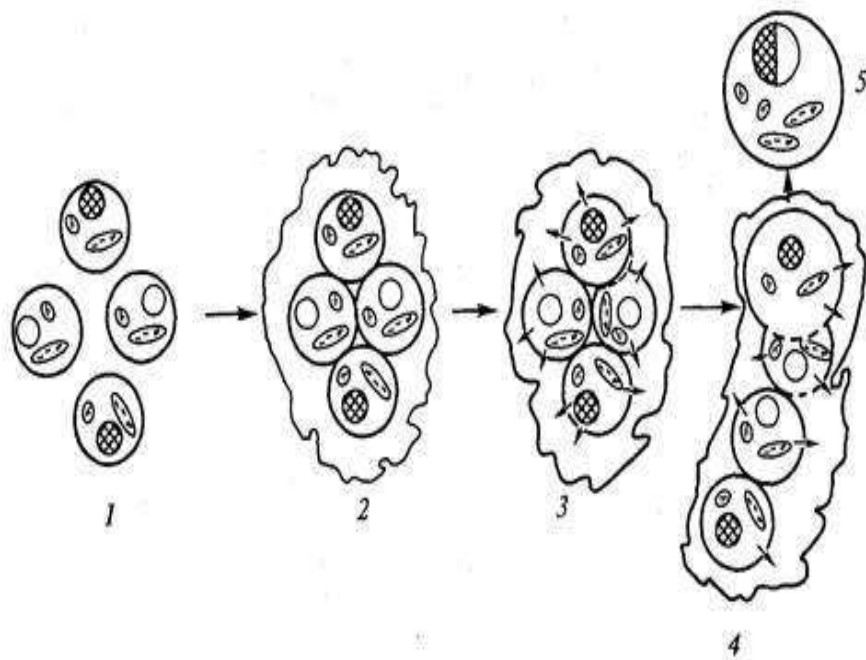
Физикалық жолмен құйылыстыру



<https://lochalmer.files.wordpress.com/>

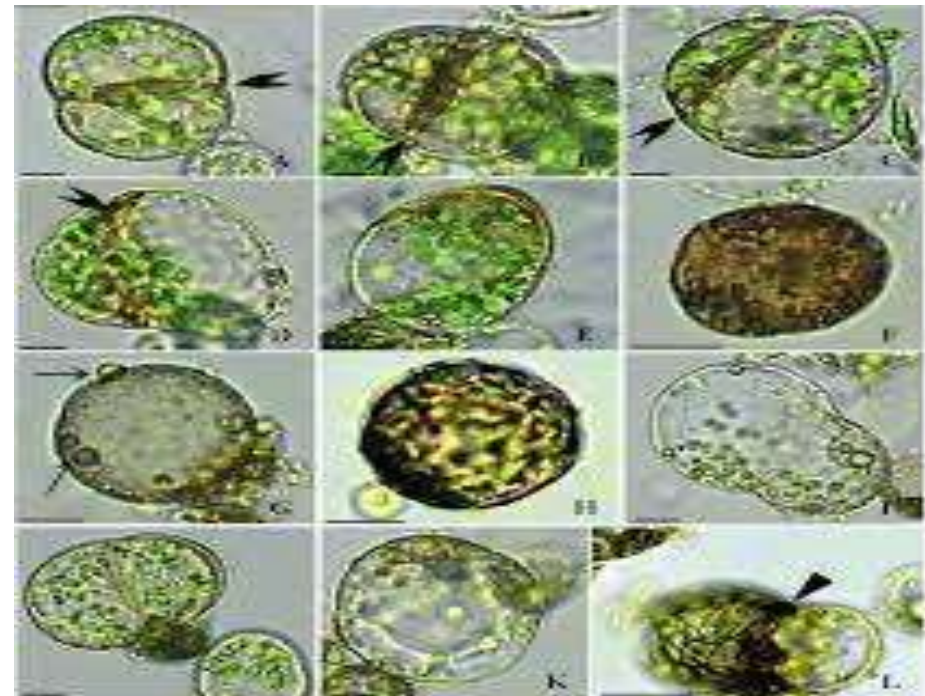


Химиялық жолмен протопласттарды құйылыстыру



<http://helpiks.org/>

<https://encrypted-tbn0.gstatic.com/>

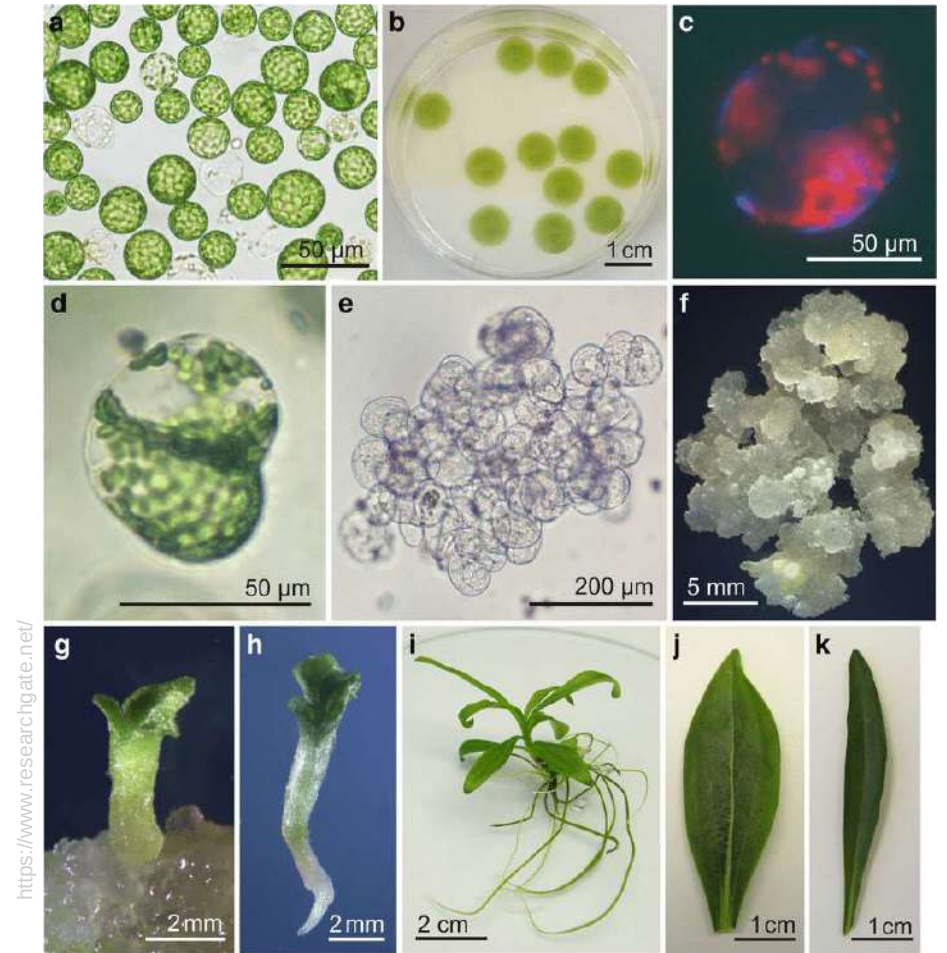


Протопласттық будандар

Сомалық будан - ата-анасының екеуінің цитоплазмасы мен ядроларының өзара құйылысу өнімі.

Цибрид – ата-анасының екеуінің цитоплазмасын және біреуінің ядросын иеленген будан.

Асимметриялық - ата-анасының біреуінің хромосомалық жиынтығын толық, ал екіншісінен жартылай иеленген будан.



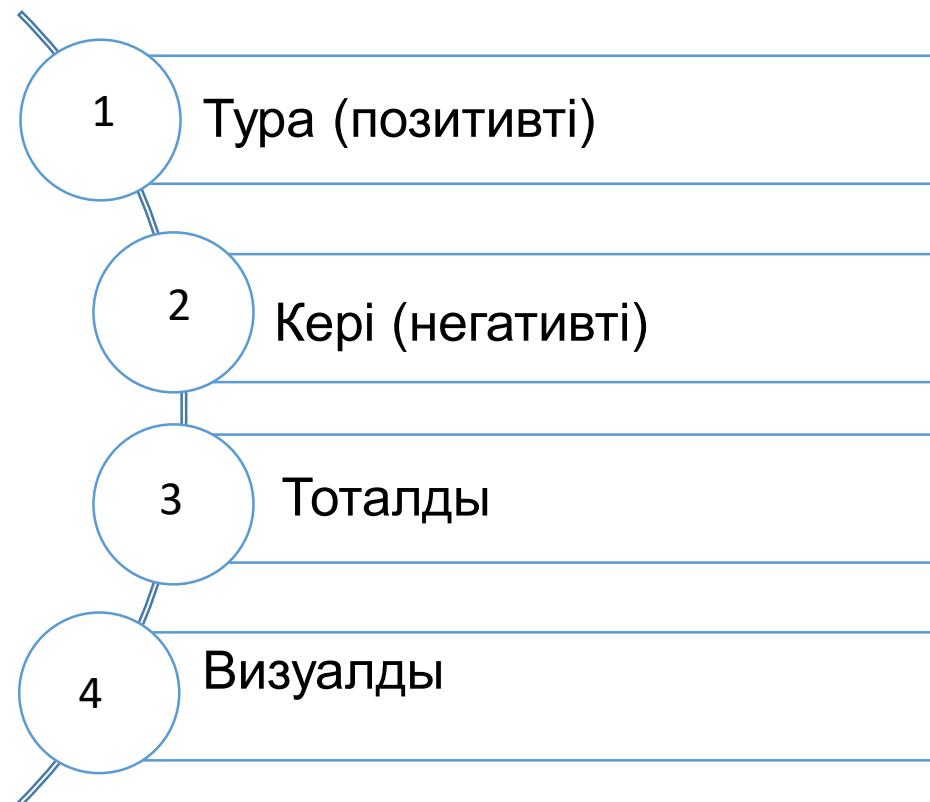
<https://www.researchgate.net/>

➤ **Клеткалық селекция** – белгілі бір селективті жағдайлардың әсерінен генетикалық модификацияланған мутантты клеткаларды немесе соматоклонды вариацияларды алу әдісі.

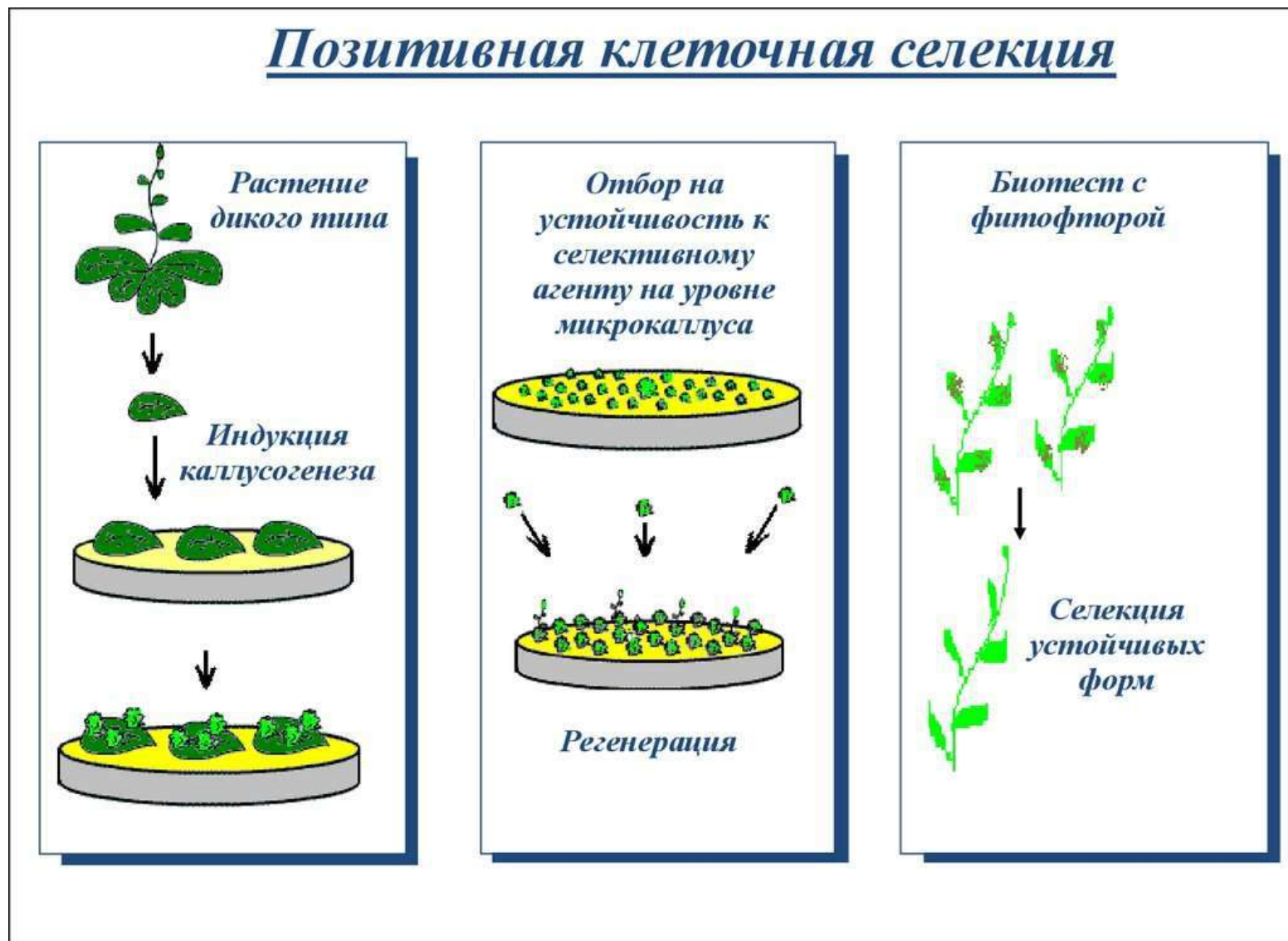
Зерттеу объектілері:

- каллустық ұлпалар,
- суспензиялық клеткалар,
- протопласт культуралары

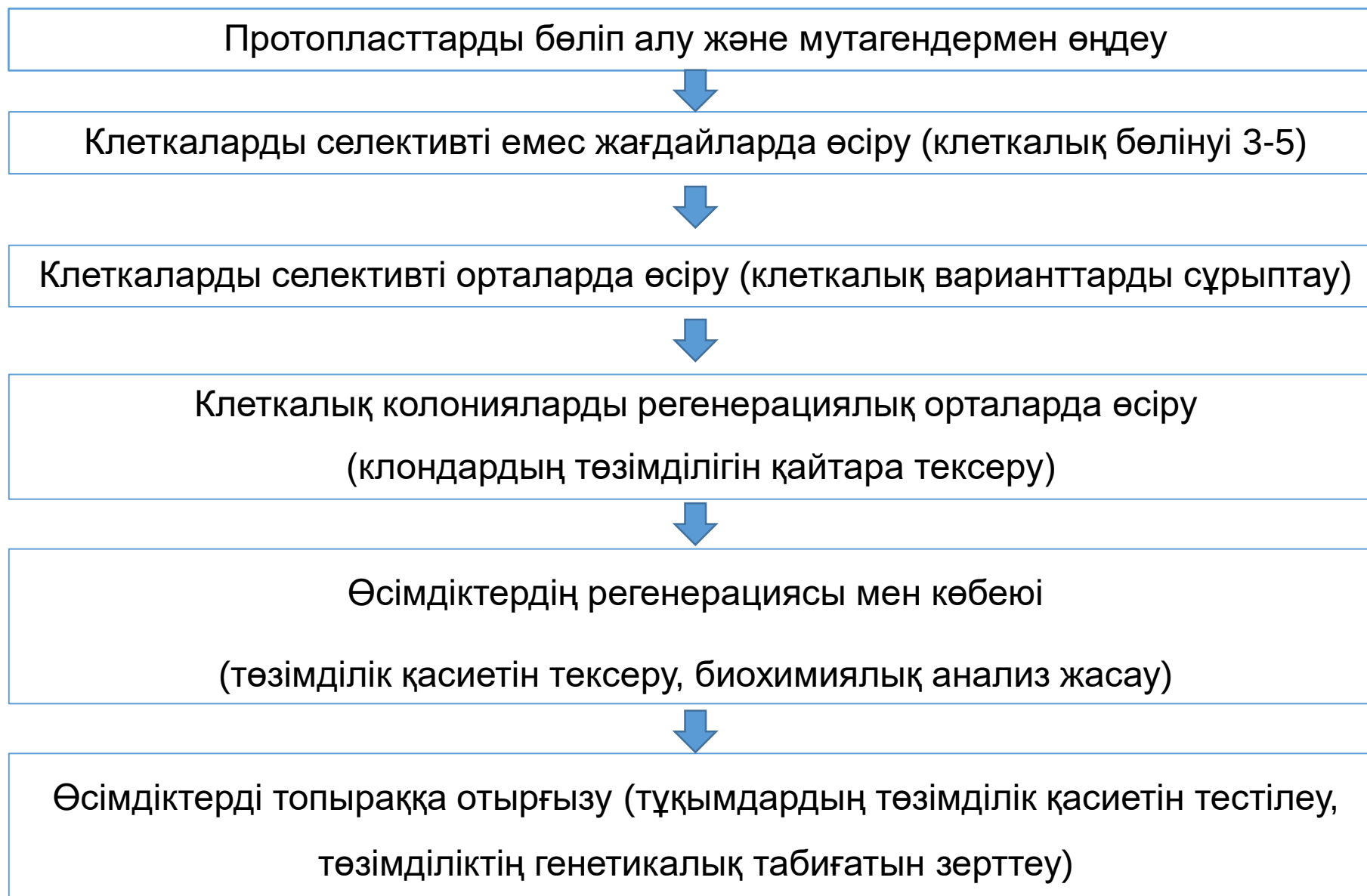
➤ Клеткалық сұрыптау әдістері:



➤ Тура сұрыптау - белгілі бір факторларға төзімді мутантты клеткаларды айқындау әдісі.



➤ Протопласттар культурасында тура сұрыптау әдісі



➤ **Кері селекция** - клеткалық культураларда шартты түрдегі леталды мутанттарды сұрыптау әдісі.

- **Токсикалық заттар:**

- 5-бромдезоксисуридин,
- 5-фторфенилаланин,
- натрий арсенаты



- **Тоталды сұрыптау** - клетка культурасында ауксотрофтты клеткаларды айқындауға негізделген.
- **Ауксотрофтты клеткалар** - мутация салдарынан өз тіршілігіне қажетті белгілі бір заттрады синтездеу қабілетінен айырылған биохимиялық мутанттар.
- **Визуалды сұрыптау** - көп жағдайларда пигменттерді өндіруші клеткалық линияларды айқындауға қолданылады.
- **Селективті емес талдау** - жаңа қасиетке ие варианттарды алу үшін биохимиялық әдістемелер қолданылады.

➤ Индукцияланған мутагенез.

Химиялық мутагендер:

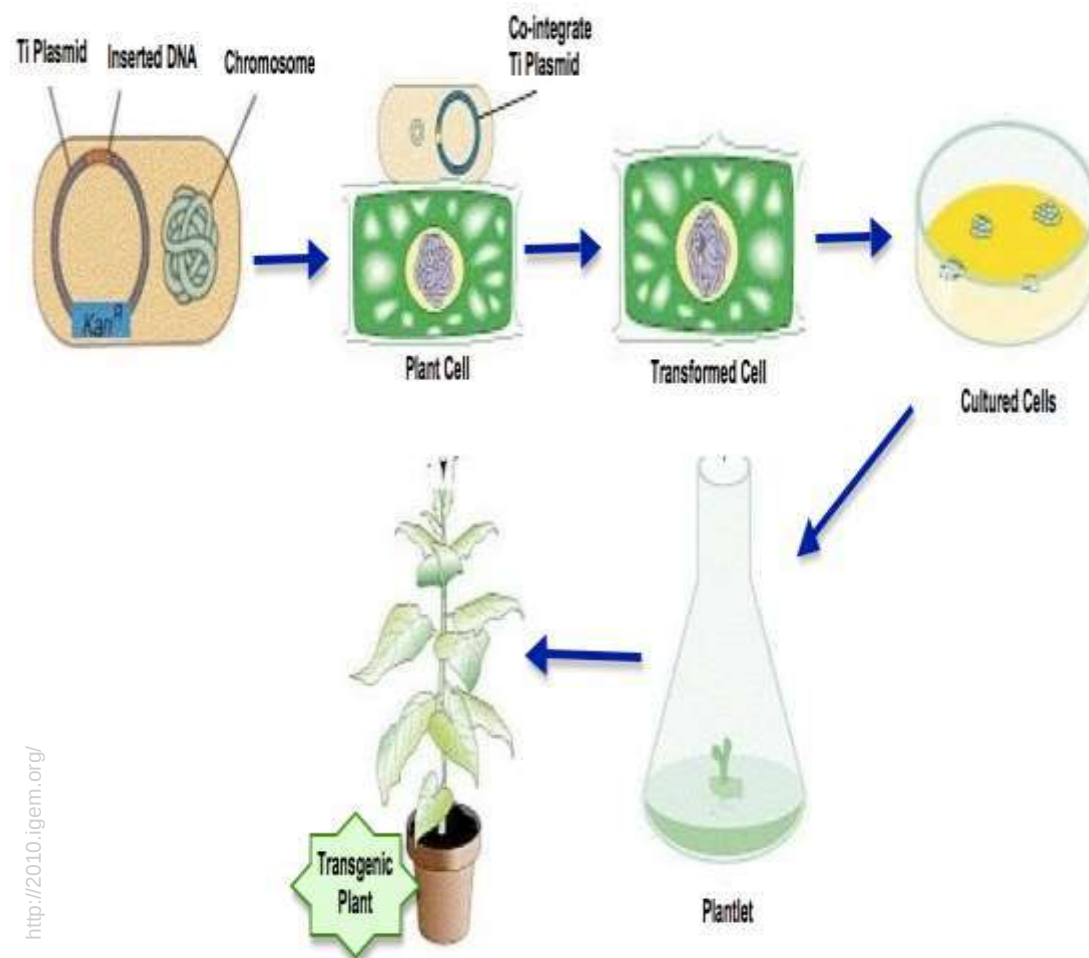
- этилметансульфонат,
- метилметансульфонат,
- N-этил-N-нитрозомочевина,
- N-нитрозометилмочевина,
- этионин,
- колхицин

Физикалық мутагендер:

- рентген
- ультракүлгін сәулесі
- гамма сәулесі

Гендік инженерия -

рекомбинантты РНҚ мен ДНҚ
құрастыру, организмнен
(клеткалардан) гендерді бөліп алу,
оларға түрлі манипуляциялар
жасау, құрылымдық гендерді басқа
организмдерге енгізу нәтижесінде
трансгенді және химералы
организмдерді алу.



<http://2010.igem.org/>

Трансгенді өсімдіктерді алу маңыздылығы

1. Өсімдіктердің ауылшаруашылық құнды қасиеттерін жақсарту.
2. Биореакторлар ретінде қолдану.
3. Биологиялық (трансгеноз) процестерде гендердің әсерін зерттеу.

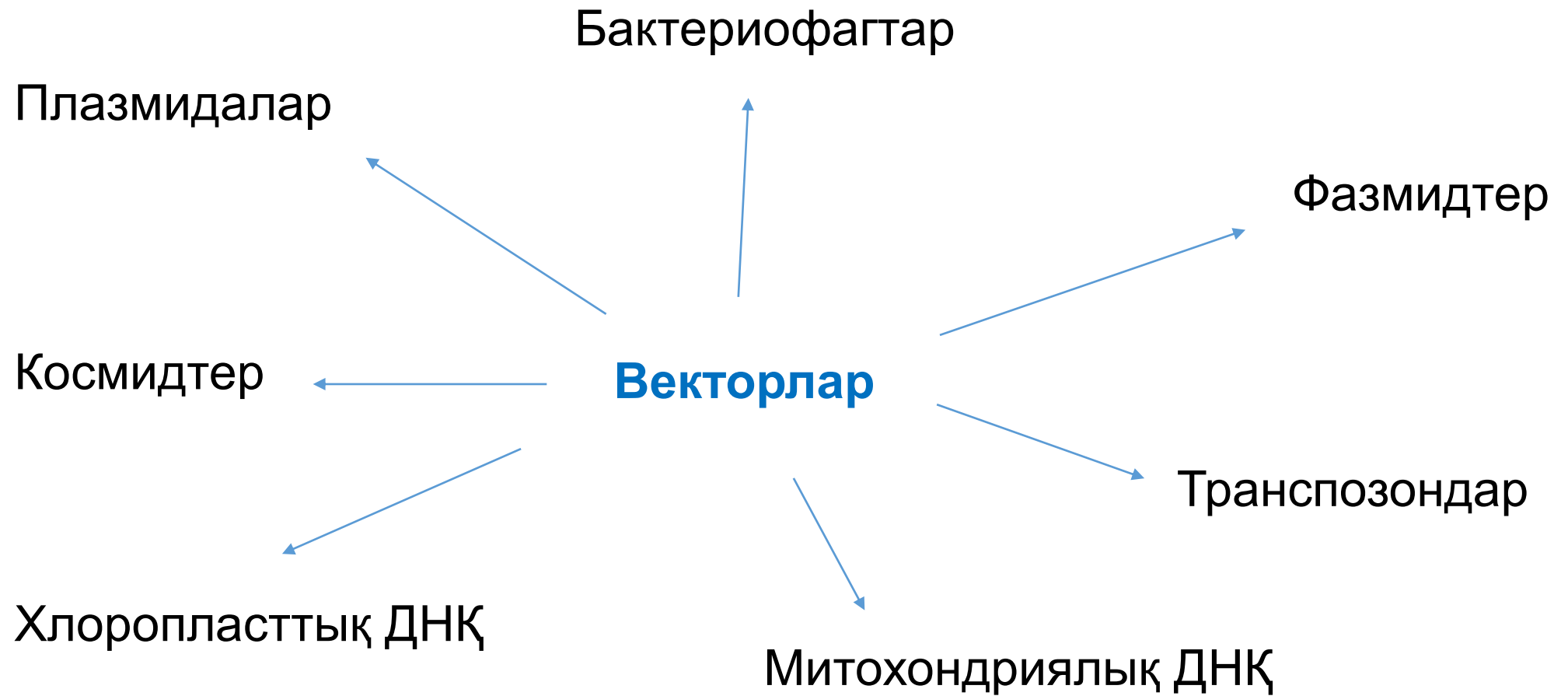


Вектор - бөтен генді реципиент клеткасына тасымалдайтын ДНҚ молекуласы.

Векторға қойылатын талаптар:

1. Репликациялануға қабілетті
2. **Ori** - сайтының болуы
3. Генетикалық маркерлердің болуы
4. Рестрикциялық сайттардың болуы
5. Вектор мен құрылымдық ген өзара бір - бірінің қызметін бұзбауы тиіс
6. Көлемі кіші болуы тиіс

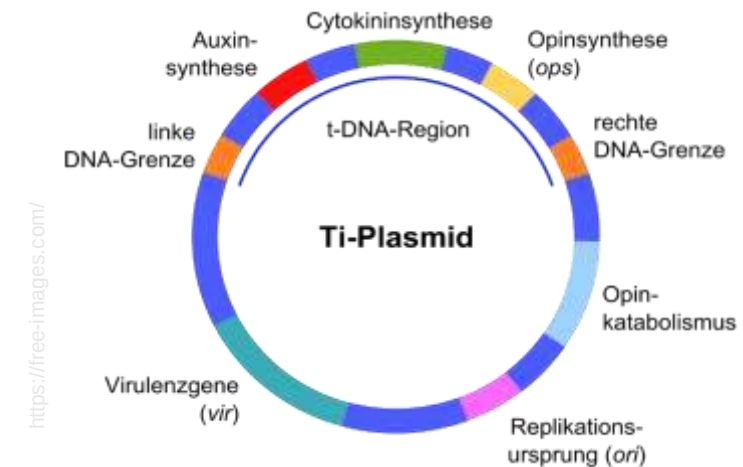
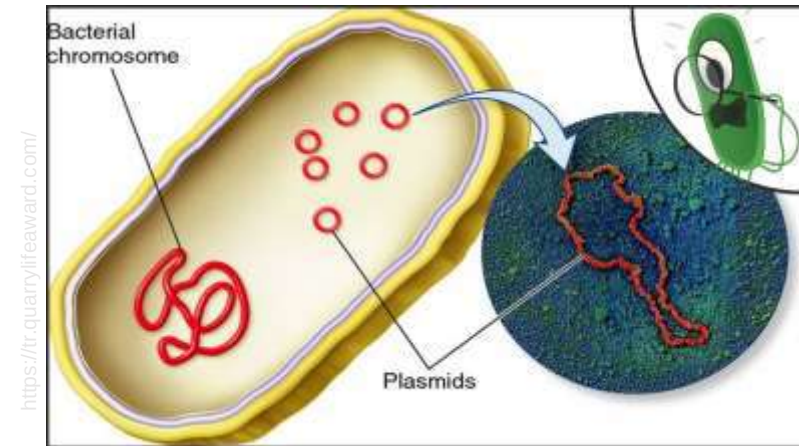
- **Селективті маркерлер** - канамицин, тетрациклин, ампицилин, ауыр металдар, токсиндер т.б.
- **Репортерлы маркерлер** - жасыл флюоресценттік белок гені, люцифераза гені, β -D -глюкуронидаза гені, β - галактозидаза.



Плазмидалар – кейбір бактерияларда (E.coli, Agrobacteria tumefaciens т.б.), архея және эукариоттарда кездеседі.

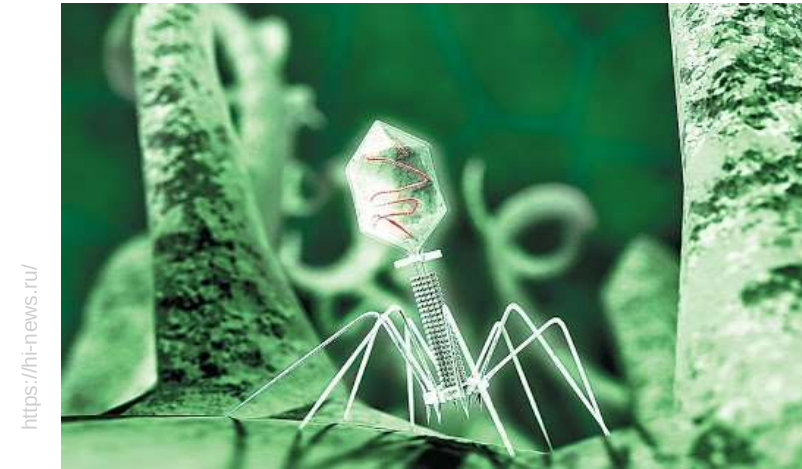
Негізгі қызметі: бактериялардың төзімділігін арттыру.

Плазмидалар **5-10 м.ж.н.** тасымалдауға қабілетті.



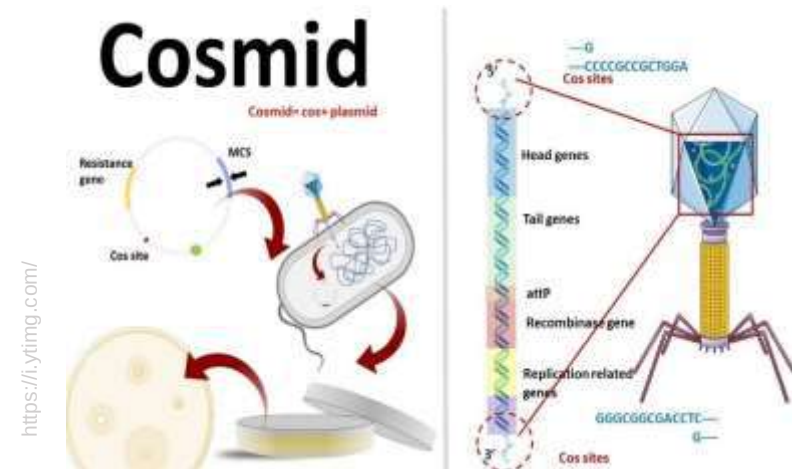
Фагтар – бактерияларды
зақымдайтын
вирустардың ДНҚ молекулалары.

10 – 20 м.ж.н. тасымалдауға қабілетті.

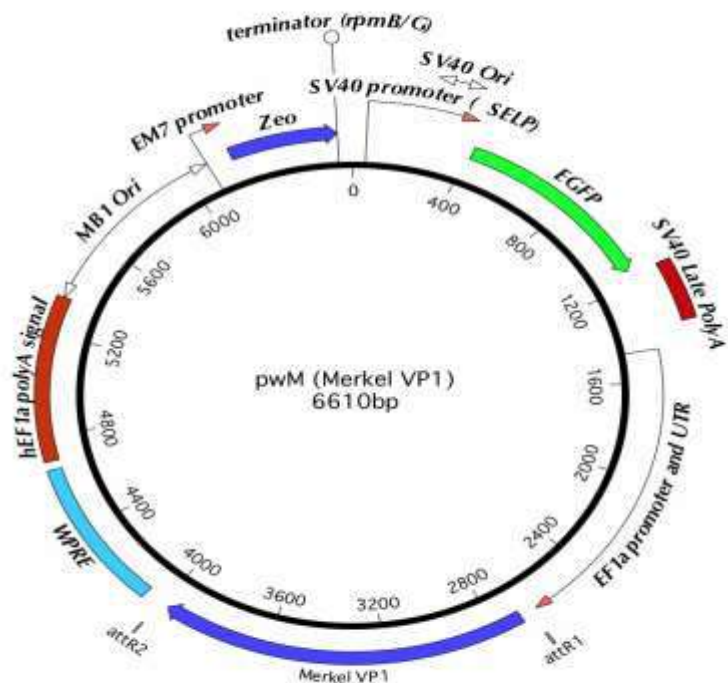


Космидтер – E.coli зақымдайтын
бактериофаг, **λ - фагтың Cos**
аймағы бар плазмида.

30 – 50 м.ж.н. тасымалдауға қабілетті.

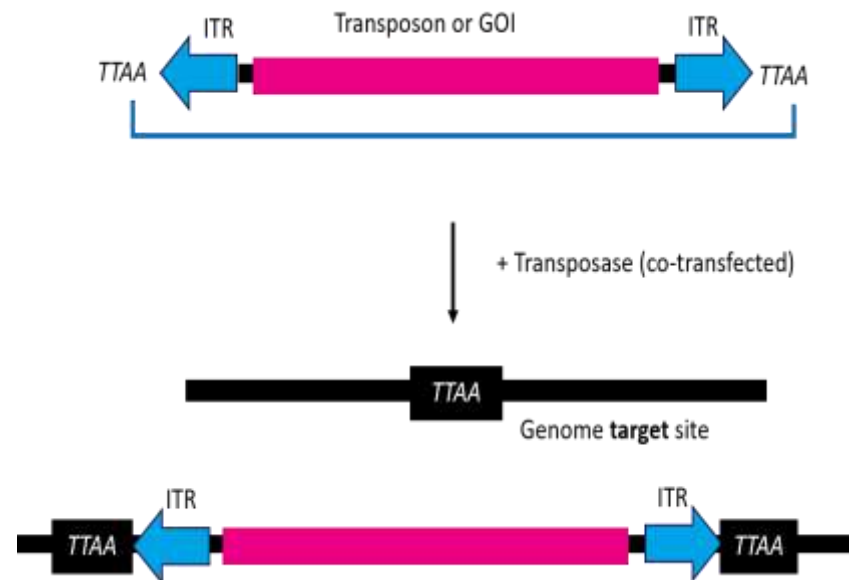


Фазмидтер - будан векторлар



<https://media.addgene.org/>

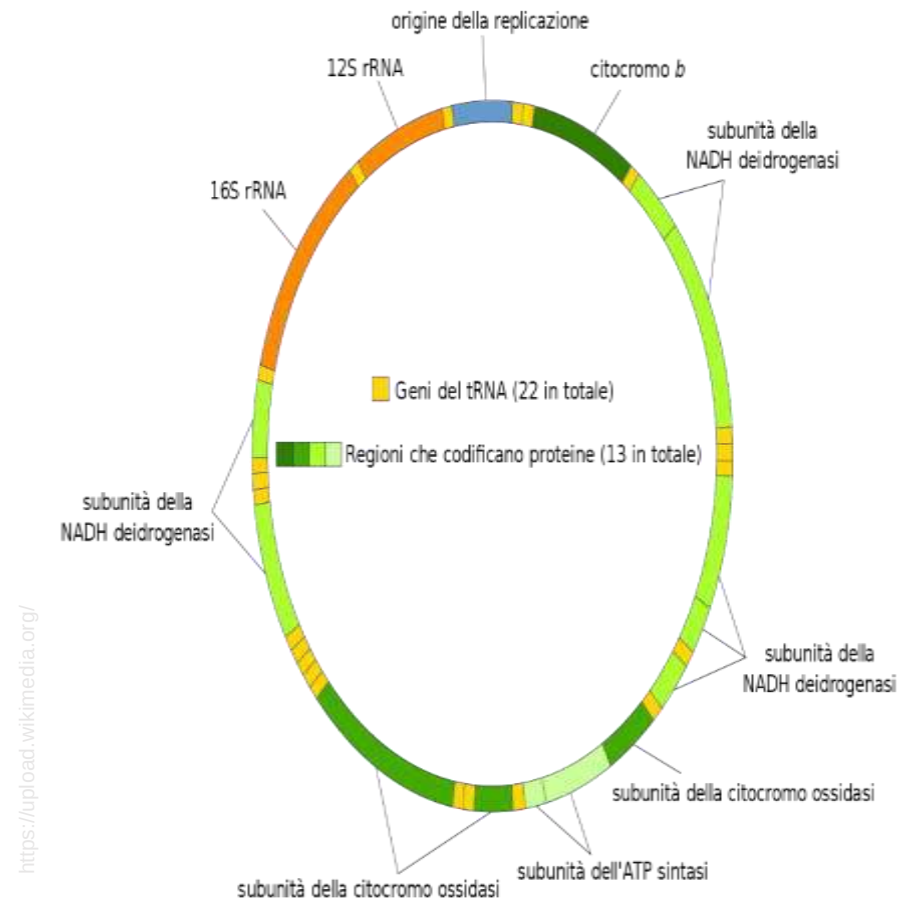
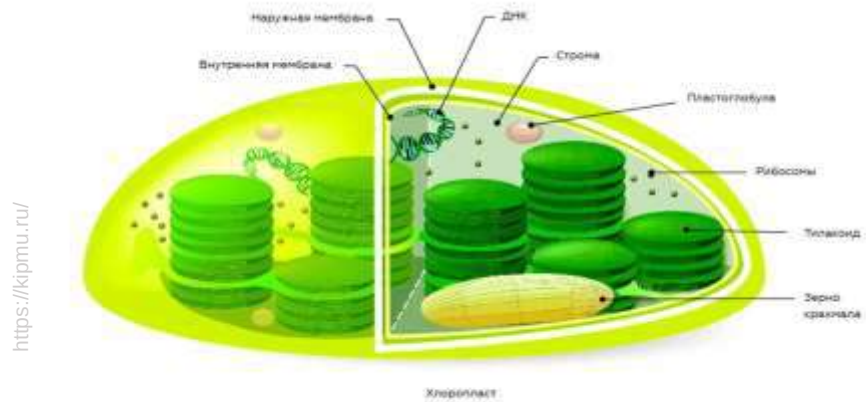
Транспозондар – ДНҚ тізбегіндегі мобилді элементтер (гендер).



<https://www.solentim.com/>

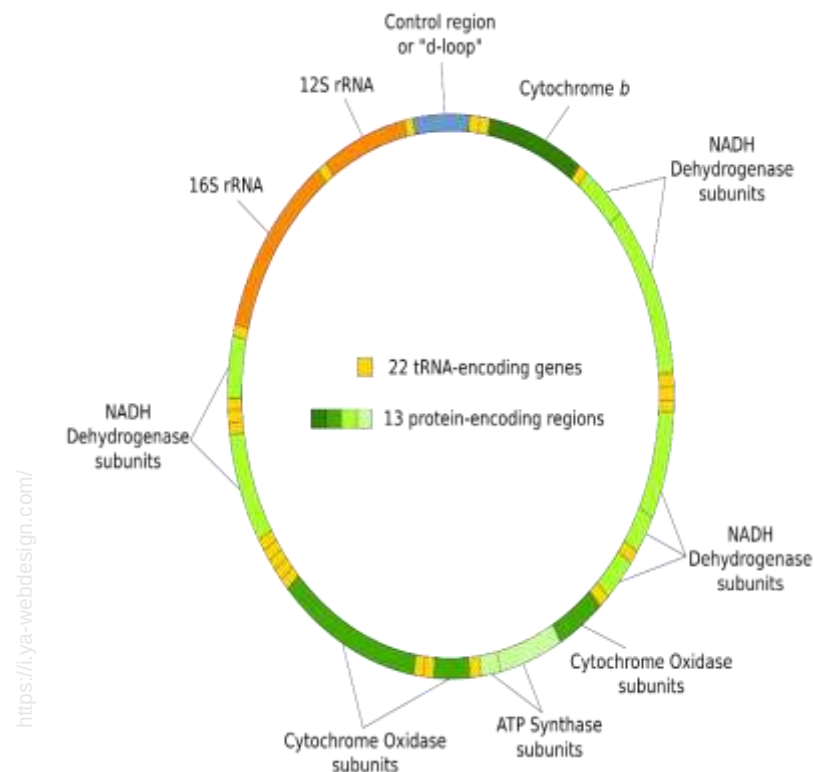
Хлоропласттық ДНҚ –

пластидтердегі гендік ақпарат
пластом жазылған, ұзындығы
150 м.ж.н. тізбегінен тұратын
сақиналы молекула.



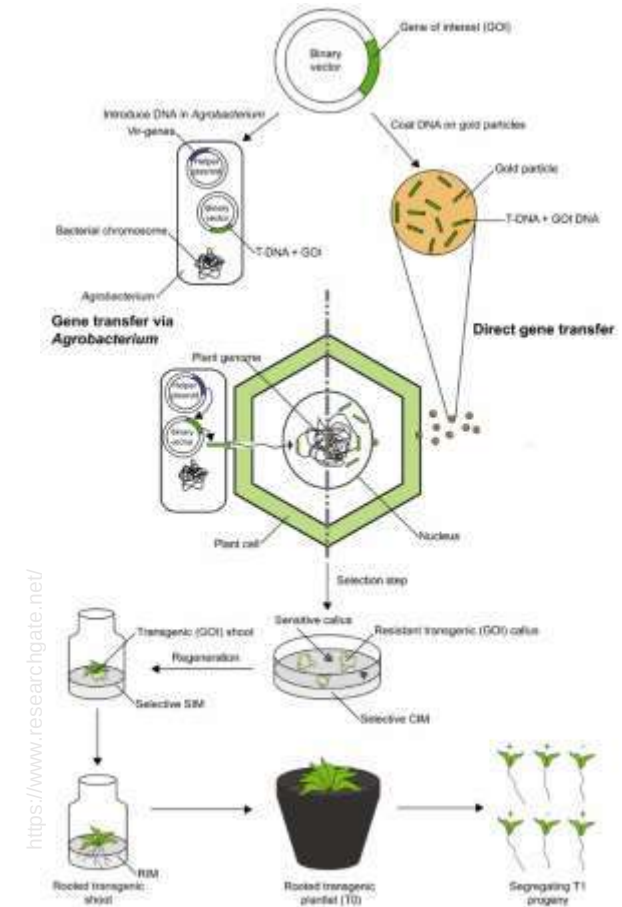
Митохондриялық ДНҚ – 15-19

м.ж.н. тізбегінен тұратын
сақиналы молекула, тыныс алу
және улы заттарға төзімділікті
бақылайды, аталық
ұрықсыздықты бақылайтын
гендер болады.



Гендік инженерия сатылары:

1. Белгілі бір организмнен қажетті генді бөліп алу.
2. Құрылымдық генді векторға тігу (рДНҚ құрастыру).
3. рДНҚ - ны реципиент клеткасына енгізу.
4. Реципиент клеткаларында рДНҚ экспрессиясын талдау.
5. Трансформацияланған клеткаларды сұрыптау.
6. Гендік модификацияланған өсімдік-регенеранттар алу.



Қолданылған әдебиет тізімі:

1. Клунова С.М. Биотехнология: учебник для высш. пед. проф. образования // М.: Издательский центр «Академия», 2013. - 256 с.
2. Вечканов Е. М., Сорокина И. А. Основы клеточной инженерии // Изд. Ростов-на-Дону, 2012. – 136 с.
3. Елинов Основы биотехнологии. Издательство Наука, СПб 1998 г. 600 с.

Ғаламтор-ресурстары:

vzlet.org; 2010.igem.org; avatars.mds.yandex.net; tr.quarrylifeaward.com; free-images.com; hi-news.ru; i.ytimg.com; media.addgene.org; solentim.com; upload.wikimedia.org; kipmu.ru; upload.wikimedia.org; researchgate.net.