

## «БИОТЕХНОЛОГИЯ НЕГІЗДЕРІ» ПӘНІ БОЙЫНША ДӘРІСТЕР ЖИНАҒЫ

### Дәріс-11

*Тақырыбы:* Жануарлар биотехнологиясының пәні және оның әдістері. Жануарлар биотехнологиясының даму тарихтары. Жануарлардың көбею биологиясының негіздері. Жыныс гормондары. Суперовуляция қоздыру және күйіт синхронизациясы. Жыныстық айналым.

*Мақсаты:* Жануарлар биотехнологиясының пәні және оның әдістері. Жануарлар биотехнологиясының даму тарихтары мен жетістіктерімен таныстыру.

*Кілтті сөздер:* жануарлар биотехнологиясы, суперовуляция, гормон, Көбею биологиясы.

*Негізгі қаралатын сұрақтар:*

1. Жануарлар биотехнологиясы түсінігі және жетістіктері;
2. Жануарлар биотехнологиясының негізгі мақсаты;
3. Жануарлар культура жасушасының қысқаша тарихы.

*Көрсетілетін презентация және т.б.:* кестелер мен препараттар.

*Қысқа мазмұны:* Жануарлар биотехнологиясы түсінігі және жетістіктері. **Жануарлар биотехнологиясына** әртүрлі жануарлармен (ауыл шаруа-шылығының малдары, үй құстары, балықтар, жәндіктер, үй жануарлары және зертханалық жануарлармен) істелінетін жұмыстар және геномика, гендік инженерия, клондау сияқты зерттеу тәсілдері жатады.

Жануарлар биотехнологиясының негізгі **мақсаты** - мал шаруашылығының түсімін арттыру және адам өміріне қажетті дәрі-дәрмектер алу. Биотехнологиялық зерттеулер мал шаруашылығында: 1) биотехнология көмегімен жануарлардың денсаулығын жақсарту; 2) жануарларда жүргізілетін биотехнологиялық зерттеулер көмегімен адамдарды емдеуде жаңа жетістіктерге жету; 3) биотехнология көмегімен мал шаруашылығының өнімдерінің сапасын арттыру; 4) Биотехнология жетістіктерімен қоршаған ортаны қорғау және биологиялық әртүрлілікті сақтау сияқты бағыттарда қолданылады.

**Жануарлар биотехнологиясының жетістіктері.** Соңғы 100 жылда өсімдіктер мен малдарды жақсарту барысындағы селекциялық жұмыстарда ғалымдар үлкен жетістіктерге жетті. Осындай көрнекті нәтижелер мал шаруашылығында орын алды. Селекция үрдісінің барысында ірі қара малдың тұқымдары алынған, олар өз кезегінде, мысалы, бір сиыр жылына 10 мың кг сүт береді.

*Жануарлар культура жасушасының қысқаша тарихы.* Алғаш рет жануарлар жасушасын бөліп алып, жеке *in vitro* -жағдайында, өсіру К. Бернар атты ғалымның ойына келді.

1885 жылы У. Руатты ғалым жалпы жасушаларды тауық эмбрионының нерв пластинкаларын тұзды ертіндіде сақтауға болатынын көрсетті.

1897 ж., Леб қан жасушасының тіршілікке, 1898 ж., Льюнгрен адам тері қышқылды ортада реимплантацияға қаблеттігін сақтайтындығын байқады.

Көбею физиологиясы. Көбею - жануарлардың өніп-өсуін, белгілі түрдің сақталуын қамтамасыз ететін күрделі биологиялық процесс. Жоғары сатыдағы дамыған жануарлар жыныстық жолмен көбейеді. Жаңа дарақ (индивидуум) аталық және аналық жыныс клеткаларының қосылуынан пайда болған ұрықтан дамиды. Сүтқоректілерде, оның ішінде үй жануарларында, бұл процесті арнаулы көбею ағзалары қамтамасыз етеді. Көбею ағзалары эволюция процесінде дамып-жетіле келе, әр түрлі малда өзіне тән ерекшеліктерге ие болды. Үй жануарларының өнімталдық, көбейткіштік қабілеті олардың шаруашылыққа тиімді көрсеткіштерінің бірі болып табылады.

**Жыныстық айналым** деп жоғарғы сатыдағы жануарлар аналығындағы екі овуляция аралығындағы белгілі бір ретпен мезгіл-мезгіл қайталанып отыратын күрделі морфо-физиологиялық, мінез-қылықтық үдерістер жиынтығын айтады. Осы жағдайда жануарлардың жүріс-тұрыстарында және көбею ағзаларында өзгерістер болады. А. П. Студенцов (1953) теориясы бойынша жыныстық айналым ағзаның барлық физиологиялық жүйелері қатысатын

күрделі нейрогуморальдық тізбектелген үрдіс. Ол қозу, тежелу және теңелу сатыларына бөлінеді.

### **Бақылау сұрақтары**

1. Жануарлар биотехнологиясы пәні нені қарастырады?
2. Жануарлар биотехнологиясының жетістіктері айтыңыз?
3. Қазақстанда жануарлар биотехнологиясының дамуына үлес қосқан ғалымдар?
4. Жануарлар культура жасушасының қысқаша тарихына тоқталыңыз?
5. Фолликулалар мен сары дене аналық жұмыртқа безінде қандай қызмет атқарады?
6. Жыныстық айналымға анықтама беріңіз?
7. Жыныс айналымының нейроэндокриндік бақылау механизмін айтыңыз?
8. Фолликулогенез үдерісіне тоқталыңыз?
9. Овуляция дегеніміз не?

### **Дәріс-12**

*Тақырыбы* **Жануарлардың ұрықтарын трансплантациялау әдістері. Ұрықтарды жуып алу. Клондалған жануарларды алу әдістері**

*Мақсаты:* Жануарлардың ұрықтарын трансплантациялау әдістерімен таныстыру.

*Кілтті сөздер:* жануарлар биотехнологиясы, суперовуляция, жатыр, трансплантация.

Негізгі қаралатын сұрақтар:

1. Жануарлардың ұрықтарын трансплантация мағанасы
2. Суперовуляция қоздыру және күйіт синхронизациясы.
3. Жануарлардың ұрықтарын трансплантациялау әдістері
4. Донорды таңдау және, жуып алу.

*Көрсетілетін презентация және т.б.:* кестелер мен препараттар.

*Қысқаша мазмұны.* Жануарлардың ұрықтарын трансплантациялау әдістері.

Трансплантация – көшіру, тасымалдау деген мағананы береді. Ауыл шаруашылығы белгілерімен жоғары бағалы аналық малдың (донордың) бірнеше эмбриондарын басқа аналық малдардың (реципиенттердің) жыныс жолдарына тасымалдауды түсінеді.

Эмбриондарды тасымалдау биотехнологиясы:

- донорларды таңдау;
- донорлардың суперовуляциясын іске асыру;
- донорларды ұрықтандыру; донорлардан эмбриондарды шығару және оларды бағалау;
- эмбриондарды арнайы ортада өсіру және сақтау; эмбриондарды реципиенттерге көшіріп отырғызу сияқты *кезеңдерден тұрады.*

Трансплантациялау асыл тұқымды мал шаруашылықтарынан **донорларды таңдау** жұмысынан басталады. Жануарлардың таңдау жұмыстарында: биологиялық (түр, тұқым, жас), физиологиялық (денсаулық, көбею үдерісіне жарамдылығы), зоотехникалық (өнімділік) ерекшеліктері ескеріледі.

Қазіргі кезде профессорлар М. Тойшыбеков, Т. Садықұлов басшылығымен мал шаруашылығында кеңінен қолдануда.

### **Суперовуляцияны қоздыру және жыныстық қозу синхронизациясы**

**Суперовуляция** – фолликулдердің өсуіне және дамуына мүмкіншілік беретін, гормондардың көмегімен ұрғашы-донорларға әсер ететін әдіс. Бағалы донордың жыныс мүшесіне ооциттер жетілуі үшін әртүрлі гормон препараттарын қолданады.

*Суперовуляцияны қоздыру әдістері.* Қолданылатын фармакологиялық гормондық препараттарға байланысты бірнеше овуляцияларды қоздыратын үш әдіске айырады:

- 1) Қынаптың (влагалища) ішіне пессарий салу. Пессарий деп прогест-тагендердің этанолдық немесе пропилен-гликольдік губкаға сіңдірілген ерітін-ділерін айтады.
- 2) Инъекция жасау (тамырға, бұлшық етке, тері астына).

3) Пессарий және инъекциямен бірге қолдану. Соңғы уақытта гонадо-тропиндерді жатырдың ішіне инъекция жасау әдістерін қолданады.

Жыныстық қозу уақыты ПГФ<sub>2α</sub> гормонымен бірінші инъекциялаудан кейін 40-50 сағат аралығында басталады. Жыныстық қозу уақыты басталғаннан кейін 12 және 24 сағат уақыт аралығында ұрықтандыру жұмыстары жүргізіледі. Қолдан ұрықтандырудан 7-7,5 күн өткеннен кейін эмбриондарды хирургиялық емес жолмен шығарып алады.

Клондау технологиясы және оның жетістіктері мен болашағы. **Клондау** (грек. *clon* – ұрпақ, бұтақ) деген сөз мағананы береді. Клон- организмдерді жыныссыз жолмен көбейту арқылы сол организмдерге фенотиптік және генотиптік бірдей ұрпақтар алуды айтады. Клондау маманданған жасушалардың тотипотенттігі мәселесін шешуге көмектеседі. Сонымен бірге клондау деп алғашқы бір молекуладан, жасушадан немесе дарақтан көп үлгілер алу үрдісін де айтады. 20-ғасырдың 60-жылдарының басында кейбір жоғары сатыдағы өсімдіктер мен жануарларды клондау әдістері жете зерттелді. Клондалған жануарларға бір дарақтан (немесе бір ұрықтан) шыққан генетикалық ұқсас ағзалардың тобын жатқызады.

Жоғары сатыдағы жануарларда өнімділікке жауап беретін, арнайы гендер кешені өте сирек туындайды, әрі келесі ұрпақтарда олар айтарлықтай өзгеріске ұшырайды және де алатын ұрпақ саны аз болады.

### **Бақылау сұрақтары**

1. Эмбриондарды бөліп алудың хирургиялық және хирургиялық емес әдістері қандай мерзімде және қандай жануар түрлері үшін қолданылады? Қолдану әдісі?
2. Трансплатация әдісінің принциптеріне тоқталыңыз? Жануарлар дамуындағы практикалық маңызы ?
3. Әртүрлі ауылшаруашылығының жануарларының синхронизациясын салыстырып көріңіз?
4. Сиырларда суперовуляция шақырудың негізгі сызбанұсқасын көрсетіңіз.
5. Қойларда суперовуляциясын шақыруда гормондық өңдеудің қандай сызбанұсқасы қолданылады? Суперовуляциядан өткен қойды жасанды ұрықтандырудағы біршама тиімді әдісті атаңыз?
6. «Сперматозоид капацитациясы» дегеніміз не? Капацитация уақытында сперматозоидта қандай өзгерістер жүреді?

### **Дәріс-13**

*Тақырыбы:* Химералық жануарларды алу әдістері. Гаметалар мен эмбриондарды криоконсервациялау. Криобиологияның жетістіктері мен болашағы

*Мақсаты:* Химералық жануарларды алу әдістерімен таныстыру.

*Кілтті сөздер:* Клон, химера, аллофенді жануарлар, ұрық.

*Негізгі қаралатын сұрақтар:*

1. Химералық жануарлардың мағанасы.
2. Химералық әдістерінің кезеңдері.
3. Химералық жануарларды алу әдістері.
4. Аллофенді жануарлар алу.
5. *Көрсетілетін презентация* және т.б.: кестелер мен препараттар.

*Қысқаша мазмұны.* Эмбриондарды сәтті тасымалдау тек қана бір түрге жататын ұрғашылар арасында ғана болады деген ұғым қалыптасқан. Мысалы, эмбриондарды қойлардан ешкілерге және керісінше, трансплантациялау кезінде олар тірі қалады, бірақ ұрпақ бермейді. Тұраралық буаздықтың барлық жағдайларында аборттың себебі, ұрықтың өзге антигендеріне ана организмнің иммунологиялық реакциясы әсерінен, плацентаның қызметінің бұзылуы болып табылады. Бұл сәйкессіздік микрохирургия көмегімен химералық эмбриондарын алу арқылы жоюға болады.

Ал екінші *инъекциялық* әдісті Р. Гарднер (1968) ұсынды. Мұнда бластоциста кезеңіндегі эмбриондар қолданылады. Бұл әдіс келесі сатылардан тұрады: ұрғашы-донорлардың жыныс

жолдарынан әртүрлі бластоциста кезеңіндегі эмбриондарды алады және әртүрлі генотиптік ұрықтарды 1 мл M16+BCA ортасымен жуады; пеллюцид зонасын проназамен бөліп алып, *in vitro*-жағдайында 37 градуста 1 сағатқа өсіруге қояды. Донор-ұрықтан бөлініп алынған бластомераларды реципиент-ұрыққа инъекциялайды. Химералық ұрықты 12 сағат *in vitro*-жағдайында өсіреді. Химералық ұрықты ұрғашы-реципиенттің жыныс жолына салады.

Сонымен, химералық жануарлар алғанда жасушалардың гибридизациясы болмайды. Алайда, химералық организмнің жасушалары, ұлпалары, мүшелері әртүрлі қосылған организмдерден тұрады. Әрине, ұлпа деңгейіндегі генетикалық мозаикалық жүннің түсі сияқты фенотипте көрінбейді. Химералық жануарлар генетикалық мозаикалы болғандықтан ұрпақтар бермейді.

1973 жылы Р. Гарднер мен М. Джонсон бастаған ғалымдар тұраралық агрегациялық жолмен тышқан мен көр тышқанның химералық эмбриондарын алды.

Мозаикалы жануарлары анықтау әртүрлі дот блот гибридизациясы Саузерін әдісімен жүргізіледі. Алынған жануарлардың көбінесе 30%-ға дейіні трансгенді болады. Ал Мендель заңдылығы бойынша келесі ұрпаққа 50%-ға дейін берілуі керек. Бірақ көптеген мозаикалы организмдер трансгенді мүлдем келесі ұрпаққа бермейді. Негізінде ендірілген ген моногибридті тұқым қуалай-ды. Жалпы трансгенді жануарлар ұрпақтарының 75% трансгенді, оның ішінде 25% – екі трансгеннен 25% – бір трансгенді, 25% көп трансгенді болулары мүмкін, тек 25% – трансгенді емес. Трансгенді жануарларды алу тиімділігінің өте төмен болуы трансгенділікті талдаудың әр түрлі тәсілдерін жануарларға имплантациялауға дейінгі даму кезеңдерінде ізеудің негізгі себебі болып табылады. Қазіргі кездегі осы мақсатқа жету әдістерін: 1) гендік конструкцияларда олардың эмбриондарындағы экспрессиясын анықтауға репортерлік гендерді (мРНҚ немесе репортерлік гендер белогын) қолдану; 2) эмбриондарда гендік конструкциялардың өзін анықтау сияқты екі топқа бөлуге болады. Қолданылып жүрген репортерлік гендердің ішінде белгілілері *E. coli*-дің beta-галактозидаза (*LacZ*) гені, люцифераза гені, сілтілік фосфатаза гені, және де жасыл флуоресцентті белок (GFP). Осы гендерді маркер ретінде қолданудың өз артықшылығы мен жетіспеушілігі бар. Мысалы, beta-галактозидазаны анықтау, әдетте, эмбриондарды фиксациялауды қажет етеді. Саузерн блоттинг әдісі.

**Иммунологиялық скрининг.** *Иммуноблотинг.* Иммуноблотинг антиген-антидене-антидене байланысы-на негізделген белоктарды анықтау тәсілі. Ең алғаш Стенфордта Джордж Старк зертханасында қолданылды. Белоктардың спецификалық антиденелермен байланысуының арқасында трансгенді жануарларды жоғары дәлдікпен анық-тауға мүмкіндік болады. **Полимеразды тізбекті реакция.** Эмбриондар трансгендігін полимеразды тізбекті реакциясы (ПТР) әдісі арқылы анықтау кең қолдану тапқан. Полимеразды тізбекті реакция (ПТР) молекулалық биологияның әдістің бірі. Полимеразды бір тізбекті реакция – бұл ДНҚ фрагментін тірі организм көмегісіз көп рет көбейтуге болатын молекулалық биологияның ампли-фикациялау технологиясы. Бұл берілген биологиялық материалдардың нуклеин қышқылдарының белгілі фрагментінің кішкентай концентрациясын үлкейтіп көрсетуге мүмкіндік беретін эксперименталды әдіс болып есептеледі. 1983 жылы Кэри Мюллис полимеразды бір тізбекті реакция әдісін ашты. Қазір бұл ең оңай ДНҚ диагностикасы болып табылады. Ал 1993 жылы К. Мюллис бұл еңбегі үшін Нобель сыйлығын алды. Бірақ алғашында бір тізбекті полимеразалы реакция әдісін қолданудың өз қиыншылығы болды. Әр ысыту (денатурация) – суытудан (гибридизация) кейін реакциялық қоспаға ДНҚ-полимераза ферментін қосуды және көп уақытты қажет етті. 1986 жылы жоғары температураға тұрақты *Thermus aquaticus* бактериясынан бөліп алынған *Taq*-полимеразаны қолдану реакциялық көптеген циклді жұмысын оңайлатты және ПТР әдісін автаматтандыруға әкелді.

### Бақылау сұрақтары

1. Геномдық библиотека туралы не айтасыз?
2. Гибридизациялау көмегімен скрининг жасау тәсілі туралы айтыңыз?
3. Саузерннің ашқан әдісі жайлы не айтасыз?
4. Иммунологиялық скрининг тәсілі туралы не білесіз?

5. Гендердің химиялық синтезі дегеніміз не?
6. Линкер дегеніміз не? Қайда қолданылады?
7. А.Максам және В. Гилберттің химиялық әдісін айтыңыз?

Жұмыртқа жасушасын жануар ағзасынан тыс тұраралық ұрықтандырудың практикалық және ғылыми мәні неде?

Химераға түсінік беріңіз?

Химераларды алу әдістеріне тоқталыңыз.

Инъекциялық әдіс жайында не білесіз?

Жануар организмінен тыс ооциттердің дамуына қоректік ортаның қандай негізгі факторлары әсер етеді?

Ірі қара малдың хиералары бар ма?

### **Дәріс-14**

**Тақырыбы:** Жануарлар клеткаларына арналған векторларды құрастыру. Трансгенді жануарлар алу әдістері мен мәселелері. Трансгенді тышқандарды анықтау әдістері (*кей-стади әдісімен*).

**Мақсаты:** Жануарлар клеткаларына арналған векторларды құрастырумен таныстыру.

**Кілтті сөздер:** рекомбинантты ДНҚ, вектор, плазида, космида, трансген, трансгенді жануарлар.

**Негізгі қаралатын сұрақтар:**

1. Рекомбинантты ДНҚ технологиясы әдістерінің кезеңдері.
2. Үлкен ДНҚ – фрагменттерін тасымалдауға арналған векторлар.
3. Космидтер.

**Көрсетілетін презентация және т.б.:** кестелер мен препараттар.

**Қысқаша мазмұны.** Рекомбинантты ДНҚ технологиясы.

Рекомбинантты ДНҚ технологияларын жасауға, молекулалық биология, нуклеин қышқылдары және бактериялық вирустардың молекулалық генетикасы мен бактериялардың хромосомадан тыс орналасқан элементтерінің (плазмидтер) энзимологиясы салаларындағы көптеген жаңалықтар түрткі болды.

Рекомбинантты молекулаларды құрастыру бірталай ферменттердің көмегімен жүзеге асырылады. Ал мұнда ферменттер әртүрлері осы күрделі үдерістің барлығының тұрақты және ауыстырылмайтын құралы болып табылады.

Осыған орай, рестрикциялық эндонуклеазалар, яғни рестриктазалық ферменттер туралы айта кеткен жөн, олар екі тізбектік ДНҚ молекуласындағы арнайы нуклеотидтік тізбекті танып, оны ыдыратады.

Үлкен ДНҚ – фрагменттерін тасымалдауға арналған векторлар.

Плазмидалық векторлар көмегімен 10 м.ж.н-ке дейін ДНҚ фрагменттерін Космидтер – плазмидалық вектор мен  $\lambda$  фагының лямбда фагтың *cos* –бөлігі (жабысқақа ұштар) негізінде жасалынған.

Космидтер үлкен сыйымды болғандықтан, эукариоттық ДНҚ-ның ірі бөліктерінің көшірмелерін және геномдық гендер банкін (жинағын) клондарын алуға арнайы құрастырылған.

ВАС векторлары, яғни бактерияның жасанды хромосомасы *E.coli*-дің F-плазмидасы негізінде алынған. *E.coli*-дің F-плазмидасы жыныстық фактор болып табылады.

Оның құрамында репликацияға және осы плазмидалардың бактерия жасушаларындағы көшірмелеріне жауапты гендері, сонымен бірге клондауды іске асыруға арналған қосымша тізбектер (полилинкер) болады. Мұнда F-фактордың *Orig Rep E*, *rep A*, *rep B* гендерін қамтиды. *Orig*, *Rep E* гендері F-фактордың бір бағыты репликациясының жүруін қамтамасыз етеді. *rep A* және *B* гендері бактериялық жасушада F- фактордың репликациясының көшірме сандарына жауапты. Сондай-ақ селективті маркер ретінде қолданылатын хлорамфениколға

тұрақты гендерден тұрады. ВАС-векторларының мөлшері (~ 7 м.ж.н.) болғанымен бөтен ДНҚ сыйымдылығы – 100-300 м.ж.н. тұрады.

Рекомбинантты молекулалар *E. coli* жасушасына электропарацация арқылы енгізіледі. Бұл YAC тұқымдастарының ашытқы векторларынан трансфор-манттарды алу жиілігінен 10-100 есе жоғары болады.

Трансгенді жануарларды алу әдістері. Геномында жасанды жолмен ендірілген бөтен гені (гендер) немесе генетикалық ақпараты бар даракты трансгенді деп атайды. Трансгенді жануарларды трансгеноз әдісі арқылы алады. *Трансгеноз* деп жасанды жолмен генді бір ағзадан басқа ағзаға, олардың жаңа белгілерін алу мақсатымен тасымалдайды. Трансгенді жануарлар әртүрлі биохимиялық белсенді биотехнологиялық заттарды синтездеу немесе бағалы белгілері бар малдардың жаңа тұқымын алу үшін қолданылуы мүмкін. Сонымен бірге трансгеноз әдісімен бөтен генді эукариоттық жыныс жасушаларына енгізіп, оның жұмысын зерттеу арқылы биологияның көптеген іргелі мәселелерін айқындауға болады, өйткені мұнда трансгенді эмбрионның жатырдағы даму ерекшеліктерін бақылау мүмкіндіктері туады. Бұл жетістіктерге жетуге соңғы он жылдардағы көптеген сүтқоректілердің гендерінің құрылымы мен механизмдерін сипаттау және оларды клондау ықпал етті.

### **Трансгенді жануарларды анықтау әдістері**

Бөтен ДНҚ-ның экспрессиясын дәлелдеу үшін блот-талдаулар, дотблот- талдаулар және ПТР қолданылады. Ол үшін ядро құрамында бар жасуша ұлпаларын яғни, реципиенттің ішкі сұйықтықтарының ДНҚ-сы тексеріледі.

Трансгенді жануарларды талдау және олардан алынған ұрпақтар ДНҚ жасушасын ұрыққа өте ерте сатыда ендіргеннің өзінде, трансгенді линияларда мозаикалы жануарлардың пайда болуы мүмкіндігін көрсетеді. Мозаикалы жануарларға, бір ұрықтан шыққан, бірақ әртүрлі генотипі бар жануарларды айтады. Сонымен бірге трансгенді жануарлармен бірге трансгенді емес ұрпақтардың да кездесуі мүмкін. Мысалы: 30%-ға дейін трансгенді жануарлардың мозаикалы болады. Сондықтан таза трансгенді жануарларды бөліп алу қиындайды.

### **Сүтқоректілердің селективті маркерлік гендері**

Сүтқоректілердің трансфицирленген жасушаларын іріктеу үшін неомицинфосфотрансферазаны кодтайтын *Neo<sup>r</sup>* бактерия генін жиі қолданылады. Бұл жүйеде сүтқоректілердің трансфицирленбеген жасушаларының трансляциясын бұғаттайтын генетикин (G-418) токсикалық байланысы қолданылады. Сонымен бірге, трансфицирленген жасушаларда G-418 неомицинфосфотрансферазалармен фосфорилденеді және инактивтелінеді. Демек, тек қана *Neo<sup>r</sup>* ген өнімін синтездейтін және көбеюге қабілетті жасушалар тірі қалады.

Сүтқоректілердің трансфицирленген жасушаларын іріктеудің басқа жүйесі ***дигидрофолатредуктаза* (DHFR)** ферментін кодтайтын генді қолдануға негізделген. Бұл жүйеде ақауы бар ген (DHFR) бар жасушалар, яғни функциональдық DHFR синтезделмейтін жасушалар қолданылады.

Сүтқоректілердің экспрессиялаушы векторларының DHFR геномын қадағалайтын DHFR-жасушаларының трансфекциясынан кейін ортаға мето-трексат қосады. Трансфицирленбеген жасушалар оның қатысында өспейді, ал дигидрофолатредуктазаны синтездейтін жасушалар тірі қалады. Алдын ала DHFR геномы бар жасушаларды іріктегеннен кейін, ортада метотрексаттың концентрациясын көбейту арқылы рекомбинантты белокты көп мөлшерде синтездейтін вектордың көшірмесін көп мөлшерде алады.

Доминантты маркер көмегімен іріктеудің басқа да сызбалары жасалып шығарылған, мысалы, метионинсульфоксиминнің цитотоксикалық әсеріне төзімділікті қамтамасыз ететін ***глутаминсинтетаза* (GS)** ферментін қолданады. Бұл жүйеде GS гені бар векторлар қолданылады. Оларды сүтқоректілердің жасуша дақылына енгізеді және ортада метионинсульфок-симин концентрациясын жоғарылатып, векторлардың көшірмелерін көп мөлшерде жасушаларды іріктеу үшін алады. Сонымен бірге қожайын жасушада GS гені болуы керек, себебі метионинсульфоксиминге төзімділікті қамтамасыз ететін GS-нің көп көшірмелері болуы шарт. Мұндай сызба жоғарыда айтылған артықшылықтарға ие.

Сүтқоректілердің экспрессиялаушы векторларына әртүрлі белоктардың гендері енгізілген және қожайын жасушаларда олардың экспрессиясы жүзеге асырылған. Кейде промотормен клондалған геннің арасына интронды қойған кезде өнімнің шығуы артқан. Бұл феноменнің механизмі белгісіз. Клондалған геннің біріншілік транскриптіінде клондалған геннің аумағының бір бөлігі кесіліп, сплайсингтің қосымша интроны төменгі ықтималдылықпен сәйкес сплайсингтің жасырын сайты бар болуы мүмкін.

Клондалған геннің экспрессиясы селективті маркер ген экспрессиясының координациясының қатысуымен жоғарғы деңгейге жетті. Ол үшін, мысалы, *DHFR* генін екі ген бір промотордың бақылауында және полиаденилденудің ортақ сигналына ие болу үшін клондалынатын генге жақын орналастырды, ал *DHFR* гені интронның сплайсинг сайтымен фланкирленеді. *DHFR* және рекомбинантты белок біріншілік транскриптен және сплайсирленген мРНК-дан сәйкесінше көшірілді. Сүтқоректілердің бір жасушасында екі клондалушы геннің экспрессиясы.

### Бақылау сұрақтары

#### Бақылау сұрақтары

1. II-типті рестрикциялық эндонуклеазалар дегеніміз не?
2. pBR322 плазмидалық векторының қандай гендерден тұрады?
3. Плазида pBR322 вектор ретінде қолдануын сипаттаңыз?
4. Әдетте банк клондарын плазмидалық векторды *BamHI* толық, ал *Sau3AI* а) Неге екі түрлі фермент қолданды? ә) Ішара (частичный) гирилиздеу дегеніміз не және қалай жүргізеді. б) Клондар банкін жасауда неге оны жиі қолданады?
5. Неге плазмидалық ДНҚ-ны лигирлеу алдында сілтілік фосфатазамен өңдейді?
6. Сүтқоректілердің селективті маркерлік гендері неге керек ?
7. Сүтқоректілердің трансфицирленген жасушаларын іріктеу үшін қолданылатын неомицинфосфотрансфераза жайында не айтасыз?
8. Дигидрофолатредуктаза туралы не білесіз?
9. Тағы да қандай селективті маркерлік гендерді білесіз?

### Дәріс-15

**Дәріс тақырыбы: Клеткалық терапияның болашағы. Қазақстанда бағаналы клеткаларды қолдану аймақтары.**

**Клондаудың адамда қолдану бағыттары. Терапевтік** немесе **эмбриондық** клондауда ғалымдар адам эмбрионын өздерінің зерттеулерінде қолданады. Бұл үдерістің негізгі мақсаты – адам клонын жасап шығару емес, адам организмін зерттеуде және ауруларды емдеуде қолданылатын бағаналы жасушаларды өсіру. Көптеген зерттеулер болашақта бағаналы жасушаларды жүрек, бүйрек, бауыр және т.б. ауруларды емдеуде жасуша – имплантат ретінде қолданылуына үміт арттуда. Адамды клондау технологиясы әлі түбегейлі зерттеліп болған жоқ. Репродуктивтік клондауға этикалық, діндік, юристік мәселелерге байланысты арнайы рұқсат жоқ. Көптеген елдерде репродуктивтік клондау заң түрінде тыйым салынған. Жануарларда қолданылатын ядроны ауыстыру әдісімен адам соматикалық жасушаларын терапевтік жолмен клондау жұмыстары жүргізілуде.

Егер де жеткілікті ғылыми тұрғыда зерттеулер жүргізілетін болса, ал мемлекетте тәжірибелер заң бойынша шектелмеген болса, онда болашақта клондалған адамның пайда болуы ғажап емес. Қазіргі таңда бұл тәжірибенің нәтижесі теріс немесе оң болатынын нақты айту мүмкін емес.

**Бағаналы жасушалар дегеніміз не?** Бағаналы жасушалар – маманданбаған, сирек бөліну арқылы сан тұрақтылығы өздігінен реттеліп отыратын жас жасушалар популяциясы. Жетілген организмнің бағаналы – жасушаларының көп бөлігі сүйек кемігінде болады. Бағаналы жасушаларды ұлпа дақылынан бөліп алуға және өсіруге болады. Көптеген әртүрлі

типтегі жасушаларды беру қабілеттілігі бағаналы жасушалардың түрлі ақауларды және олардың кері әсерін қайта қалпына келтіруге мүмкіндік беретін организмнің резервтегі жасушалары болып табылады. Бағаналы жасушалар ұлпалардың барлық түрінің жасушаларына: қан жасушасына, ішкі мүшелеріне, бұлшық-ет және сүйек ұлпаларына, тері эпителийлеріне, нейрондарға және т.б. айнала алады. Адам организмнің ерте даму кезеңінде толығымен бағаналы жасушалардан тұрады, яғни олар біртіндеп маманданып, мүшелер мен организм ұлпаларына айналады. Бағаналы жасушалар организмнің құрылыс материалы болып табылады. Ұлпалар мен мүшелердің кез-келген жасушаларына айналу қабілеті арқылы бағаналы жасушалар «жедел көмек» қызметін атқарады: егер де организмнің бір жері жарақаттанса, олар қан ағымы арқылы көмекке барады.

### **Бақылау сұрақтары**

1. Бағаналы клеткалар дегеніміз не?
2. Бағаналы клеткалар қандай гендерден тұрады?
3. Бағаналы клеткаларды қолдануын сипаттаңыз?

### **Әдебиеттер мен резустар**

1. Жұмабаева Б.Ә. Биотехнология негіздері: жануарлар биотехнологиясы, Алматы, Қазақ университеті, 2014.-180 бет.
  2. Жұмабаева Б.Ә. «Биотехнология негіздері: жануарлар биотехнологиясына арналған лабораториялық жұмыстар» Алматы, Қазақ университеті, 2016.-237 бет.
  3. Шевелуха В.С., Калашникова Е.А., Воронин Е.С. и др. Сельскохозяйственная биотехнология. 2-е изд. М. Высшая школа, 2003.
  4. Щелкунов С.Н. Генная инженерия. Новосибирск. Изд-во Новосибирского государственного университета. 2004.
  5. Загоскина Н.В., Назаренко Л.В., Е.А. Калашникова, Живухина Е.А. Биотехнология: теория и практика. Учебное пособие. Москва. «Оникс». 2009, 496 с.
  6. Тұрашева С.Қ. Клеткалық биотехнология: Оқулық. Алматы: ЖШС РПБК «Дәуір». 2011. – 260 бет.
- Әлмағамбетов Қ.Х. Биотехнология негіздері. Астана. 2007. – 208 бет.