



МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ –

МСХА имени К.А. ТИМИРЯЗЕВА
(ФГБОУ ВО РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева)

КУЛЬТУРА КЛЕТОК И **ТКАНЕЙ**

Работу выполнил:
студент 128 группы Федаков
Алексей Алексеевич

Немного истории

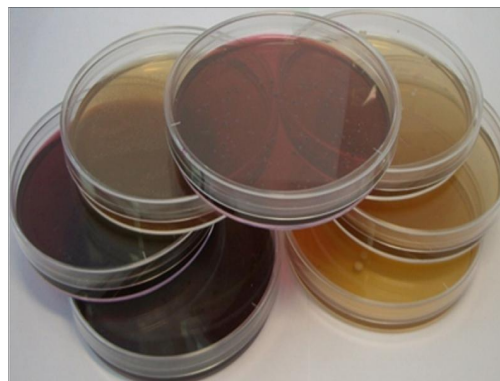
- **Конец XIX – начало XX века – Х.Фехтинг, С. Рехингер, Дж.Хаберланд** – первые попытки стимуляции роста растительных тканей и органов
- **1922 - В.Роббинсон, В.Котте** - доказали возможность выращивания кусочков корневых меристем на синтетической пит.среде

Немного истории

- **1932 – Р.Готре, Ф.Уайт** – возможности неограниченного во времени роста при периодической пересадке
- **1955 – Ф.Скуг и С.Миллер** – открытие цитокининов.
- **1969 - Р.Г.Бутенко** – метод клонального микроразмножения, метод культивирования одиночной клетки с помощью ткани-няньки

Влияющие условия культивирования

- Асептика
- Питательные среды
- Физические факторы

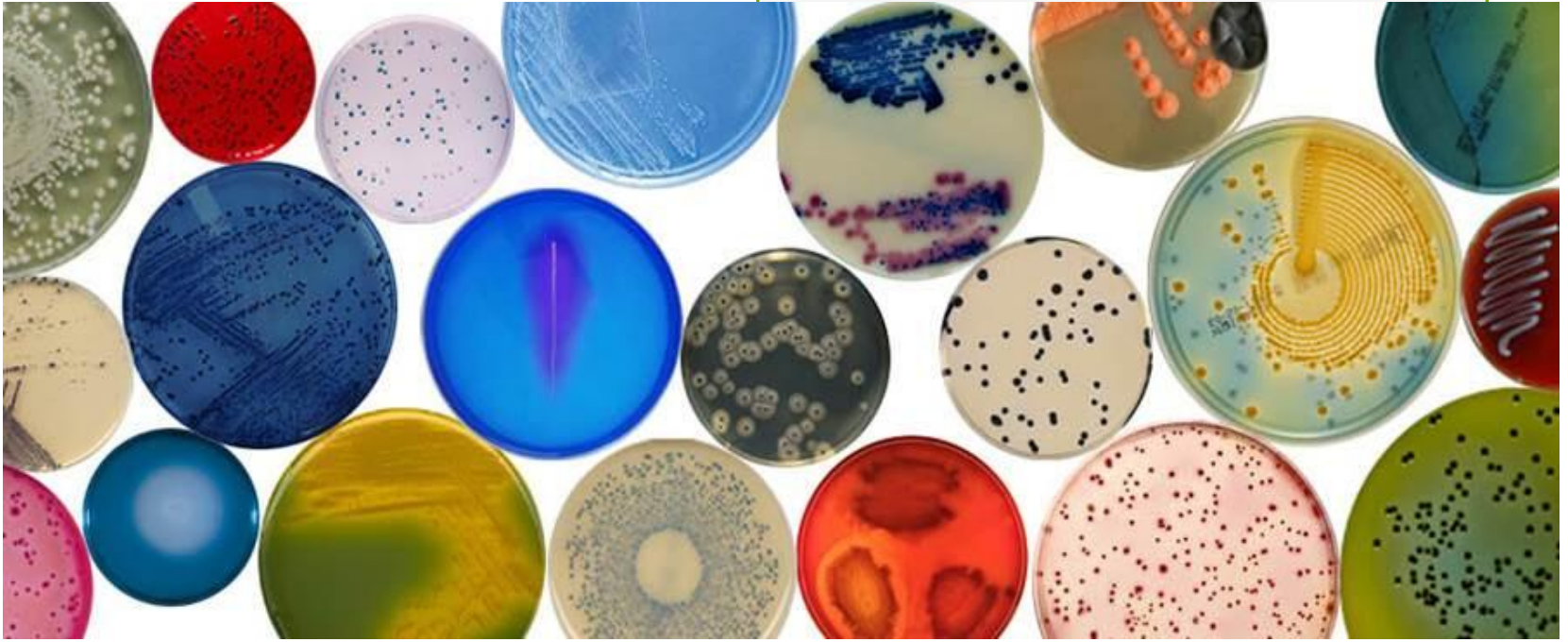


Выделение клеток

- Культуры клеток, взятых непосредственно от объекта (*ex vivo*), называются первичными. Большинство первичных клеток, за исключением опухолевых, имеют ограниченный срок использования. После определенного количества делений клетки такие стареют и прекращают делиться, хотя могут при этом не утратить жизнеспособность.



Питательные среды, компоненты



- ❑ **Многокомпонентные среды:** макро- и микроэлементы, углеводы, витамины, фитогормоны и их синтетические аналоги.
- ❑ **Углеводы 2-3 %.** (большинство каллустных тканей лишено хлорофилла и не способно к автотрофному питанию, их выращивают в условиях рассеянного освещения или в темноте).
- ❑ **Ауксины** - вызывают дедифференцировку клеток экспланта,
- ❑ **Цитокинины** - индуцируют клеточные деления.



TOSHIO MURASHIGE
(BORN 1930)

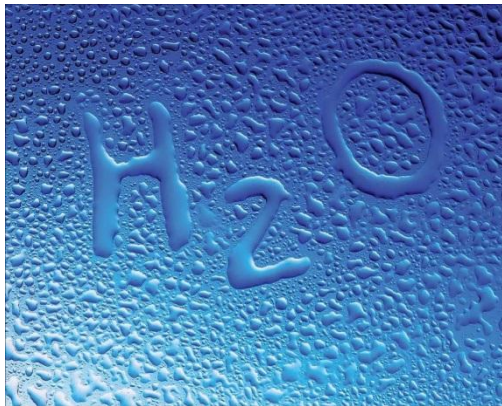


- Среда Мурасиге и Скуга – (универсальна) пригодна для образования каллусов, поддержания неорганизованного каллусного роста, индукции морфогенеза у большинства двудольных растений

Физические факторы влияющие на метаболизм клеток



+



+



Культивирование *in vitro*



- Культуры клеток растений, как правило, выращиваются либо в виде суспензии в жидкой питательной среде, либо в виде каллусной культуры на твердой питательной основе.
- Культивирование недифференцированных клеток и каллуса требует соблюдения определенного баланса гормонов роста растений ауксинов и цитокининов.

Особенности выращивания клеток *in vitro*

- При выращивании клеток, из-за постоянного деления может возникнуть их переизбыток в культуре. В результате чего могут возникнуть следующие проблемы:
- Накопление в питательной среде продуктов выделения, в том числе токсичных.
- Накопление в культуре омертвевших клеток, прекративших жизнедеятельность.
- Скопление большого количества клеток оказывает негативное влияние на клеточный цикл, рост и деление замедляются, а клетки начинают стареть и отмирать.
- По той же причине может начаться и клеточное дифференцирование.



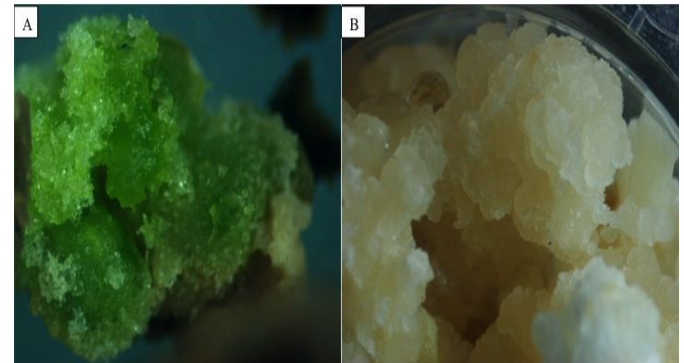
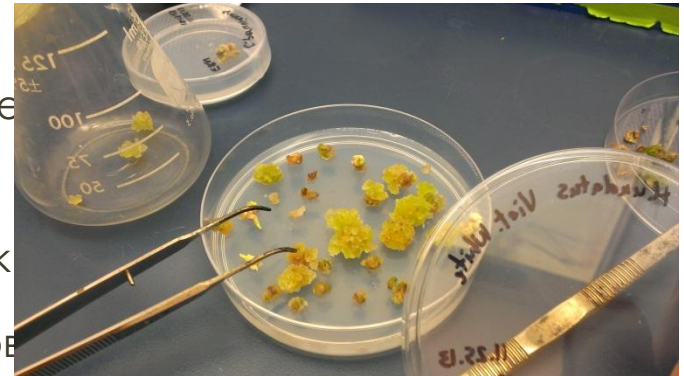


+



Характеристика и особенности каллусных клеток

- Каллусная клетка имеет свой цикл развития, аналогичный циклу других клеток. Особенности физиологические свойственные клеткам растения - морозостойкость, устойчивость к абиотическим факторам (температура, засоление, фотопериодическая реакция), способность к синтезу вторичных метаболитов.
- Особенности характерные для каллусов - длительно культивируемые *in vitro* клетки высших растений (каллусные и суспензионные), образуют специфическую популяцию соматических клеток, характеризующуюся физиологической асинхронностью и генетической гетерогенностью.
- Физиологическая асинхронность (наиболее важное свойство неполовой популяции) - в каждый данный момент времени клетки находятся в разных стадиях роста: одни делятся, другие растут, а третьи уже стареют. (общее физиологическое состояние популяции оценивают по состоянию большинства клеток).



Причины асинхронности:

- 1. Особенности вида, сорта, генотипа индивидуального растения, и особенности экспланта.
- 2. Стрессы культивирования, например неоптимальная для данного вида клеток среда.
- 3. Изменение баланса эндогенных гормонов и концентрации в среде экзогенных гормонов в течение выращивания.
- 4. Генетическая гетерогенность клеток и клонов.
- 5. Аномалия митотического цикла клеток *in vitro*.
- 6. Физические факторы (температура, свет, аэрация).
- Асинхронность – устойчивое свойство популяции каллусных клеток.

Дифференцировка каллусных тканей.

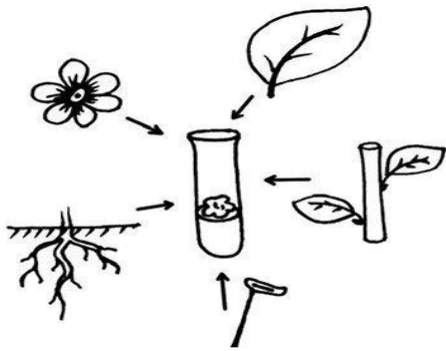


- В результате дифференцировки каллусной клетки могут образоваться:
- дифференцированные клетки - характеризующиеся определенным строением и выполняющие специфические функции
эпипласты – клетки, в которых запасаются вторичные метаболиты
- ткани: млечники, волокна, трихомы, элементы ксилемы и флоэмы
- органы
- из соматических клеток эмбриоидов, биполярные зародышеподобные структуры
- Все типы дифференцировки обусловлены **ТОТИПОТЕНТНОСТЬЮ**

Тотипотентность



- ▣ **Тотипотентность** - это свойство любой растительной клетки сохранять генетическую потенцию к восстановлению целого организма. Тотипотентная клетка растений проходит полный цикл клеточных превращений от специализированной клетки растения через калусную клетку к многообразию форм клеток нового растения.



Сущность метода получения каллусной культуры

- При помещении фрагмента ткани или органа растения на питательную среду соответствующего состава (например с добавлением 2,4 Д) может происходить дедифференциация соматических клеток с образованием каллусной ткани.



а



б



Каллус, образованный в культуре незрелых зародышей ячменя (а, б) и пшеницы (в).

Использование клеточных культур в промышленности.

Продукты биотехнологии промышленным методом из культур клеток получают такие продукты, как **ферменты, синтетические гормоны, моноклональные антитела, интерлейкины, лимфокины, противоопухолевые препараты.** Стоимость выращивания культур клеток млекопитающих является довольно высокой, поэтому в настоящее время проводятся исследования по возможности производства сложных белков в культурах клеток насекомых или высших растений.



Польза и применение

- С применением методики культивирования клеток в настоящее время выпускаются вакцины против полиомиелита, кори, эпидемического паротита, краснухи, ветрянки. Вследствие угрозы пандемии гриппа, вызываемого штаммом вируса H5N1, в настоящий момент правительство Соединенных Штатов финансирует исследования по получению вакцины против птичьего гриппа с использованием клеточных культур



Полезьа и применение

- Сохранение генетического материала. Поддержка биоразнообразия является глобальной задачей всего человечества.
- Получение суспензионных культур и протопластов.
- Использование каллуса для микроразмножения растений.
- Получение вторичных метаболитов



Скажи
Каллусу – ДА!

Спасибо за
внимание!

