

**IN VITRO  
ЖАҒДАЙЫНДАҒЫ  
ӨСІРІЛЕТІН КЛЕТКАЛАРДЫ  
БИОТЕХНОЛОГИЯДА  
ҚОЛДАНУ**

Орындаған: Құдайбергген Айзат

БТ-33

# Жоспар

1.Кіріспе.

2.Негізгі бөлім.

2.1 In vitro ны зерттеу кезеңдері.

2.2 Кілеткаларды In vitro жағдайында өсіру.

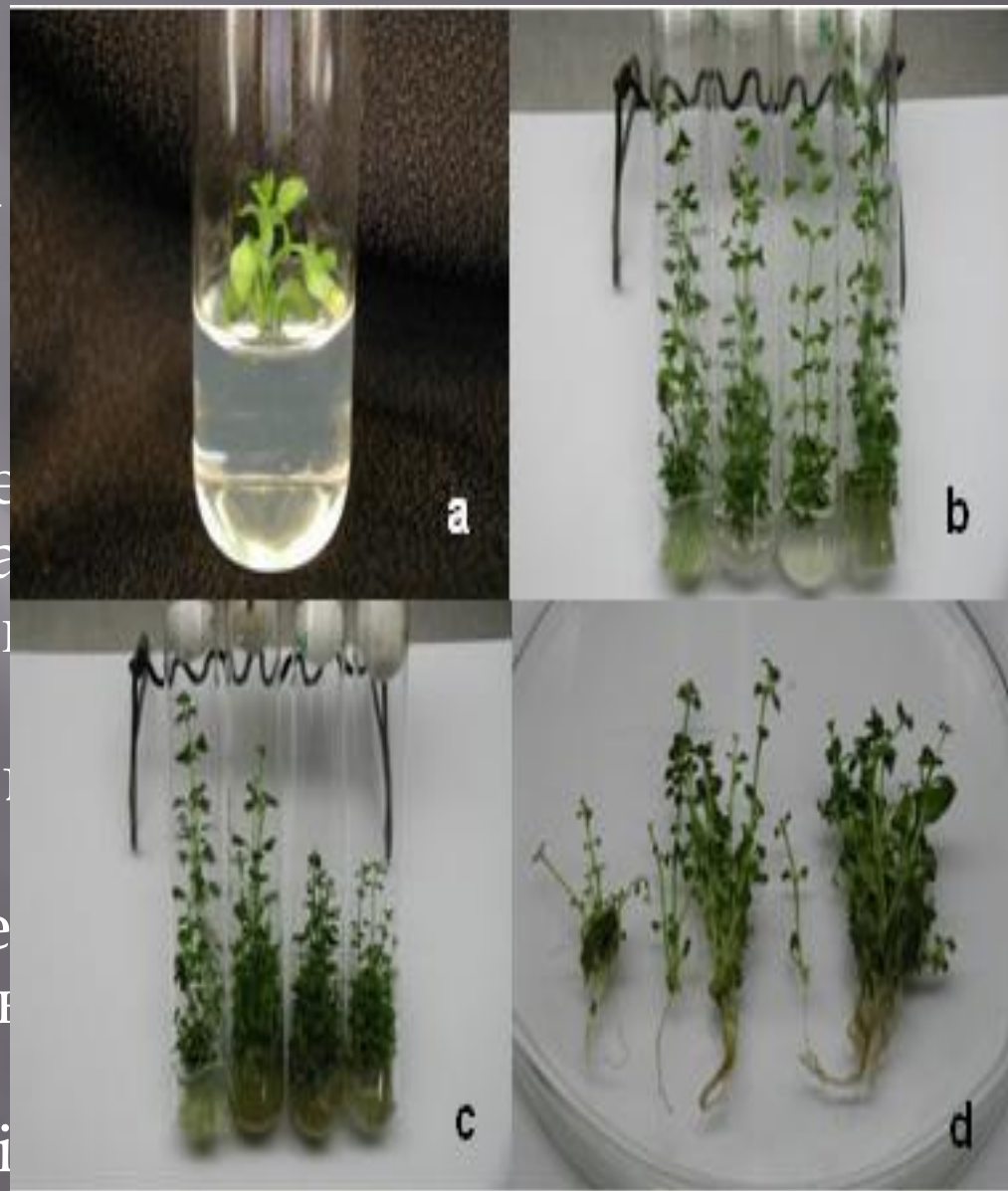
2.3Калусты өсіру.

3.Қорытынды.

3.1.Пайдалынылған әдебиеттер

Клеткаларды *in vitro* жағдайында өсірген кезде олардың өсуі мен биосинтездеріне өсіретін жүйелердің техникалық көрсеткіштерінің маңызы өте зор. Өсімдіктердің қосымша заттарының биотехнология өндірісі көбінесе сұйық ортада өсетін клеткаларға негізделген. Лаборатория жағдайында қосымша метаболизмді зерттеген кезде клеткалар әдеттегідей колбаларда кішігірім көлемде (40-200мл) өсіріледі және айналмалы тербеуішілерде араластырылады. Колбалардың айналу жылдамдығы (әдетінше минутына 90-120 айналым) клеткалардың өсуіне және метаболиттердің жинақталуына әсер етеді. Мысалы, итжидек пен үйеңкі клеткаларының айналу жылдамдығы төмендегенде, олардың өсуі бәсеңдеген. Ал темекі клеткаларының өсуіне айналу жылдамдығы әсер етпеген, тіпті жылдам айналдыру арқасында оларда никотин синтезі арта түскен.

Агар қосылған қатты қоректік ортада өсірген клеткалар сұйық ортада өсірген клеткаларға қарағанда қосымша метаболиттерді көбірек синтездейді. Тәжірибеле көрсеткендей, борпылдақ қарқынды өсетін каллус қарағанда тығыз баяу өсетін каллус клеткалары алкалоидтарды артық жинақтаған, яғни әдетте метаболизм клеткалардың кеңістікте әлдеқандай ұйымдасуын талап етеді.



Қосымша заттарды алу үшін клеткалық технологияларды дайындау жұмысы төмендегідей бірнеше кезеңдерден тұрады:

1. Экономика жағынан тиімді өсімдікті таңдап алу. Өсіруге алынатын өсімдіктерде бағалы, экономика жағынан маңызды қосымша заттары айтарлықтай жоғары мөлшерде болуы қажет. Әсіресе, бұл жағдайдың сирек кездесетін немесе жоғалып бара жатқан өсімдіктерге қатысы бар.
2. *In vitro* жағдайына алғашқы енгізу. Ол үшін қажетті зат жоғары мөлшерде синтезделетін жеке өсімдіктер таңдап алынады. Алдымен алғашқы каллустарды қатты ортада өсіріп алады.
3. Биомассада қосымша заттардың сандық және сапалық құрамына химиялық зерттеу жүргізу. Бөлініп жатқан каллус клеткаларында көбінесе қосымша заттардың мөлшері бүтін өсімдіктер мүшелеріне қарағанда аз болады. Бұл тұтас өсімдікте қосымша заттардың синтезі цитодифференцировканың бақылауында болатындығын дәлелдейді. Кейбір өсімдіктерде қосымша заттардың метаболизмі өсу процесі бәсеңдегенде басталады, сондықтан оларға алдымен қарқынды өсуге, ал кейін заттардың биосинтезіне лайықты жағдай жасалады.



4. Үйлесімді қоректік орта мен өсіру жағдайларын іріктеу. Қосымша метаболизмді белгілейтін генетикалық информация жүзеге асу үшін ерекше жағдайлар керек. Клеткаларды сұйық ортаға көшіріп өсірген кезде, бұл жұмыс одан әрі қиындайды, себебі суспензияны өсіргенде аэрация мен араластыру факторларының әсерін де еске алу қажет.

5. Клеткалардың өнімді штаммдарын шығару. Барлық клеткаларда қосымша заттарды жоғары мөлшерде шығару өте қиын мақсат. Өйткені, клеткалар ұзақ уақыт өсіргенде бағалы затты синтездеу қабілетінен айырылады. Клеткалардың түріне тән ерекше заттарды синтездеу қабілетін жоғары деңгейде сақтау үшін әжептәуір күш жұмсау керек.

6. Ең жақсы өнімді штаммдарды алдымен суспензияда өсіру. Қатты ортада алғашқы шыққан каллустар сұйық ортаға көшіріледі. Өсіру тәртібі өзгергенде штамм өзінің сапасын жоғалтпауы керек, яғни ол стресс жағдайларына төзімді болу керек. Ерекше қиын кезең – клеткаларды лабораториялық тәжірибедегі кішкене колбалардан үлкен ферментерлерге көшіру.

7. Өнімді және тұрақты штаммдарды өндіріс жағдайына жақын, көлемдері жүйелі кеңейтілетін ферментерлерде өсіру. Егер клеткалар осындай жартылай өндіріс жағдайында өсу қарқындылығын сақтап және қажетті заттың синтезін, жинақталуын және оның ортаға бөлініп шығуын өзгертпесе, бұндай штаммды ірі масштабтық өндірісте пайдалануға болады.

8. Клеткалық биомассаны алу және оны бағалаудың техникалық регламентін (іс тәртібін) жасау. Өндірістік технология тиісті аппаратураны талап етеді.

Қазіргі уақытта кей елдерде 100-ге жуық өсімдік түрлері маңызды қосымша заттарды алу үшін биосинтездік өндірісте қолданылады. Олардың ішінде: жень-шень, жылан раувольфиясы, жүн және қызғылт оймақгүлдері, дельта тәрізді диоскорея, торғайшөп, итжидек, бөліктенген алқа, кәдімгі сасықмендуана, май меруертгүлі, үпілмәлік, агава, тіс амми, апиын көкнәр, т.б.

Жалпы жасанды қоректік ортада өсірілген клеткаларда генетикалық информация сақталады, бірақ оның жүзеге асуы үшін ерекше жағдайлар қажет. Шамамен, жоғары өнімді өсімдіктер мен ұлпалардан бөлініп алынған клеткаларда сол метаболиттердің биосинтезіне қажет генетикалық информациясы болады.

Ал болашақта өнімді штаммдарды шығарудың ең тиімді жолы, ол клеткалық және гендік инженерия әдістерін пайдаланып жаңадан өте өнімді қажетті клеткаларды құрастыру болып табылады.





Биотехнологияның негізгі мақсаты - мәдени өсімдіктердің жаңа сорттарын шығаруға қажет селекциялық материалды аз уақыт ішінде алу үшін өсімдік жасушаларын өсіру.

Сімдік клеткаларын қолдан өсіру дегеніміз өсімдіктің жеке жасушаларын, ұлпаларын, мүшелерін асептикалық жағдайда жасанды қоректік ортада өсіру.

Өсімдік ұлпасының стерилденген кішкене бөлшегін Петри чашкасының немесе пробиканың ішіне агаризонды қоректік ортаға орналастырады. Содан кейін ұпада жасушалар белсенді түрде бөліне бастайды. Жасушалық түзілім тез өсіп каллус түзеді. Каллус дегеніміз дифференцияланбаған жасушалардың жинақталып ерекше ұлпа түзуі. «Өсімдік жасушасын қолдан өсіру» термині ауқымды және ыңғайлы ұғымға айналды, ол бөлініп алынған жасушаны, ұлпаны, мүшелерді, ұрықты және тұтас өсімдік-регенерантты қолдан өсіретін *in vitro*-ның барлық жұмыстарын қамтиды. *In vitro* термині (лат.- шыныда, әйнекте) стерильді жасанды қоршаған ортада өтетін процестердің жағдайларын сипаттау үшін қолданылады. *In vivo* (лат. – тіршілікте) организмнің тіршілік процестерінің табиғи стерильді емес ортада өтуі. Өсімдік-регенерант дегеніміз асептикалық түрде алынған, тамыры мен өркені мәдени ортада қалыптасқан өсімдік, демек *in vitro*.

Теориялық түрде кез келген өсімдік жасушасы өзін бөліп алған организмге дейін дамуға потенциалды түрде қабілетті және ол белгілі бір жағдайларда қолдан өсірілген. Бұл қасиет тотипатенттілік деп аталады. Тотипатенттілік (лат. totus – барлық, тұтас, potential – күш) – тұтас организмге дейін дамуын қамтамасыз ететін өзіне тән генетикалық ақпаратты сақтап, үйлестіретін жасушаның қасиеті. Әдетте, әмбебап тотипатенттілік қасиетке өсімдіктің және жануардың ұрықтанған жұмыртқа жасушасы ие. Ал сомалық жасушалардан тотипатенттілік қасиетке тек қана өсімдік жасушалары ғана ие, әрі ол *in vitro* жағдайында ғана. Қолдан өсірілетін жануарлар жасушасы тотипатенттілік қасиеттен айырылған.

XIX-XX ғасырларда алғаш рет неміс ғалымдары өсімдіктің бөлініп алынған бөліктері мен мүшелерін өсіре бастады. 1883 жылы К. Рехингер бүршіктерді, тамыр мен сабақтың телімдерін ылғалды құмда өсіруге тырысқан. Ол кейбір тәжірибелерінен қаллустың түзілгенін байқаған, алайда қорекпен қамтамасыз етілмегендіктен және стерильді жағдайлар сақталмағандықтан ұзақ өсетін өсімдіктерді ала алмаған. Мұндай тәжірибелерді Х.Фехтингте жүргізген.



1902 жылы Г.Габерланд жасушаларды қолдан өсіру принциптерін алғаш рет нақты қалыптастырды. Ол бірқатар жабық тұқымды өсімдіктердің жапырағынан бөліп алынған паренхима жасушаларымен тәжірибе істеді және қоректік орта ретінде сахароза, аспарагин, пептол қосылған Кноп ерітіндісін қолданды. Г. Габерланд өсімдіктің кез келген тірі жасушасы тотипатенттілік қасиетке ие деген гипотезаны алға тартты және жалғыз бір жасушадан ұлпа өсіруге тырысты.

Сонымен қатар өсімдік жасушаларын организмнен тыс өсіру жануар объектілерімен айналысушы ғалымдарды да қызықтыра бастады. Алғаш рет жануардың бөлініп алынған жасушасын өсіру мүмкін екендігі дәлелденді. 1904-1907 жж Р.Харрисон бақаның нейробластын лимфа сұйықтығында өсірді. Осыдан кейін жануарлардың жасушасын қолдан өсіру әдістері жасала бастады, қоректік орта ретінде лимфа, қан плазмасы, ұрық сұйықтығы пайдаланылды. Организмде жануарлар жасушасы қанмен және лимфамен қоректенеді, сондықтан оларды осындай қоректік ортада өсіру табиғиға ұқсас болып келеді.



Өсімдіктердің жасушаларын, ұлпаларын және мүшелерін қолдан өсіру сәтті шығу үшін жасанды ортаның құрамының жақсы болуымен қатар әртүрлі қолайлы жағдайлар жасалуы қажет. Осы айтылған сөзге жасушаны қолдан өсіру сәтті болуы үшін үнемі температура шамамен  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  болуы қажет деп жалпылай қабылданған шешім дәлел болады. Алайда мұндай дәстүрлі тәсіл ақпараттың аздығынан қолданылған болатын. Өйткені темекінің каллусының өсуіне  $32^\circ\text{C}$ , кәдімгі гармалаға  $30^\circ\text{C}$ , ипомеяға  $30-32^\circ\text{C}$  қажет.

Температура өсімдікте жүретін метаболизм процестерінің бәріне әсер етеді. Температураны эксперименттің мақсатына байланысты әрбір объектіге жекелей лайықтыланып қойылуы керек. Бірақ мұндай тәжірибелерді жүргізу үлкен еңбек пен ұзақ уақытты талап етеді, сондықтан ғалымдар жасушаларды шамамен  $25^\circ\text{C}$  температурада өсіре береді.

Жасушаларды қолдан өсіруге әсер етуші сыртқы факторлардың бірі – жарық. Қазіргі уақытқа дейін фотоавтотрофтылық тек 16 өсімдіктің түріне ғана тән екені сипатталып жазылған. Қалғандары фотоавтотрофтылық өсуге қабілетсіз, оларды қараңғыда немесе әлсіз түскен жарықта өсіреді. Хлорофилдерінен айырылған ұлпаларға жарықтың әсер етуі фитохромды жүйемен қамтамасыз етілген. Екіншілік қосылыстарды алу үшін қолдан өсірілетін жасушаны қолданатын эксперименттерде жарық пен фотопериодтың белсенділігі мен сапасының әсері нақты тағайындалған. Жасуша технологиясында жасушаларды жарықпен қамтамасыз ету басты міндеттердің бірі.



