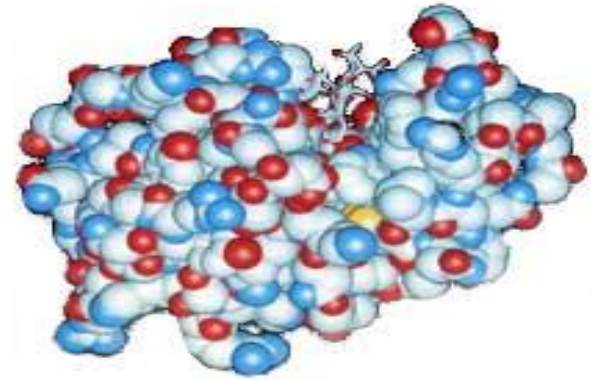


# Тақырып: Клеткаларды иммобилизациялау.



## Жоспар:

- Клеткаларды иммобилизациялау әдістері,
- Иммобильденеген клеткалардың практикада қолданылуы, маңызы

## Клеткаларды иммобилизациялау

- Өсімдіктерде синтезделетін екінші реттік метаболиттерді бөліп алу мақсатында суспензиялық клеткалар культураларын қолдануға қарағанда иммобильденген клеткаларды қолдану тиімділігі анағұрлым жоғары болады.

### • **Клеткаларды иммобилизациялау технологиясының**

#### ☐ **артықшылығы:**

- ✓ ферменттерді бөліп алу және тазартуға кететін шығын болмайды;
- ✓ реакция өнімдерін алу және тазартуға кететін шығын төмендейді;
- ✓ ырықтығы мен тұрақтығы жоғары;
- ✓ үздіксіз және жартылай үздіксіз автоматтандырылған процестерді жасау;
- ✓ экзогенді кофакторларсыз полиферменттік жүйелердің ұзақ жұмыс жасау қабілетіне ие болуы.

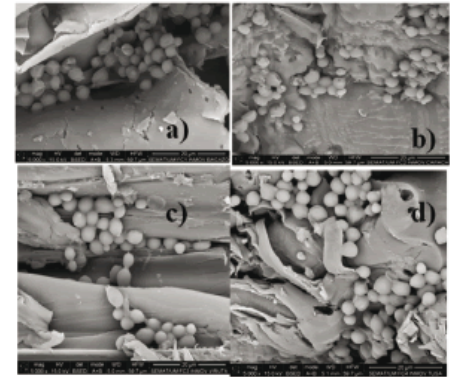
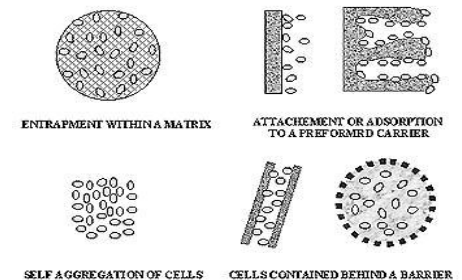
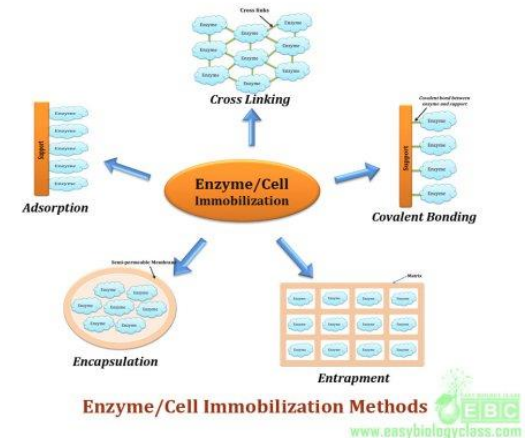
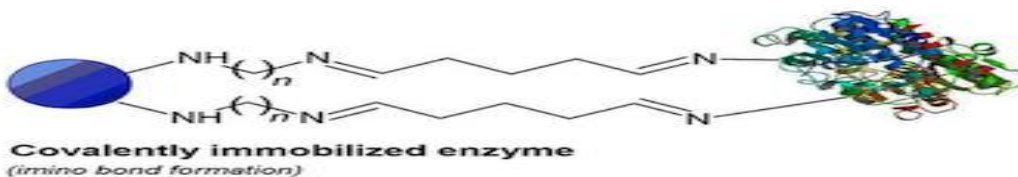
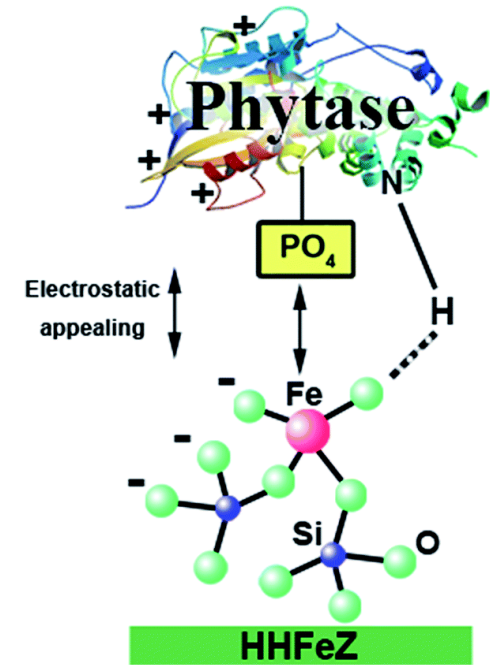


Figure 8. Scanning electron microscopic (SEM) of the four immobilized carriers: a) bagasse, b) corn leaves, c) wood shavings, and d) corn cobs



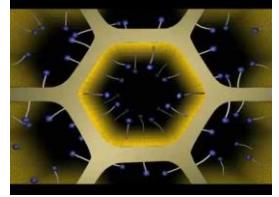
## ➤ Химиялық әдіс

- клетка қабығындағы активті топтар мен матрицаның бифункционалды реагенттерімен (мысалы, глутар альдегидімен) арасындағы *ковалентті байланыстар* арқылы байланысады.



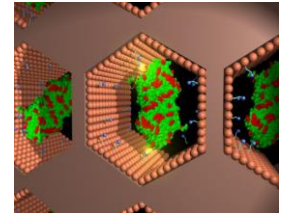
➤ **Физикалық әдістер** - адсорбция және агрегация.

- Гельдер, мембраналар және талшықтарға клеткалардың иммобилизациялау.



- Осындай жолмен бекітілген клеткалар тіршілікке қабілетті болады, қоректік ортада гелдің үстіңгі қабатында көбеюге қабілетті болады.

- Имммобилденген клеткалардың биокатализдік ырықтығы ғылым мен техника салаларында қолданылады:



- ✓ аминқышқылдар, органикалық қышқылдар, антибиотиктер, стероидтар, көмірсулар, көмірсутектер, нуклеотидтер мен нуклеозидтердің биосинтезі мен трансформациясында қолданылады;

- ✓ сыра және шарап өндірісінде;
- ✓ табиғи және ағын суларды тазартуда;
- ✓ ағын сулардан металдарды алуда;
- ✓ күн энергиясының ассимиляциясында;
- ✓ сутекті күн элементтерін жасауда;
- ✓ азотфиксацияда;
- ✓ электродтарды дайындауда анализдік мақсаттарда.

## Имобильденгене клеткаларды қолданудың артықшылықтары:

- 1) Клеткалар (алу қиын әрі қымбатқа түсетін) биомассасын бірнеше рет қолдану мүмкіндігі;
  - 2) Қоректік ортадан клеткаларды, сондай-ақ, екінші реттік метаболиттерді бөліп алу мүмкіндігі;
  - 3) Қымбат ферментерлерді тиімді қолдану, көлемі кіші құтыларда үлкен көлемде клеткалар биомассаларын өсіру мүмкіндігі;
- 1) Клеткларады үздіксіз өсіру мүмкіндігі

## Өсімдіктердің иммобилденген клеткалар жүйелерін алу кезеңдері

1. Клетка культураларының (өнімділігі жоғары, ал өсу белсенділігі төмен) линияларын өсіріп алу;
2. Клеткалардың өміршеңдігі мен өнімділігін жоғарылататын және осы қасиеттерін тұрақты ұстап тұратын лайықты клеткаларды иммобилиздеу әдісін және өсіру жүйесін (белгілі бір геометриялық формадағы құты) таңдау.
3. Клеткалар синтездейтін өнімдердің қоректік ортаға босап шығуын, сондай-ақ клеткалардың өміршеңдігінің сақталып қалуын жүзеге асыру.
4. Иммобильденген клеткалардың қасиеттерінің тұрақты сақталуына тиімді өсіруге арналған құтылардың жобаларын жасау.

## Клеткаларды өндірісте иммобилиздегенде ескеретін жағдайлар

1. Өсіру жүйесі өндірушілер мен тұтынушыларға зиянын тигізбеу керек;
2. Өсіру жүйесі залалсыздандырылған ортада ұзақ уақыт өсіруге болатын және өсіру әдісі қарапайым болуы керек;
3. Өсіру жүйесі клеткалардың өміршеңдігінің сақталуына лайық, жұмсақ болуы қажет;
4. Өсіру жүйесі тұрақты әрі жұмыста сенімді болуы тиіс;
5. Жүйе жоғары өнімді және спецификалық болуы қажет;
6. Жүйе жұмсақ болуы қажет.



## Өсімдіктер клеткаларын иммобилиздеу әдістері

- 1) альгинат кальций, калий каррагинин немесе агарозалық көпіршіктермен қаптау;
- 2) нейлон, полиуретан, металлдан алдын ала дайындалған үш сатылы тор құрылымға бекіту;

Бұл материалмен клеткаларды араластырғанда клеткалар тордың қуыстарына еніп, сол арада өсіп, көлемдері ұлғайғаннан кейін торда тұрақтанып қалады.

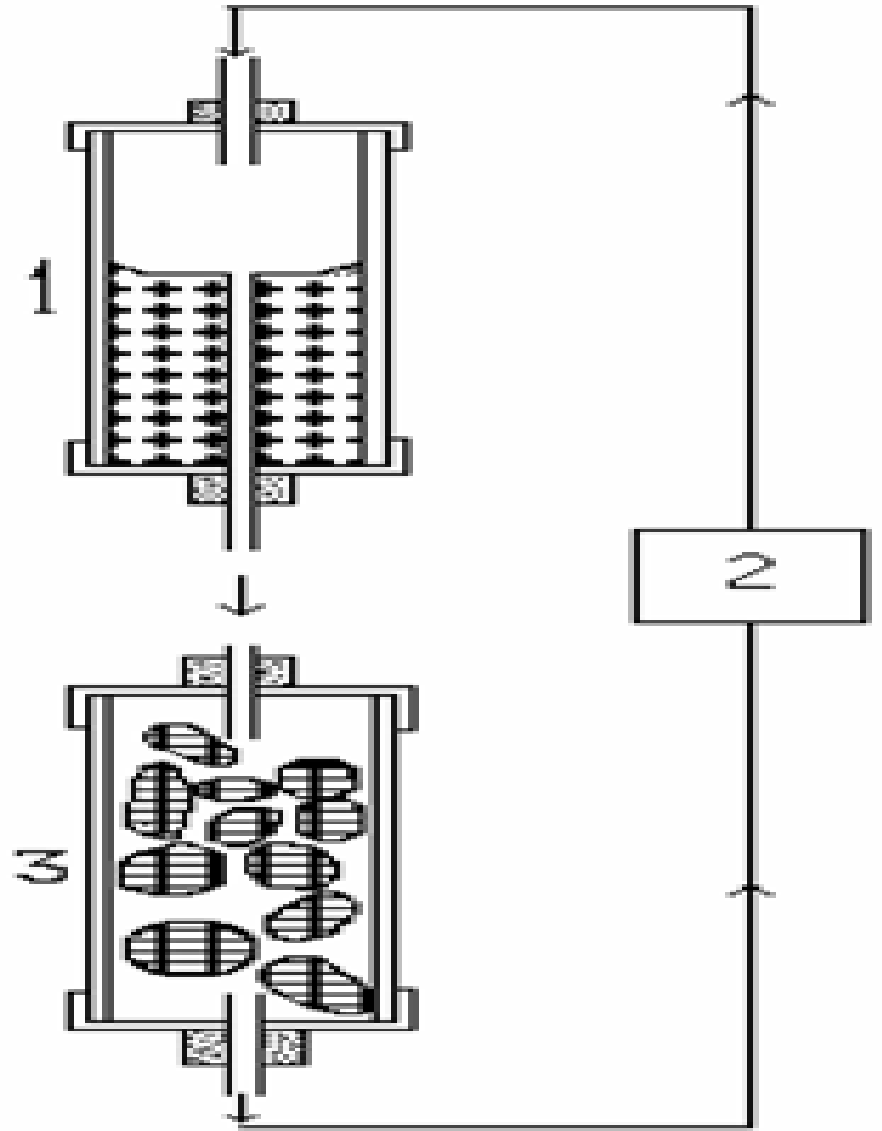
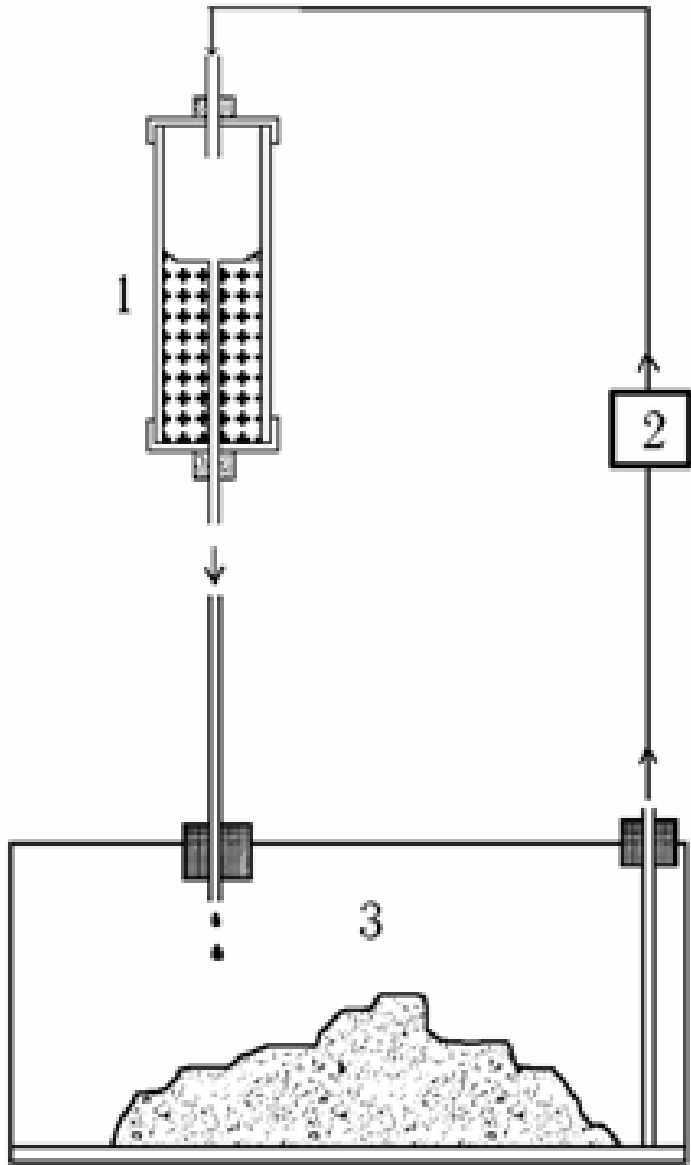
Бұл әдістер өте қарапайым, арзан және жұмсақ болып табылады.

# Өсімдік клеткаларын иммобилиздеу әдістері

|  |  |                     |                              |
|--|--|---------------------|------------------------------|
| 1. <u>Гельден жасалған көпіршіктер</u> |  |                     |                              |
| а) агар                                | 2-3 % суытылған агар (60-20 °C)  | Catharanthus rouses | Клеткалардың өсіп-дамуы      |
| б) агароза                             | 2-3 % суытылған агароза (40-20 °C)                                     | Catharanthus rouses | Аймалициннің синтезі de novo |
| в )желатин                             | 10 % желатин, глутаральдегидпен көлденең тігу                          | Catharanthus rouses | Клеткалардың өсіп-дамуы      |
| г) каррагинин                          | 1-2 % каррагинин, иондық байланыс арқылы тігу (300 мМ K <sup>+</sup> ) | Catharanthus rouses | Клеткалардың өсіп-дамуы      |

|                  |  |  |   |
|------------------|--|--|---|
| д) альгинат      | 1-2 % натрий альгинаты, иондық байланыс арқылы тігу (100 мМ Ca <sup>2+</sup> ) | Catharanthus rouses,<br><br>Daucus carota,<br><br>Nicotina tabacum<br><br>Papaver somniferum | Алкалоид синтезі<br><br>Стероидтардың биотрансформациясы<br><br>Никотин синтезі<br><br>Морфинді алколоидтардың биотрансформациясы |
| е) полиакриламид | 15% бисакриламид, тотығу-тотықсыздану полимеризация                            | Catharanthus rouses  | Клеткалардың өсуі мен дамуы   |

|   |  |  |  |
|---|--|--|--|
| <p>2. <u>Ерімейтін материалдар</u><br/>а) нейлон торы</p> | <p>Әр түрлі геометриялық пішінді торлар матриксінде өсіру</p>                  | <p>Beta vulgaris<br/><br/>Humulus lupulus</p>      | <p>Бетационин синтезі<br/><br/>Клеткалардың өсуі</p>           |
| <p>б) пенополиуретан</p>                                  | <p>Әр түрлі геометриялық пішінді торлар матриксінде өсіру</p>                  | <p>Capsicum frutescens<br/><br/>Daucus carota</p>  | <p>капсаицин синтезі<br/><br/>Клеткалардың өсуі</p>            |
| <p>в) қуыс жіпшелер</p>                                   | <p>Жартылай өткізгіш мембраналардан өткізу</p>                                 | <p>Glycine max<br/><br/>Daucus carota</p>          | <p>Фенолды қосылыстардың синтезі</p>                           |
| <p>г) полифенилен оксиді</p>                              | <p>Глутаральдегидпен ырықтандырылған бөлшектерде көлденең тігістерді жасау</p> | <p>Nicotina tabacum<br/><br/>Solanum aviculare</p> | <p>Клеткалардың өсіп-дамуы<br/>Гликоалкалоидтардың синтезі</p> |

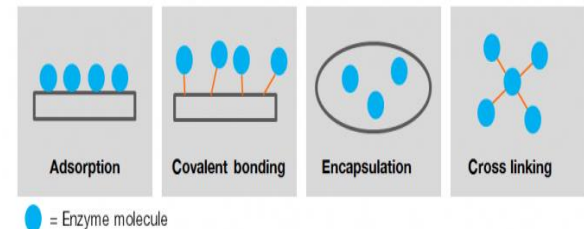
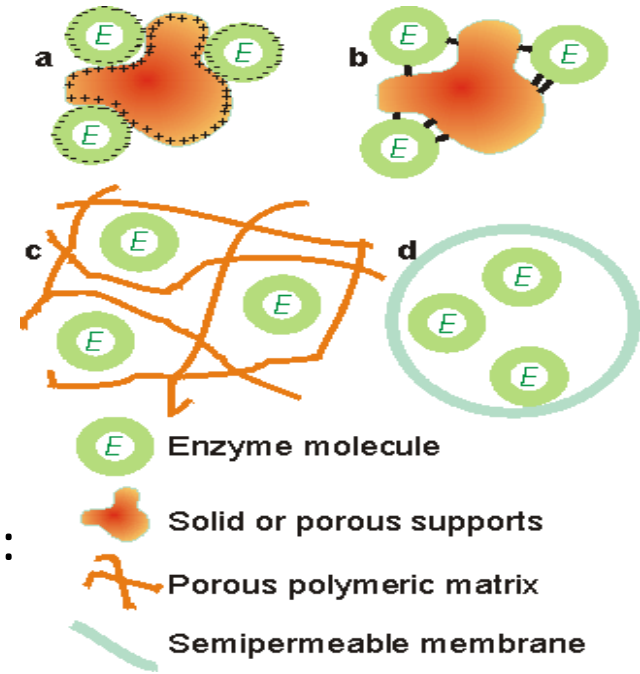


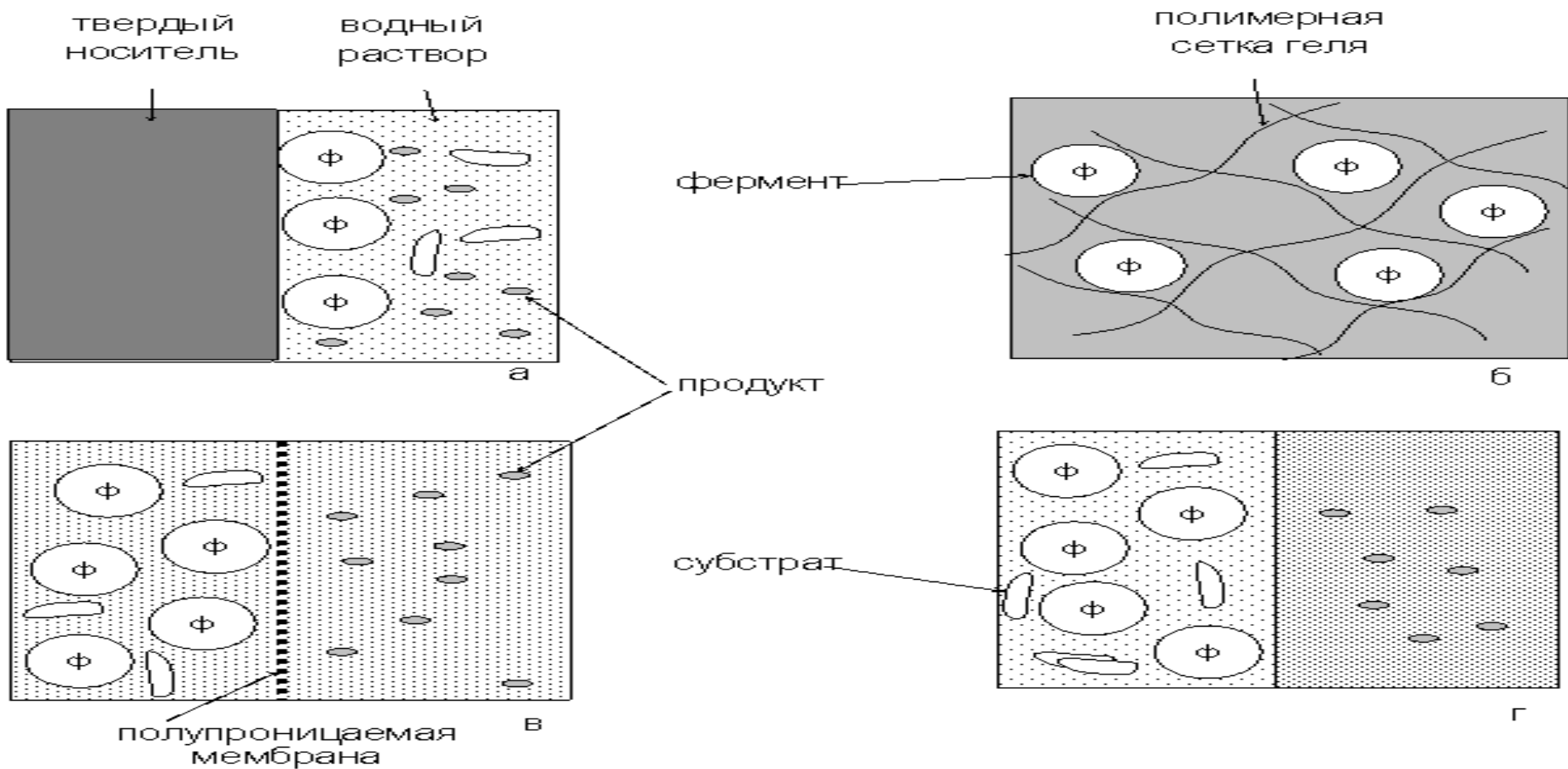
- **Ферменттерді иммобилиздеу әдістері:**

- Физикалық және химиялық
- Ферменттерді физикалық жолмен иммобилизациялау - ферменттер ортадағы органикалық заттармен ғана байланыса алатын жағдайда орындалады.
- Фермент тасымалдағышпен ковалентті байланыспайды.

- Ферменттеді байланыстырудың төрт түрі бар:

- 1) ерімейтін тасымалдағыштарға адсорбциялау;
- 2) гель саңылауларына бекіту;
- 3) ферменттерді реакциялық ортадан жартылай өткізгіш (мембрана) жүйе арқылы бөлу;
- 4) екі фазалық ортаға қосу, бұл ортада фермент еритін фаза құрамында болады.





Ферменттерді иммобилизациялау әдістері: а – ерімейтін тасымалдағыштарда адсорбциялау, б – гель саңылауларына бекіту, в – ферменттерді жартылай өткізгіш мембрана арқылы бөлу, г – екі фазалық реакциялық орта қолдану.