

- **Тақырып:** Өсімдіктердің клеткалары мен ұлпа культураларын өсіру технологиясы.

Жоспар:

- Каллустық культуралардың морфологиялық және физиологиялық сипаттамалары.
- Суспензиялық культуралар.
- Клеткалардың пролифферациясы, дифференциациясы және дедифференциациясы.

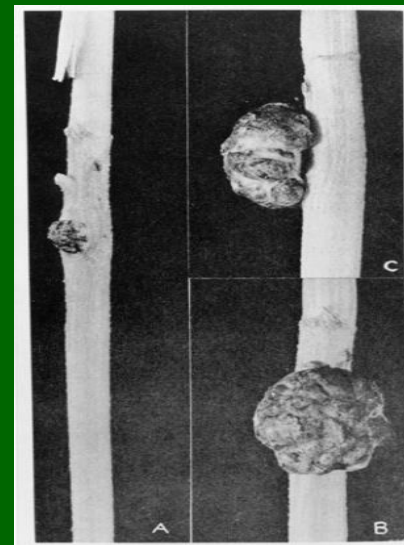
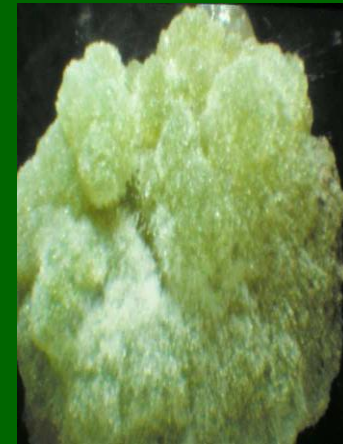
Каллусты алу және оны өсіру

Клеткалардың ретсіз бөлінуі нәтижесінде пайда болған ұлпаны каллус деп атайды.

Клеткалардың бөлінуі арқылы көбейіп өсуін пролиферация деп атайды.

Каллус ұлпасы жарақаттанған ауданды түрлі инфекциядан қорғайды, кей жағдайларда қоректік заттарды жинап анатомиялық құрылымдардың немесе жойылған мүшенің регенерациясын тудырады.

In vitro жағдайында каллус өсімдіктен оқшауланып алынған ұлпалар мен мүшелерде (экспланттарда) қалыптасады. Жасанды ортада каллустың пайда болуы мен өсуі ауксиндер мен цитокининдердің әсерінен жүзеге асады.



- **Дифференциация** – даму процесінде біртекті клеткалардан морфологиялық белгілері және атқаратын қызметі әр түрлі клеткалар түзілуі (клеткалардың мамандануы);
- **Дедифференциация** – маманданған, бөліну қабілетінен айырылған клеткалардың жаңадан пролифферацияға (бөлінуге

Каллус ұлпасына сипаттама

- ✓ **түсі;**
- ✓ **тығыздығы;**
- ✓ **ылғалдылығы;**
- ✓ **борпылдақтығы;**
- ✓ **жылтырлығы;**
- ✓ **түйіршіктілігі;**
- ✓ **каллус бетінде басқа да ұлпалардың (ақ, сұр, жылтыр қырау тәрізді үлпек**

Каллустың түзілуі:

- **Экспланттың қоректік ортаға жанасқан бетінде;**
- **Жарақаттанған жерінде;**
- **Сабақ кесіндісінің базалды немесе апикальді бөлігінде пайда болады;**
- **Сабақтың өне бөйында пайда болады.**

Каллустардың түрлері:

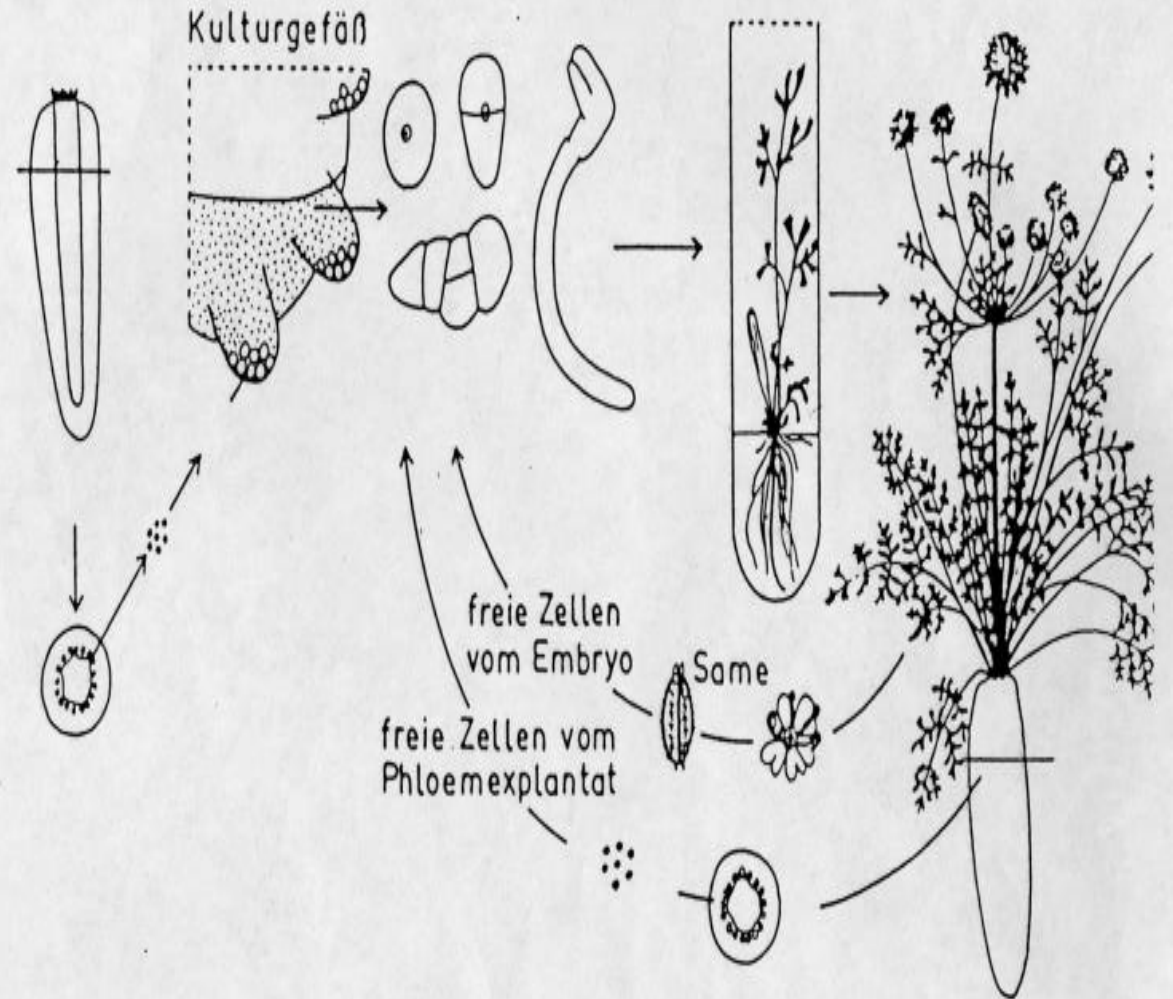
- **Морфогенді;**
- **Морфогенді емес,**
- **Эмбриогенді;**
- **Гистогенді**

Каллус ұлпасының түзілуі мен пайда болған каллустың табиғаты:

- ✓ **экспланттың тегінен,**
- ✓ **экспланттың жас ерекшелігінен,**
- ✓ **қоректік ортаның құрамынан, фитогормондардың табиғаты мен концентрациясынан,**
- ✓ **өсіру жағдайынан тәуелді.**

Beweisführung für die Omnipotenz spezialisierter Zellen

Abb. 482. Der im Text näher geschilderte Weg vom Phloemexplantat aus einer Rübe von *Daucus carota* führt über freie Einzelzellen und daraus entstehende Embryoide zu einer in jeder Hinsicht normalen Karottenpflanze. Man kann die Einzelzellen auch aus Embryonen (jungen Sporophyten) herstellen. (Nach STEWARD et al., 1964)



- **Суспензиялық культураларды өсіру әдістері**
- Сұйық қоректік ортада өсірілген клеткаларды немесе олардың агрегаттарын **клеткалар суспензиясы** деп атайды. Тереңдетіп өсіру тәсілімен сұйық ортадағы клеткалардың батпай, қалқып және жүзген күйде тіршілігін қамтамасыз ету арнайы аппараттармен ортаны үздіксіз араластыру арқылы жүзеге асырылады. Аэрация ортаны үздіксіз айналдыру, шайқау немесе стерильді ауаны үрлеу арқылы орындалады.
- Суспензиялық культуралардың агарлы ортада өсірілген каллустық ұлпалардан артықшылықтары:
 - - суспензияда өсірілетін клеткалардың барлығы бірдей дәрежеде сырттан әсер
 - етуге қолжетімді болғандықтан, клеткалық популяциялардың метаболизмі мен өсу процестеріне экзогенді фактогормондардың тигізетін әсерін зерттеге мүмкіндігі зор болады;
 - - субкультивирлеу процесінің қарапайымдылығы клеткаларды ұзақ өсіруге мүмкіндік береді;
 - - биохимиялық, молекулалық және биологиялық зерттеулер жүргізуге ыңғайлы, сондай-ақ, өсімдіктердің регенерациясы жылдам жүреді;
 - - биологиялық белсенді заттарды алу мақсатында биомассаны шексіз өсіріп алу мүмкіндігі.

Клеткалар суспензиясын алу:

- борпылдақ, шашыраңқы (ЭК) қолдану - негізгі жолы;**
- экспланттарды (тозаңқаптарды) сұйық ортаға салып өсіру - ұзақ әрі тиімсіз;**
- каллустан жеке клеткаларды ферменттік мацерациямен бөліп алу – клеткалар зақымданып, өміршеңдігі қысқарады.**

Суспензияны өсіру ережелері

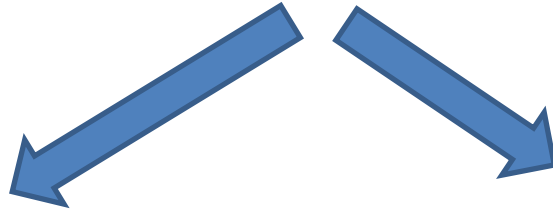
- Қоректік ортаға 2,4 Д қосу (ауксиндер клеткалардың диссоциациялануына әсер етеді);
- Цитокинин мөлшерін азайту немесе мүлдем қоспау (клеткалардың диссоциациялануын тежейді);

- Қоректік ортада кальций ионы болмауы шарт (кальций пектинатының түзілуіне әсер етеді). Кальций пектинаты - клеткаларды өзара байланыстырып тұратын негізгі зат. Одан тазарту үшін қаллусты пектиназа ферментімен өңдейді.
- Клетка қабығындағы целлюлозаны ыдырататын ферменттерді (целлюлаза немесе мацерозим) осмотикпен қосып суспензия клеткаларын өндегенде олардың диссоциациялануы артады.

- **Жақсы суспензияда морфологиялық жағынан біркелкі, шағын көлемді клеткалар ұсақ агрегаттарға бірігіп топтасады (шамамен 10 клеткаларға).**
- **Қарқынды өсуді қамтамасыз ету үшін суспензияда клеткалардың тығыздығы – бір миллилитр ортада 10^5 - 10^6 клетка болу қажет.**
- **Жаңа қоректік ортаға көшірілетін суспензияны инокулюм деп атайды.**

Суспензиядағы клеткаларды өсіру әдістері

Мерзімді өсіру



Үзіліссіз өсіру

Мерзімді өсіру (қорландырып өсіру) – суспензиядағы

клеткаларды өсіру процесі белгілі бір уақыт ішінде жүргізіледі және бұл кезде бастапқы құйылған қоректік

орта жаңартылмай, өз нәрі сарқылғанша пайдаланылады.

Өсіру циклі – инокулюмды қоректік ортаға

қосқаннан бастап, келесі жаңа ортаға ауыстырғанға дейінгі мерзім.

Биореакторларда суспензияны араластыру:

✓ механикалық (механикалық немесе магниттік былғаушылар);

✓ пневматикалық:

барботаждық - биореакторларда көтерілген ауа көпіршіктері әрекет етеді;

аэролифтік - биореакторларда арнайы конструкция (ішкі цилиндр) болады соның арқасында суспензияда тығыздық градиенті пайда болып, клеткалар араласады.

Суспензиядағы клеткаларды өсіру принциптері:

➤ **Хемостат ережесі** – үздіксіз өсіру процесі өсуді тежейтін белгілі бір факторлардың (тимидин, 5-аминоурацил, оксимочевина) әсерімен өтеді.

➤ **Турбидостат ережесі** – клеткаларды үздіксіз өсіргенде олардың өсу қарқынын бір деңгейде ұстау, олардың суспензияда **оптикалық тығыздығының реттелуі** арқылы жүзеге асырылады.