

KV Іb 3303 «Иммунобиотехнология»

Зертханалық жұмыс № 3

**Тақырып: Өсімдіктердің генетикалық
трансформациясын жүргізу**

Сабақтың мақсаты:

Білім алушыларға өсімдіктердің генетикалық трансформациясы әдістерін және олардың биотехнологиядағы маңызын түсіндіру. Өсімдіктерге мақсатты гендерді енгізу және олардың экспрессиясын бақылау дағдыларын дамыту. Генетикалық түрлендірілген өсімдіктерді алу әдістерімен таныстыру.

Сабақтың міндеттері:**Теориялық:**

- Генетикалық трансформацияның биологиялық және техникалық негіздерін түсіндіру.
- Трансформация үшін қолданылатын векторлық жүйелерді (плазмидалар, вирустар) сипаттау.
- Өсімдік трансформациясында *Agrobacterium tumefaciens* қолданудың механизмін талдау.

Практикалық:

- Өсімдік жасушаларына немесе ұлпаларына ДНҚ енгізу әдістерін көрсету (*Agrobacterium* арқылы немесе биобаллистика).
- Трансформацияланған өсімдік ұлпаларын селекциялау және нәтижелерді талдау.

Аналитикалық:

- Генетикалық трансформация тиімділігін анықтау әдістерін игеру.
- Трансформация нәтижесінде алынған өсімдік жасушаларының функционалдығын бағалау.

Зертханалық жұмысты орындау барысы:**Қажетті материалдар мен жабдықтар:**

Химиялық реагенттер: трансформацияға арналған орта (MS қоректік орта), антибиотиктер (селективті маркерлер үшін), ДНҚ векторлары.

Стерильді жабдықтар: ламинарлы бокс, спирт (70%), автоклав.

Биологиялық материалдар: трансформацияланатын өсімдік ұлпалары (жапырақ, каллус, эмбрионидтар), *Agrobacterium tumefaciens* штамдары.

Лабораториялық ыдыстар: Петри табақшалары, пробиркалар, колбалар.

Құралдар: микропипеткалар, биобаллистикалық құрылғы (опция ретінде), пинцет, скальпель.

Жұмыс барысы:**Дайындық кезеңі:**

- Лабораториялық жұмыс орнын стерильдеңіз.
- *Agrobacterium tumefaciens* бактерияларын селекциялау:
- Плазида құрамындағы мақсатты гендерді бактерияға енгізіп, оларды қоректік ортада көбейтіңіз.
- Өсімдік ұлпаларын дайындау:
- Жасушаларды стерильді жағдайларда бөліп алып, алдын ала дайындаған MS қоректік ортаға орналастырыңыз.

Трансформация әдістері:**Agrobacterium tumefaciens арқылы трансформация:**

- Дайындалған өсімдік ұлпаларын бактерия суспензиясына 5–10 минутқа салып, артық сұйықтықты алып тастаңыз.
- Өсімдік ұлпаларын сұрыпталған қоректік ортаға орналастырыңыз.
- Инкубацияны 2–3 күн бойы 22–25°C температурада жүргізіңіз.

Биобаллистика әдісі:

- ДНҚ бөлшектерін алтын немесе вольфрам бөлшектеріне адсорбциялап, өсімдік ұлпаларына жоғары қысымды құрылғы көмегімен енгізіңіз.
- Трансформацияланған ұлпаларды арнайы селективті ортаға орналастырыңыз.

Селекция және регенерация:

- Трансформацияланған ұлпаларды антибиотик немесе гербицид қосылған селективті ортаға көшіріңіз.
- Өсімдіктердің регенерациялануын бақылаңыз: тамыр мен өркен түзілуін қадағалаңыз.

Трансформация нәтижелерін талдау:

- ПТР (полимеразды тізбектік реакция) әдісімен мақсатты геннің өсімдік жасушасында бар-жоғын тексеріңіз.
- Ген экспрессиясын визуалды маркерлер көмегімен анықтаңыз (мысалы, GFP — жасыл флуоресцентті ақуыз).
- Қажет болған жағдайда микроскоп арқылы ұлпаларды зерттеңіз.

Бақылау сұрақтары:

1. Генетикалық трансформация әдістерінің қандай түрлері бар?
2. Agrobacterium tumefaciens қандай мақсатпен қолданылады?
3. Селективті маркерлер трансформация кезінде қандай рөл атқарады?
4. Биобаллистика әдісінің артықшылықтары мен кемшіліктерін атаңыз.
5. Трансформация нәтижелерін анықтау үшін қандай әдістер қолданылады?
6. Генетикалық трансформация биотехнологияның қандай салаларында қолданылады?