

Сеужап М., Алтынбекұлы М., Құсбегин М., Қадыкен Р.

*ҚХР Шығызы университеті жануарлар ғылымы институты,
ҚР, Қазақ ұлттық аграрлық университеті*

ЖЫЛҚЫНЫ КЛОНДАУ ТЕХНОЛОГИЯСЫ

Аңдатпа Мақалада жылқының аналық жұмыртқа клеткасын дене сыртында өсіріп жетілдіру, клондау әдісі, клетка ядросының тәртібін қайта құру және клондау өнімділігі мен клон жылқының келешегі қатарлы жақтарға зерттеу мен сараптаулар жүргізілген.

Кілт сөздер: клондау технологиясы, дене сыртында аналық жұмыртқаларды ұрықтандыру.

Кіріспе Долли дүниеге келгеннен бері ғалымдар клетка ядросын көшіру технологиясына өргерістер енгізу, қатысты механизмді іздестірумен бір уақытта, дамытып пайдалану жақтарындада ұмтылыстар жасады. Қазірге дейін эмбрион мен денелік клетканы клондаудан дүниеге келген жануарлардан қой (Vilmut 1997) [1], ешкі (Baguisi 1999) [3], сиыр (Kato 1998) [4], тышқан (Wakayama 1998) [4], шошқа (Onishi 2000) [2], қашыр (Woods 2003) [6], жылқы (Galli 2003) [7], көртышқан (Zhou 2003) [8] және ит (Lee 2005) [9] қатарлылар бар. Дене клетканы клондау техникасы хайуанаттар тұқымын асылдандыру саласында қызу түйінге айналды, дене клетканы клондау технологиясы мен эмбрион сабақ клеткасы технологиясын біріктіріп қолданғанда, науқастың өз денесіне клетка немесе тканды жаратқызып, ауру клетка немесе тканның орнын бастырып (Yang 2007) [13], клонды ткан немесе клетка арқылы имуннитуттық қақпайлаудай қиын мәселелерді жеңіуге болады. Бұндай денелік клетканы клондау технологиясын зерттеу мен іздестіру мал шаруашылығы өндірісінде, құрып жоғалуға айналған жануарлардың тұқымын сақтап қалуда, ауруды емдеу мен дәрі-дәрмек жасау қатарлы жақтарда қолданылу құны біртіндеп жарыққа шыға бастады.

Материал мен әдістер Денелік клетканы клондау технологиясының әдістері төмендегідей:

1. Бие тұқымы аналық клеткасын жинау және дене сыртында өсіру.

Бие тұқымы аналық клеткасын әдетте сойысханаларда сойылған биенің немесе тірі биенің жұмыртқа безінде (овариада) әлі пісіп-жетіле қоймаған тұқым көпіршігіндегі (фолликуллындағы) аналық жұмыртқа клеткасын (овотистты) жинап алудан келеді. Әдетте аналық жұмыртқа клеткасын (COOs) сойылған биеден сорғызып алу мен кесу әдісі арқылы жинап алынады. Биенің аналық жұмыртқа клеткасы ерекше болады, бұл биенің аналық жұмыртқа клеткасы мен жұмыртқа томпағы клеткасы қосындысы жұмыртқа көпіршігі (фолликулдың) бүйіріне өте тығыз жабысып тұратындығында; тағы бір айқын ерекшелігі екі түрлі аналық жұмыртқа клеткасының жайылмалы түрі (Ex) мен тығыз (Sp) түрінің екеуінде дене сыртында өсіруге болатындығында (сондай-ақ дене сыртында пісіп-жетіліп, екінші рет санының кеміп бөлінудің ортаңғы кезеңіне дейінгі қабылетке ие) .

Зерттеу нәтижелері мен талдау

Жылқының сорғызу әдісі арқылы алынған аналық жұмыртқа клеткасының өнімі өте томен, оның үстіне бір бөлім немесе барлық жұмыртқа томпағы клеткалары жоғалып кетеді (Hinrichs 1991; Dell 2001) [10, 11], бірақ, кесу әдісіне қарағанда уақыт пен күшті үнемдеуге болады. Керісінше кесу әдісі арқылы алынған аналық жұмыртқа клеткасының өнімі өте жоғары болып, оның үстіне жұмыртқа томпағы клеткаларын толық сақтап қалуға болады (Hinrichs 1991). Көптеген жұмыртқа безін біржақтылы етуде сорғызу әдісі біршама үйлесімді келеді, деседе жайшылықта жылқының жұмыртқа безі сиыр, қойларға қарағанда аз болатындықтан, қазіргі кезде жалпылай кесу әдісін қолданып жылқының COOs жинап алынады.

1.2 Аналық жұмыртқа клеткасын өсіру.

Сойған биенің жұмыртқа безін зертханаға жеткізу. Жеткізу барысындағы үйлесімді температура 12-22°C, өсіру барысында көңіл бөлуге тиісті іс, екі түрлі аналық жұмыртқа клеткасы пісіп-жетілу қуаты жағында парықталып қалмастан, оның үстіне уақыт жағында да өте зор парықталады. Сондықтан (Ex) аналық жұмыртқа клеткасы дене сыртында 24 сағатта, ал (Cr) аналық жұмыртқа клеткасы 32 сағатта біршама жоғары деңгейдегі пісіп-жетілу қуатына ие болады. Өсіру шарты TCM199+B2 - ні негіздік ертінді етіп, оған қан сарсуы, гормон немесе жұмыртқа көпіршігі сұйықтығын қосады. Бұдан тыс DMEM/F12 - ні негіздік жетілдіргіш етіп, M199 істетіп ие жұмыртқаның бөліну мөлшері мен қалталы эмбрион мөлшерінен жоғары өнімге ие болуға болады.

2. Дене клетка берушіні дайындау

Берілген денелік клеткаларды сәйкесті біржақтылы ету өте маңызды, әдетте қансаруын ашықтырып өсіру мен жанасуды тежеу әдісі қолданылады, кейбір оқымыстылар клетка периодын үзіп тастайтын химиялық сынақ ертіндісімен берілген денелік клетканы біржақтылы ету арқылы да сәйкесті біржақтылы етуде табысқа жеткен, сондай-ақ осы әдіс арқылы клонды жылқыға ие болған.

3. Клондайтын эмбрионды жасау және оны өсіру

Денелік клетканы ядросы алып тасталған аналық жұмыртқа клеткасының мөлдір белдеуінің (зонасының) астына салып, онан соң электірлі соққылау (импульс) арқылы ситоплазма мен аналық жұмыртқа клеткасын біріктіреді. Кейбір ғалымдар мөлдір белдеуі алып тасталған ядроны көшіру әдісі арқылы да біршама жоғары біріктіру өніміне ие болған, бірақ, бұндай әдісті меңгеру біршама күрделі болып, істеушіге қойылатын техникалық талапта өте жоғары болады. Ситоплазмаға тікелей салуды жылқының клон эмбрионын жасауға қолдануға болады, үйткені жылқының мөлдір белдеуі біршама қатты әрі морттау, сондықтан үнемі Pizzo аспабы арқылы орындауға тура келеді.

Дене клеткасының клондалған эмбрионын жасауда mSOF өсіргіш сұйықтығын істетуге, жұмыртқа жолы қыртысы (эпители) клеткасын, жұмыртқа томпағы клеткасын және жұмыртқа көпіршігі бүйірі клеткасын ортақ өсіру әдісін немесе шартты жетілдіргішті істетуге де болады. Бірақ, бәріндеде қанағаттанарлықтай нәтиже шықпай, қалталы эмбрион мөлшері дерліктей өте төмен болды. Жуықта бір түрлі өсіру жүйесі, яғни DMEM/F12 жетілдіргіш сұйықтығын істетіп аралас газды ортада клондалған эмбрионды өсіргенде қалталы эмбрион мөлшері дерліктей жоғарылаған, SOF жетілдіргіш сұйықтығымен 5 күн өсіріп онан соң DMEM/F12-ге ауыстырғанда да, недәуір жоғары мөлшердегі қалталы эмбрионға ие болуға болады, бірақ, басқа хайуанаттармен салыстырғанда әлі де төмен. Сондықтан, жылқы эмбрионын дене сыртында өсіру әдісінде әлі де өте зор дамыту бастығы бар екендігі айқын көрінеді.

4. Клондалған эмбрионды көшіру және оның өнімі

Дене сыртында пісіп жетілген қалталы эмбрионды биенің жатырына көшіріп буаз қылуға болады, бірақ, сіңіру мен жандандыру әдісіне өзгеріс енгізгеннен кейін ядроны көшіру өнімділігі де жоғарылай түседі. 2004 жылы А&М университеті зертханада жылқының клонын зерттеу барысында қалталы эмбрион шамасы өте төмен болғанымен (ерекше қолайлы шарт-жағдайда 4-10 пайыз), 8 тал қалталы эмбрионды көшірді, үш бие буаз болып, 2005 жылы екі құлын туылып, қалталы эмбрионның 25 пайызын ұстады. 2005 жылы қалталы эмбрионның жетілу шамасы әлі де төмен, небәрі 0-13 пайыз ғана болды, үш түрлі гендік қалталы эмбрионнан жалпы 26 талы биеге көшіріліп, 17 бие буаз болып, (буаздық мөлшері 62 пайыз көшірілген эмбрион), 9 бие құлындады. Бұл сандардан жылқының клондалған эмбрионның дене сыртында жетілген қалталы эмбрион шамасы тек 1-10 пайыз болғандығын, бұл салыстырма сиыр, қойлардың клондалған эмбрионнан төмен болып, сонымен бірге жылқының жай шәует құйған эмбрионында төмен екендігін көруге болады (25-35 пайыз). Бірақ, жылқының клондалған эмбрионы көшірілгеннен кейін оның буаз болу мөлшері жоғары болған (9-60 пайыздан жоғары). Жылқының клондағаннан кейінгі буаздық уақыты мен тірі төлінің салыстырмасы әлі де анық емес, ұқсамаған зертханаларда ұқсас болмаған салыстырмада болып келеді. Бірақ, жалпы алғанда жылқы клонның өнімі әлі де өте төмен.

5. Жылқыны клондаудың келешегі

Клонды жылқының дүниеге келуі жылқы ғылымының жоғары дәрежедегі ғылыми-техника саласында белгілі маңызды орынға ие. Клон технологиясының дамуына ілесіп жылқыны клондауды зерттеу болашақта тұқым сұрыптап жетілдіруде аса маңызды құралға айналып, жылқының көбею механизмін негіздік тұрғыдан зерттеу мен тұқым қуалап тұқым шығаруда қолданылмалы зертеуге жанадан жол ашып беріп, сонымен түтік жылқысы мен жынысты тізгіндеу технологиясын дамытуға және клонды таңдаулы жылқы ұрпағының дүниеге келуінде өте зор рөл атқарады.

Қорытынды клондау технологиясының қолданылу келешегі спорттық бәйге аттарын клондау немесе көбейтуден тыс басқада жылқы тұқымдарын клондау болып табылады. Мысалы, салтанатқа, ат өнеріне, ат ойынына және кедергілерден қарғу қатарлылардың бәрінде кеңінен қолданылу болашағы бар.

Әдебиеттер

1. Wilmut I., Schnieke A E., McWhir J, et al. Viable off spring derived from fetal and adult mammalian cells[J].Nature,1997,385:810-813.

2. Guo ji tong. Cheng nian ti xi baoke long shan yangyan jiu., Xi beinong lin kt ji da xuebuo shi lun wen, Zhong guo xi'an, 2000

3. Kato Y, et al., Eight calves cloned from somatic cells of a single adult[J].Science, 1999. 282(5396): p. 2095-8.

4. Wakayama T, et al., Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. Nature[J].1998. 394(6691): p. 369-74.

5. Onishi A., et al., Pig cloning by microinjection of fetal fibroblast nuclei[J].Science, 2000. 289(5482): p. 1188-90.

6. Woods G.L., et al., A mule cloned from fetal cells by nuclear transfer[J]. Science, 2003. 301(5636): p. 1063.

7. Galli C., et al., Pregnancy: a cloned horse born to its dam twin[J]. Nature, 2003.424(6949): p. 635.

8. Zhou, Q., et al., Generation of fertile cloned rats by regulating oocyte activation[J]. Science, 2003. 302(5648): p. 117-9.

9. Lee B.C., et al., Dogs cloned from adult somatic cells [J]. Nature, 2005. 436(7051): p. 641.

10. Hinrichs K. The relationship of follicle atresia to follicle size, oocyte recovery rate on aspiration, and oocyte morphology in the mare[J]. Theriogenology 1991.36:157-168.

11. Dell'Aquila M.E., Masterson M., Maritato F., Hinrichs K. Influence of oocyte collection technique on initial chromatin configuration, meiotic competence, and male pronucleus formation after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) of equine oocytes[J]. Mol Reprod Dev 2001.60:79-88.

12. Hinrichs K., DiGiorgio LM. Embryonic development after intrafollicular transfer of equine oocytes[J]. J Reprod Fertil (Suppl) 1991.44:369-374.

13. C. Galli., S. Colleoni., R. Duchi., I. Lagutina., G. Lazzari. Developmental competence of equine oocytes and embryos obtained by in vitro procedures ranging from in vitro maturation and ICSI to embryo culture, cryopreservation and somatic cell nuclear transfer. Animal Reproduction Science 2007.98 :39-55.

Сеужап М., Алтынбекулы М., Кусбегин М., Кадыкен Р.

ТЕХНОЛОГИЯ КЛОНИРОВАНИЕ ЛОШАДЕЙ

В этой статье приводятся результаты изучения выращивания и клонирования яйцеклетки кобыл в условиях организма (in vitro), переводнойки ядерных материалов и их клонирования продуктивности и перспективы клонирования лошадей.

Ключевые слова: технология клонов, внутриматочное оплодотворение яйцеклеток (in vitro) кобылиц.

TECHNOLOGY OF CLONING HORSES

The article states about the breeding of oocytes outside the organism, cloning method and were also carried out researches about the future of cloning horses.

Key words: technology clones, ectopic fertilization of acolytes in vitro mares.

ӘОЖ 637.525

Узаков Я.М., Джунусова Р.Ж., Бәзілбаев С.М.

Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы қ.

ҚОЙ ЕТІНЕН ФУНКЦИОНАЛЬДЫ ЕТ ӨНІМДЕРІН АЛУДА НӘРУЫЗДЫҚ ҚОСПАЛАРЫН ПАЙДАЛАНУ

Аңдатпа Мақаланың авторлары қой етін мүмкіндігінше кеңірек қолданып пайдалануды негіздейді. Алынған мәліметтер бойынша қой ұшасының 1-ші категориясында ұлттық бөліктерді және нәруыз-минеральды қоспаларды қолдана отырып, арнайы қой еті шұжығын қайта өңдеуге болатындығын анықтады. Сонымен қатар, дайындалған қой еті шұжықтарынан химиялық құрамын, шығынды, нәруыздық қоспаларды анықтадық.

Кілт сөздер: Нәруыз, май, көмірсулар, минералдық заттар, витаминдер, ет, қан сарысуы.

Кіріспе Қой еті тағамның ішіндегі ең құнды өнім. Ол басқа еттерден дәмі мен диеталық қасиеттерімен, сондай-ақ В₁, В₆, В₁₂, Д₂, К, Е, РР витаминдерінің көзі болып табылады. Пантотен, парааминобензой, фолий қышқылы, холин, стеарин кешенінің майлы қосындысы, Е витамині және физиологиялық активті пептидтер әсерімен организмнің биоактивті регуляциясын реттеп отырады. Қой етін тұтыну тіс эмалының төзімділігін нығайтады. Көмірсу алмасуының бұзылуына жол бермейді. Сондықтан да, қой етінде фтордың мөлшері екі есе көп екендігі көптеген еңбектерде жазылған. Сиыр етіне қарағанда, фтор мен хромның (120 мкг фтор қой етінде және 63 мкг 100 кг етке шаққандағы сиыр етінде есептелген) витаминдік сандық көрсеткіші салыстырылған. Қой еті қоғамдық тағамтануда кеңінен таралатын көп ұсынысқа түсетін ет шикізаты. Шұжықтық аспаздық өнімдерінен ұсақталған ет тағамдарында жоғары сапалы сипатқа ие.

Зертханалық жағдайларда қой етінің ұшасынан дайындалған кешенді мүмкіншіліктердің зерттелуінің маңызы ары қарай қайта өңдеуге беріліп отырады. Таңдалған ұлттық типтің қой етінің ұшасы буындық бөліктерде ет кәсіпорындарында көп сұраныста. Кейбір кездерде етпен қатар сүйектің қалдықтарында жақсы сақталуы үшін ылғалды ортаны ұйымдастырылып отырады. Бұл әдіс судағы байланысқан белоктардың молекулаларын жояды және ауадағы зиянды ыдыратулардан қорғайды. Белсенді биологиялық процестерді қалыптастырып, етпен ұлпадағы зат алмасуды арттырады. Осы бөлімнің нәтижесінде еттің 22 кесегі шығады [5]. Тәжірибе қою үшін 21,4 кг 1-ші категориялы қой етінің ұшасы таңдалды. Оның үстіне бақылау жүргізу үшін басқа бір қой етінің жартылай ұшасы қолданылды (1-кесте).

Кестеден сүйектерді аумақ бойынша бөлдік. Жамбас, ортан жілік, белдеме және бел омыртқа, бүйрек аумағы жамбас бөлігіне қарай 1-ші омыртқа қабырғасымен; Сүбе-алғашқы 4 қабырға бүйрек қабырғасынан; 5,6,7-қабырға және бүйрек бөлігінен төс сүйектің 8-семсерше өсіндісі; Төс-төс денесімен артқы бөлігі бірге; Омыртқа-қабырғаларсыз тек ғана омыртқалармен; Жауырын-жауырынның жоғарғы бөлігі; Кәрі жілік-сүйек денесі толықтай; Бұғана-төс сүйектің 5-ші семсерше өсіндісімен, жауырынның астына қарай; мойын.