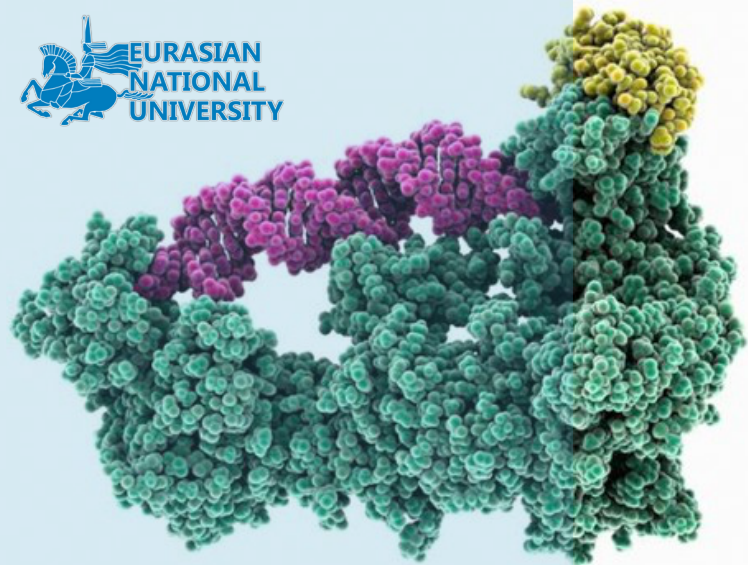


ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ЖОҒАРЫ БІЛІМ МИНИСТРЛІГІ
МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ



Л. Н. ГУМИЛЕВ АТЫНДАҒЫ
ЕУРАЗИЯ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

ЕВРАЗИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Л. Н. ГУМИЛЕВА

АСТАНА, ҚАЗАҚСТАН
11 СӘУІР 2024 ЖЫЛ

АСТАНА, КАЗАХСТАН
11 АПРЕЛЯ 2024 ГОД

"ОМАРОВ ОҚУЛАРЫ: ХХІ
ҒАСЫРДЫҢ БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ
БИОТЕХНОЛОГИЯСЫ" АТТЫ
ХАЛЫҚАРАЛЫҚ ҒЫЛЫМИ
ФОРУМНЫҢ БАЯНДАМАЛАР
ЖИНАҒЫ

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ
МЕЖДУНАРОДНОГО НАУЧНОГО
ФОРУМА "ОМАРОВСКИЕ ЧТЕНИЯ:
БИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ
ХХІ ВЕКА"

УДК 57 (063)
ББК 28.0
Ж 66

Жалпы редакцияны басқарған т.ғ.д., профессор Е.Б. Сыдықов
Под редакцией д.и.н., профессора Е.Б. Сыдыкова

Редакция алқасы:
Редакционная коллегия:

Ж.К. Масалимов, А.Б. Курманбаева, Ж.А.Нурбекова, Н.Н. Иқсат.

«Омаров оқулары: ХХІ ғасыр биология және биотехнологиясы» халықаралық ғылыми форумының баяндамалар жинағы. – Астана: Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, 2024. – 284 б., қазақша, орысша, ағылшынша.

Сборник материалов международного научного форума «Омаровские чтения: Биология и биотехнология ХХІ века». – Астана. Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, 2024. – 284 с., казахский, русский, английский.

ISBN 978-601-337-977-7

Жинақ «Омаров оқулары: ХХІ ғасыр биология және биотехнологиясы» атты халықаралық ғылыми форумна қатысушылардың баяндамаларымен құрастырылған. Бұл басылымда биология, биотехнология, молекулалық биология және генетиканың маңызды мәселелері қарастырылған. Жинақ ғылыми қызметкерлерге, PhD докторанттарға, магистранттарға, сәйкес мамандықтағы студенттерге арналған.

Сборник составлен по материалам, представленным участниками международного научного форума «Омаровские чтения: Биология и биотехнология ХХІ века». Издание освещает актуальные вопросы биологии, биотехнологии, молекулярной биологии и генетики. Сборник рассчитан на научных работников, PhD докторантов, магистрантов, студентов соответствующих специальностей.

ISBN 978-601-337-977-7



УДК 57
ББК 28
О-58

©Коллектив авторов, 2024
©Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, 2024

многообещающие решения для борьбы с болезнями человека и повышения благосостояния общества.

Список использованных источников

1. Makarova KS, Wolf YI, Iranzo J, Shmakov SA, Alkhnbashi OS, Brouns SJJ, Charpentier E, Cheng D, Haft DH, Horvath P, Moineau S, Mojica FJM, Scott D, Shah SA, Siksnyš V, Terns MP, Venclovas Č, White MF, Yakunin AF, Yan W, Zhang F, Garrett RA, Backofen R, van der Oost J, Barrangou R, Koonin EV. Evolutionary classification of CRISPR-Cas systems: a burst of class 2 and derived variants // Nat Rev Microbiol. - 2020. – P. 67 - 83.
2. Mallon J, Bailey S. A molecular arms race: new insights into anti-CRISPR mechanisms // Nat Struct Mol Biol. 2016 P. 765.
3. Le Rhun A, Escalera-Maurer A, Bratovič M, Charpentier E. CRISPR-Cas in *Streptococcus pyogenes* // RNA Biol. – 2019. – P. 380 - 389.
4. Lee J, Mir A, Edraki A, Garcia B, Amrani N, Lou HE, Gainetdinov I, Pawluk A, Ibraheim R, Gao XD, Liu P, Davidson AR, Maxwell KL, Sontheimer EJ. Potent Cas9 Inhibition in Bacterial and Human Cells by AcrIIC4 and AcrIIC5 Anti-CRISPR Proteins // mBio. - 2018.
5. Chen K, Wang Y, Zhang R, Zhang H, Gao C. CRISPR/Cas Genome Editing and Precision Plant Breeding in Agriculture // Annu Rev Plant Biol. – 2019. – P. 667 - 697.
6. Kim N, Kim HK, Lee S, Seo JH, Choi JW, Park J, Min S, Yoon S, Cho SR, Kim HH. Prediction of the sequence-specific cleavage activity of Cas9 variants // Nat Biotechnol. – 2020. – P. 1328 - 1336.
7. Schmid-Burgk JL, Gao L, Li D, Gardner Z, Strecker J, Lash B, Zhang F. Highly Parallel Profiling of Cas9 Variant Specificity // Mol Cell. – 2020. – P. 794 - 800.
8. Herai RH. Avoiding the off-target effects of CRISPR/cas9 system is still a challenging accomplishment for genetic transformation // Gene. – 2019. – P. 176 – 178.
9. Charlesworth CT, Deshpande PS, Dever DP, Camarena J, Lemgart VT, Cromer MK, Vakulskas CA, Collingwood MA, Zhang L, Bode NM, Behlke MA, Dejane B, Cieniewicz B, Romano R, Lesch BJ, Gomez-Ospina N, Mantri S, Pavel-Dinu M, Weinberg KI, Porteus MH. Identification of preexisting adaptive immunity to Cas9 proteins in humans // Nat Med. – 2019. – P. 249 – 254.
10. Tan R, Du W, Liu Y, Cong X, Bai M, Jiang C, Li Z, Tan M, Ma DK, Huang Q, Jiang W, Dang Y. Nucleolus localization of SpyCas9 affects its stability and interferes with host protein translation in mammalian cells // Genes Dis. – 2020. – P. 731 - 740.
11. Marino ND, Pinilla-Redondo R, Csörgő B, Bondy-Denomy J. Anti-CRISPR protein applications: natural brakes for CRISPR-Cas technologies // Nat Methods. – 2020. – P. 471 - 479.

УДК 637.334.2

ИЗУЧЕНИЕ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР РАСТЕНИЙ И ИХ ЗНАЧЕНИЕ В БИОТЕХНОЛОГИИ

Кощанов Болат Айбулатович

koshchanov@gmail.com

Магистрант 2 курса ЕНУ им.Л.Н.Гумилева специальности Общая и прикладная биотехнология

Научный руководитель – Сегизбаева Гульсим Жалгасовна и.о профессора, к.б.н.

Введение – краткий исторический обзор

Растения обладают удивительной пластичностью в развитии. Это проявляется, в частности, в их высокой способности к регенерации. Время от времени растениям приходится справляться с физическими повреждениями, вызванными их биотической или

абиотической средой. Чтобы обеспечить выживание, у них есть специальные пути развития, позволяющие залечивать повреждения и/или заменять утраченные части/органы. С давних пор эти пути используются для вегетативного размножения растений. Кроме того, способность растений к регенерации привлекла научный интерес еще в конце 19 века (недавний обзор истории культивирования растительных клеток см. в работе Сугиямы, 2015). Наблюдались гистологические реакции на раны и образование мозолей, и уже на этом раннем этапе использовался термин “дедифференцировка”. Начало исследований культур растительных клеток и тканей *in vitro* датируется 1902 годом, когда Готлиб Хаберландт представил свою гипотезу о внутренней способности изолированных растительных клеток к автономной жизни (Haberlandt, 1902). В 1930-х годах были разработаны методы долговременного размножения и поддержания тканей культивируемых растений, которые позволили получить экспериментальные доказательства этой гипотезы. Затем было обнаружено, что фитогормоны ауксин и цитокинин необходимы для пролиферации клеток *in vitro*. Более того, было обнаружено, что соотношение этих гормонов определяет морфогенетический путь, по которому будет развиваться культивируемая ткань *in vitro*: высокое и низкое соотношение цитокинина и ауксина благоприятствуют регенерации побегов и корней соответственно, тогда как более сбалансированные концентрации приводят к неорганизованному росту клеточной массы (Skoog and Miller, 1957). Эта пролиферирующая клеточная масса была названа “каллусом” из-за ее сходства с ранозаживляющей растительной тканью. В конце 1950-х годов было доказано, что, помимо последовательного органогенеза побегов и корней, целые растения могут быть регенерированы из культивируемых растительных клеток всего за один этап путем формирования зародыша (Steward et al., 1958; Reinert, 1959). Этот путь позже был назван “соматическим эмбриогенезом”, и его инициация была ограничена отдельными клетками (Bucks-Hüsemann and Reinert, 1970). Этот процесс считался экспериментальным доказательством “тотипотентности” растительных клеток, а именно того, что каждая соматическая клетка растения обладает способностью к регенерации в целое растение. Эта точка зрения была дополнительно подтверждена выделением и культивированием листовых протопластов (одиночных клеток, лишенных клеточной стенки) и развитием из них целых растений (Takebe et al., 1971). Основываясь на вышеуказанных исследованиях, системы культивирования и регенерации растительных клеток/тканей были успешно применены для размножения сотен видов растений и их различных эксплантатов. Таким образом, мнение, сформулированное Стюардом и его коллегами в 1970 году, о том, что “в принципе, все нормальные диплоидные соматические клетки по существу тотипотентны и что нынешние неудачи в выращивании их в растениях просто затрудняют поиск подходящих условий для их развития” (Steward et al., 1970), получило широкое признание. Также было распространено мнение, что дедифференцировка соматических клеток растений является необходимым условием последующей регенерации растений. Однако недавние исследования позволили глубже понять описанные выше процессы и поставили под сомнение некоторые из приведенных выше исторических, иногда даже догматических утверждений о культуре растительных клеток и тканей. Ниже кратко обсуждаются некоторые из наиболее важных вопросов.

Каллусная культура – это неорганизованная пролиферирующая ткань, которая состоит из дедифференцированных клеток. Каллус – система растительных тканей, которая состоит из тонкостенных, паренхимных клеток, выращенных на искусственных питательных средах. Метод культуры изолированных тканей – выращивание изолированных клеток и тканей на искусственных питательных средах в стерильных условиях. Для данного метода необходимо соблюдение нескольких требований: соблюдение асептических условий и использование питательных сред. Изолированные клетки и ткани культивируют на многокомпонентных питательных средах. В их состав входят макро- и микроэлементы, углеводы, витамины, фитогормоны и их синтетические аналоги. В среды обязательно вводят ауксины, вызывающие дедифференцировку клеток

экспланта, и цитокинины, индуцирующие клеточные деления. Добавление этих фитогормонов в различных соотношениях вызывает разные типы морфогенеза. При приготовлении твердых питательных сред для поверхностного выращивания каллусных тканей используют агар-агар. Возникновение каллуса связано с неорганизованным делением дедифференцированных клеток. Дедифференцировка – это возвращение клеток в меристематическое состояние, при котором они сохраняют способность к делению. У интактных растений дедифференцировка и индукция каллусогенеза возникают вследствие образования раневых гормонов (травматиновая кислота) при механических повреждениях; кроме того, необходимо присутствие ауксинов и цитокининов. Среди ауксинов в лаборатории чаще всего используют: 1. 2,4-D (2,4-дихлорфеноксисуксиную кислоту); 2. ИУК (индолил-3-уксусную кислоту); 3. НУК (α -нафтилуксусную кислоту). Из цитокининов вносят: 1. Кинетин; 2. 6-БАП (6-бензиламинопурин); 3. зеатин. Технология получения каллусной и суспензионной культур сводится к следующему. На первом этапе производится выбор эксплантов (наиболее пригодный материал для получения каллусов дает проращивание простерилизованных семян в асептических условиях). Следующий этап – стерилизация отобранного материала. Третий этап – перенос стерильных эксплантов на питательную среду. Четвертый этап – получение первичного каллуса. Последний этап – пассивирование, то есть разделение первичного каллуса на части, которые впоследствии будут культивироваться отдельно. Биотехнологическое получение экономически важных фармакологически активных веществ в настоящее время основано на суспензионной культуре. Это связано с тем, что она характеризуется более высокой скоростью роста, более широкими возможностями для изучения влияния экзогенных факторов на метаболизм и рост клеток, а также простотой процедуры субкультивирования, что позволяет осуществлять технологический процесс на основе использования биореакторов.

Дедифференцировка и образование каллуса

Термин “дедифференцировка” имеет множество определений: “процесс, при котором зрелые или специализированные клетки теряют свой дифференцированный характер и омолаживаются” (Bloch, 1941); “процесс, при котором ткани, подвергшиеся клеточной дифференцировке, могут быть обращены вспять, чтобы снова стать первичной клеткой” (Hale et al., 1941). и др., 2005); “включает в себя терминально дифференцированную клетку, возвращающуюся обратно к менее дифференцированной стадии из своей собственной линии” (Jopling et al., 2011).; “его отличительной особенностью является переход из данного дифференцированного состояния в состояние, подобное ”стволовой клетке“, которое придает плюрипотентность” (Grafi, 2004). Общим в этих определениях является то, что, в отличие от дифференцировки, дедифференцировка повышает потенциал развития клеток. Однако существует противоречие в отношении того, в какой степени можно использовать термин “дедифференцировка”. Является ли это обратным процессом дифференцировки и, следовательно, может происходить только в пределах одной и той же клеточной линии (Hale et al., 2005; Jopling et al., 2011; Sugimoto et al., 2011) или может быть использован для всех процессов, повышающих активность клеток (например, Grafi, 2004; рис. 1)? Преодоление барьеров между клеточными линиями обычно рассматривается как трансдифференцировка, независимо от способности клеток к развитию (Sugimoto et al., 2011; рис. 1).

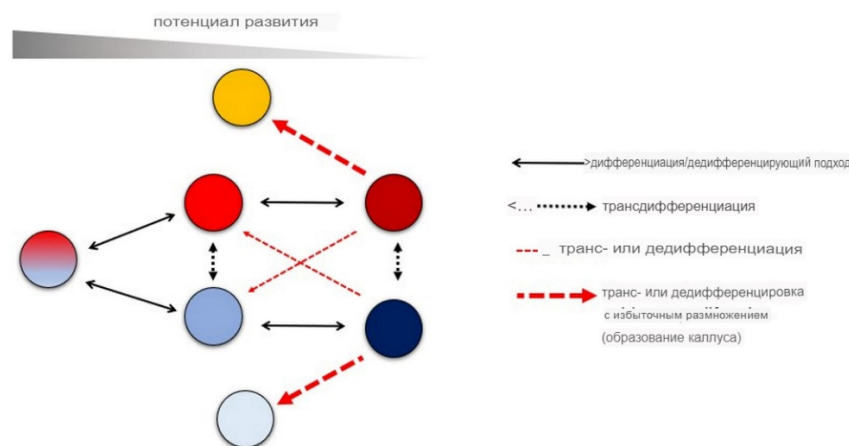


Рисунок 1. Различные пути дифференцировки, которыми может следовать растительная клетка, и используемая терминология для их описания. Дифференцировка обычно ассоциируется со снижением, а дедифференцировка - с повышением потенциала развития. В строгом смысле дедифференцировка может происходить только в пределах одной и той же линии развития и может рассматриваться как возврат к дифференцировке. Трансдифференцировка используется для описания изменений судьбы клеток, не зависящих от способности к развитию. Однако в биологии растений трансдифференцировку, ведущую к повышению потенциала развития, часто называют дедифференцировкой, особенно во время образования каллуса. Образование каллуса - это не шаг назад в развитии, а скорее результат чрезмерной пролиферации/трансдифференцировки дифференцированных клеток. Некоторые или большинство клеток гетерогенной каллусной ткани могут обладать повышенной способностью к развитию.

Одной из основных причин разногласий является смешение генетической и биологической точек зрения на клеточную дифференцировку. Все многоклеточные организмы характеризуются определенным количеством генов, но ни одна из их клеток не экспрессирует все гены, а только их часть, и поэтому их можно считать генетически дифференцированными. Следовательно, генетически полностью дедифференцированная клетка экспрессировала бы все гены, закодированные в геноме. Очевидно, что такой клетки не существует. Даже зигота, обладающая наивысшим потенциалом развития, имеет четко определенный паттерн экспрессии генов (Sprunck et al., 2005; Чжао и др., 2011; Абико и др., 2013; Домоки и др., 2013; Леляк-Леванич и др., 2013) и с генетической точки зрения дифференцируется для выполнения своей специфической функции - инициации автономного развития организма.

Недавние транскриптомные данные подтверждают мнение о том, что мозоли могут существовать по меньшей мере двух различных путей соматического эмбриогенеза подтверждается наблюдениями, проведенными с использованием эксплантатов незрелых зиготических эмбрионов арабидопсиса (Gaj et al., 2005). В этой системе было обнаружено, что индуцированное 2,4D прямое (без каллуса) образование соматических эмбрионов зависит от LEC1, но мутанты *lec1* все еще могут образовывать соматические эмбрионы непрямым путем, ориентированным на WUS.

В заключение: не все растительные клетки являются тотипотентными, но при соответствующих условиях некоторые клетки могут стать тотипотентными. Клетка (и только одна клетка) может считаться тотипотентной, если она способна автономно развиваться в целое растение посредством эмбриогенеза. Однако соматический эмбриогенез не зависит строго от тотипотентности клеток. Теоретически развитие эмбрионов из соматических клеток может начаться, по крайней мере, тремя основными способами: (1) прямой эмбриогенез из отдельных клеток через тотипотентную (зиготоподобную?) этап; (2) прямой или непрямым эмбриогенез, зависящий от факторов

транскрипции, идентифицирующих эмбрион (LEC1, LEC2, FUS3 и т.д.); (3) организация эмбрионов из групп клеток, зависящих от градиентов ауксина и цитокинина, связанных с параллельным образованием центров организации меристем (экспрессия WUS и WOX5) (рисунок 2). Следовательно, попытки идентифицировать ключевые физиологические/молекулярные/генетические триггеры, которые действительно для всех соматических эмбриогенетических систем, очевидно, приведут к неудаче.

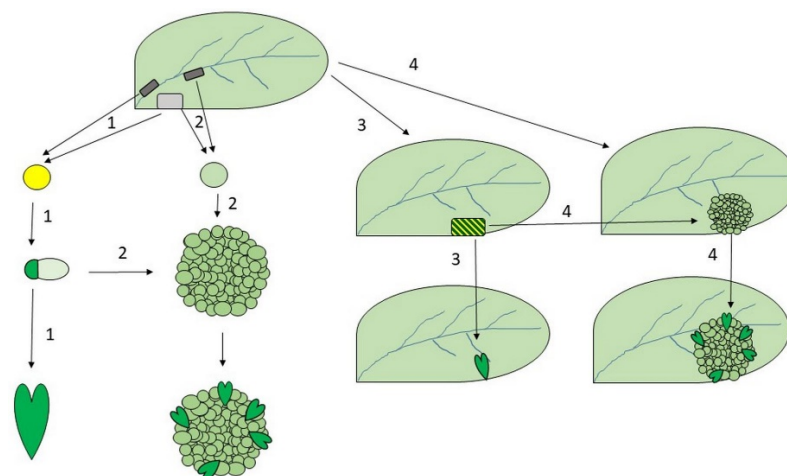


Рисунок 2. Возможные пути формирования соматического эмбриона. Развитие соматического эмбриона потенциально может быть инициировано дифференцированными соматическими клетками (светло-серые) или стволовыми клетками, подобными перицикламе (темно-серые), и может протекать прямым (1,3) или непрямым (2,4) путями *in vitro* (1,2) или *in planta* (3,4). Соматический эмбриогенез может начаться с образования одиночных (зиготоподобных?) тотипотентных клеток (желтых), которые формируют эмбрионы (темно-зеленые) после асимметричного первого деления (1). Соматические эмбрионы могут быть организованы на поверхности эмбриогенных каллусов из множества клеток (2). У растений соматический эмбриогенез, обусловленный мутацией или эктопической сверхэкспрессией регуляторных генов, также может быть прямым (3) или непрямым (4). Если этот процесс начинается в одной эмбриогенной клетке (3), то эту клетку можно считать тотипотентной (желтая с темно-зелеными линиями), но характер ее экспрессии, вероятно, отличается от такового в гипотетической “зиготоподобной” тотипотентной клетке (желтая; в процессах 1).

Список источников:

1. Abiko, M., Maeda, H., Tamura, K., Hara-Nishimura, I., and Okamoto, T. (2013). Gene expression profiles in rice gametes and zygotes: identification of gamete-enriched genes and up- or down-regulated genes in zygotes after fertilization. *J. Exp. Bot.* 64, 1927–1940. doi: 10.1093/jxb/ert054 doi: 10.1093/jxb/ert054
2. CrossRef Full Text | Google Scholar
3. Atta, R., Laurens, L., Boucheron-Dubuisson, E., Guivarc’h, A., Carnero, E., Giraudat-Pautot, V., et al. (2009). Pluripotency of Arabidopsis xylem pericycle underlies shoot regeneration from root and hypocotyl explants grown *in vitro*. *Plant J.* 57, 626–644. doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03715.x
4. PubMed Abstract | CrossRef Full Text | Google Scholar

5. Avivi, Y., Morad, V., Ben-Meir, H., Zhao, J., Kashkush, K., Tzfira, T., et al. (2004). Reorganization of specific chromosomal domains and activation of silent genes in plant cells acquiring pluripotentiality. *Dev. Dyn.* 230, 12–22. doi: 10.1002/dvdy.20006
6. PubMed Abstract | CrossRef Full Text | Google Scholar
7. Backs-Hüsemann, D., and Reinert, J. (1970). Embryobildung durch isolierte Einzelzellen aus Gewebekulturen von *Daucus carota*. *Protoplasma* 70, 49–60. doi: 10.1007/BF01276841
8. CrossRef Full Text | Google Scholar
9. Bai, B., Su, Y. H., Yuan, J., and Zhang, X. S. (2013). Induction of somatic embryos in *Arabidopsis* requires local YUCCA expression mediated by the down-regulation of ethylene biosynthesis. *Mol. Plant* 6, 1247–1260. doi: 10.1093/mp/sss154
10. PubMed Abstract | CrossRef Full Text | Google Scholar
11. Birnbaum, K., and Alvarado, A. (2008). Slicing across kingdoms: regeneration in plants and animals. *Cell* 132, 697–710. doi: 10.1016/j.cell.2008.01.040.Slicing

МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ КАРТОФЕЛЯ В УСЛОВИЯХ IN VITRO

Пазыл Айдар

Актуальность: Микроклональное размножение представляет собой процесс получения *in vitro* растений, которые генетически идентичны исходному экспланту, используя метод вегетативного размножения растений в культуре *in vitro* [1]. Этот метод основан на уникальном свойстве соматических растительных клеток - их тотипотентности, способности полностью реализовать генетический потенциал всего организма. В настоящее время, различные методы микроклонального размножения сельскохозяйственных культур, особенно вегетативно размножаемых, становятся все более актуальными в системе *in vitro* [2]. Эти методы включают в себя размножение через пазушные и адвентивные почки, непрямой морфогенез и соматический эмбриогенез [3,4].

Новизна: выявление оптимальных питательных сред для проведения микроклонального черенкования растений сортов Триумф и Импала в зимний период.

Цель: изучение и усовершенствование состава питательной среды с целью увеличения коэффициента размножения этих сортов.

Основная задача: регулирование скорости роста растений из черенков на питательной среде.

Условия, материалы и методика. Исследования провели в лаборатории биотехнологии растений НИИ клеточной биологии и биотехнологии ЕНУ им. Л.Н. Гумилева с сортами Триумф и Импала, в период интенсивного размножения – зима.