

ОҢТҮСТІК-ҚАЗАҚСТАН MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ		SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Дәрілер технологиясы кафедрасы «Фармацевтикалық биотехнология» пәні бойынша дәріс кешені	044-43/ - (2023-2024) Стр. 1 из 19	

ДӘРІС КЕШЕНІ

Пәні:	Фармацевтикалық биотехнология
Пән коды:	FB 3308
ББ атауы және шифры	6B10106 – Фармация
Оқу сағаты/кредит көлемі:	150 сағат (5 кредит)
Оқу курсы және семестрі:	3 курс, 6 семестр
Дәріс көлемі:	10 сағат

Шымкент, 2024 жыл

ОҢТҮСТІК-ҚАЗАҚСТАН MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ		SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Дәрілер технологиясы кафедрасы «Фармацевтикалық биотехнология» пәні бойынша дәріс кешені		044-43/ - (2023-2024) Стр. 2 из 19

Дәріс кешені «Фармацевтикалық биотехнология» пәннің жұмыс оқу бағдарламасына (силлабусы) сәйкес әзірленген және кафедра мәжілісінде талқыланды.

Хаттама № 10 31.05.2024 ж.

Дәрілер технологиясы кафедрасының меңгерушісі,

фармация ғылымдары докторы, профессор



Сағындықова Б.А.

№ 1 ДӘРІС

1. Тақырыбы: Дәрілік құралдардың биотехнологиялық өндірісінің қазіргі жағдайы және даму перспективалары. Биотехнологияның негізгі ұғымдары мен терминдері.

2. Мақсаты: білім алушыларды заманауи фармацевтикалық биотехнологияның негізгі жетістіктерімен, фармацевтикалық биотехнологияның биология, медицина, ауыл шаруашылығындағы маңыздылығымен таныстыру.

3. Дәріс тезистері:

1. Қазіргі биотехнология. Кіріспе.
2. Пән және міндеттері.
3. Қысқаша тарихи анықтама.

Биотехнология – дәрілік препараттарды шығаратын фармацевтикалық және биотехнологиялық кәсіпорындардың сынақ зертханаларында да, дәріханаларда да жұмыс істейтін фармацевт үшін қажет қазіргі заманғы маңызды ғылыми пәндердің бірі.

Биотехнологиямен танысу медициналық жоғары оқу орындарының мамандануына қарамастан барлық түлектеріне қажет:

- биотехнологиялық әдістер әр түрлі ауруларды диагностикалау, алдын-алу және емдеу практикасына барған сайын қарқынды еніп келеді
- биотехнологияның қазіргі заманғы тұжырымдамалары Қазіргі әлемдегі ғылыми-техникалық прогрестің қарқынды ағымына сәйкес келетін адамның дүниетанымын қалыптастыруға ықпал етеді.

Биотехнологияның қарқынды дамуы үшін қолайлы жағдайды қамтамасыз ететін негіз революциялық жаңалықтар мен әзірлемелер болды:

- биологиялық жүйелердегі тұқым қуалайтын ақпаратты сақтаудағы және берудегі нуклеин қышқылдарының рөлін дәлелдеу (олардың популяциясы емес, жеке жасушалар мен жеке организмдерді білдіреді);
- барлық тірі организмдер үшін әмбебап генетикалық кодты декодтау;
- организмдердің бір ұрпағының өмір сүру процесінде гендердің жұмысын реттеу тетіктерін ашу;
- микроорганизмдерді, өсімдіктер мен жануарлар жасушаларын культивациялаудың қазіргі технологияларын жетілдіру және жаңаларын әзірлеу;

Жоғарыда айтылғандардың қисынды салдары ретінде генетикалық және жасушалық инженерия әдістерінің пайда болуы және қарқынды дамуы болды, олардың көмегімен өнеркәсіптік масштабта қолдануға жарамды организмдердің жаңа жоғары өнімді формалары жасанды түрде жасалады.

"Биотехнология" терминін 1917 жылы Венгр инженері Карл Эреки жемшөп ретінде қант қызылшасын қолдана отырып, шошқаларды кең көлемде өсіру процесін сипаттау кезінде енгізген.

Эрекидің анықтамасы бойынша биотехнология – бұл "тірі организмдердің көмегімен шикізаттан белгілі бір өнімдер шығарылатын барлық жұмыс түрлері".

Ақуыз-ферменттердің құрылымы мен синтезін зерттеудің заманауи әдістерінің дамуы және осы қосылыстардың (жасушаның маңызды элементтерінің) жұмыс істеу және қызметін реттеу механизмдерін анықтау нәтижесінде пайда болған инженерлік энзимологияда мүлдем жаңа бағыт болып табылады.

Бұл саладағы жетістіктер әртүрлі күрделіліктегі және жұмыс істеу ерекшелігіндегі ақуыздарды бағыттап түрлендіруге, жоғары тұрақтандырылған иммобилизацияланған ферменттердің көмегімен өнеркәсіптік құнды реакциялардың қуатты катализаторларын жасауға мүмкіндік береді.

Осы жетістіктердің барлығы биотехнологияны күрделі жасушалық процестерді саналы және мақсатты басқаруға мүмкіндік беретін дамудың жаңа деңгейіне шығарды.

Биологиялық білімнің бұл жаңа саласы және оның соңғы жетістіктері адам денсаулығы мен әл-ауқаты үшін өте маңызды болды.

Биотехнология термині грек тілінен. "биос" - өмір, "техне" – өнер, шеберлік, шеберлік және "логос" – ұғым, ілім).

Сонымен, жоғарыда келтірілген анықтамалардан биотехнология адамның әртүрлі қажеттіліктері үшін пайдалы өнімдер алу үшін әртүрлі материалдарды синтездеу, жою немесе қайта құру (түрлендіру) үшін микроорганизмдерді, жануарлар мен өсімдік жасушаларын немесе олардың ферменттерін қолдануға негізделген.

Биотехнологияда медициналық-фармацевтикалық, азық-түлік, ауылшаруашылық және экологиялық бағыттар бөлінеді. Осыған сәйкес биотехнологияны шартты түрде медициналық, ауылшаруашылық, өндірістік және экологиялық деп бөлуге болады.

Әр түрлі салалардағы биотехнологияны дамыту перспективалары:

- өнеркәсіпте (тамақ, фармацевтика, химия, мұнай-газ): гендік инженерия әдістерімен жасалған бактериялар мен ашытқы штаммдарының негізінде берілген қасиеттері бар заттардың биосинтезі мен биотрансформациясын қолдану;
- ауыл шаруашылығында: өсімдіктерді қорғаудың биологиялық құралдары, биотыңайтқыштар және өсу реттегіштері, топырақты қалпына келтірудің микробиологиялық әдістері; мал шаруашылығы саласында-вакциналар мен сарысулар алу, микробтық биомассадан және ауыл шаруашылығы қалдықтарынан тиімді жемшөп препараттарын жасау;
- медицинада: медициналық биопрепараттарды, диагностикумдарды, вакциналарды әзірлеу, иммунобиотехнологияны дамыту;
- экологияда: Ағынды суларды тазартудың экологиялық қауіпсіз технологияларын әзірлеу, қалдықтарды кәдеге жарату, экожүйелерді жобалау;
- энергетикада: биоэнергияның жаңа көздерін қолдану, биомассаның биогазға және биоотынға айналуы.

Сондықтан үлкен материалдық шығындар мен ұзақ уақыт іргелі зерттеулерге жұмсалса да, биотехнологияның негізгі мақсаты мақсатты өнімді, үнемді өндірісті, демек, адамдарға азды-көпті қажет нәрсені алу болып табылады.

Биотехнологиялық бағыттардың мақсаты құру және практикалық енгізу (яғни практикалық пайдалану) болып табылады:

- әртүрлі ауруларды диагностикалау, алдын алу және емдеу үшін денсаулық сақтауда пайдаланылатын жаңа биологиялық белсенді заттар мен дәрілік препараттар
- ауыл шаруашылығы өсімдіктерін ауру қоздырғыштарынан және зиянкестерден, бактериялық тыңайтқыштардан және өсімдіктер мен жануарлардың өсуін реттегіштерден биологиялық қорғау құралдары
- ауыл шаруашылығы жануарларының өнімділігін арттыруға арналған бағалы жемшөп қоспалары (жемшөп ақуызы, амин қышқылдары, витаминдер, жемшөп сіңірілуін арттыруға ықпал ететін ферменттер және т. б.);
- ауыл шаруашылығы жануарларының өнімділігін арттыруға арналған бағалы жемшөп қоспалары (жемшөп ақуызы, амин қышқылдары, витаминдер, жемшөп сіңірілуін арттыруға ықпал ететін ферменттер және т. б.);
- ауыл шаруашылығында және ветеринарияда қолданылатын әртүрлі мақсаттағы жоғары тиімді препараттарды алуға арналған жаңа биоинженерлік әдістер
- азық-түлік, химия және микробиология өнеркәсібі үшін шаруашылық құнды өнімдерді жасау мен алудың жаңа технологияларын әзірлеу;

– адамның шаруашылық қызметінің басқа салаларында пайдаланылуы мүмкін өнімдерді (мысалы, биогаз, тыңайтқыштар, автомобильдерге арналған отын және т.б.) алу үшін ауыл шаруашылығы, өнеркәсіп және тұрмыстық қалдықтарды қайта өңдеудің тиімді технологиялары.

Биотехнологиялық өндіріс

Биотехнологиялық өндірістің 5 кезеңі, кезеңдері немесе операциялары бар.

Екі бастапқы кезең микроорганизмнің қажетті културасын-өндірушіні (яғни, биологиялық белсенді принцип) және шикізатты дайындауды қамтиды. Микробиологиялық синтезді жүзеге асыру кезінде өсіп келе жатқан ортаны дайындау және процесте үнемі немесе қажет болған жағдайда қолдануға болатын таза култураны сақтау кезеңдері қажет.

Үшінші кезең-мақсатты өнім түзілетін ашыту кезеңі. Бұл кезеңде қоректік ортаның құрамдас бөліктерінің микробиологиялық түрленуі алдымен биомассаға, содан кейін қажет болған жағдайда мақсатты метаболитке айналады.

Төртінші кезеңде мақсатты өнімдер культуралық сұйықтықтан шығарылады және тазартылады. Басқа технологиялық операциялардың арасында жиі маңызды орын алатын окшаулау және тазарту процестері алынған заттың химиялық табиғатымен анықталады және экстракциялық және хроматографиялық әдістерді, кристалдануды, сүзуді, тұндыруды және т. б. қамтуы мүмкін.

Өнеркәсіптік өндірістің соңғы кезеңі-өнімнің тауарлық формаларын дайындау. Микробиологиялық синтез өнімдерінің көпшілігінің ортақ қасиеті олардың сақтауға төзімділігінің жеткіліксіздігі болып табылады, сондықтан өндірістің соңғы сатысында мақсатты өнімдерді тұрақтандыру және сақтау әдістері өте маңызды.



1. Иллюстрациялық материал: презентация.

2. Әдебиет: 1-қосымшада ұсынылған.

3. Бақылау сұрақтары:

1. Биотехнологияның қарқынды дамуы үшін қолайлы жағдайды қамтамасыз ететін негіз революциялық жаңалықтар мен әзірлемелері
2. Биотехнологиялық бағыттардың мақсаты құру және практикалық енгізу
3. Биотехнологиялық өндірісі қандай кезеңдерден және операциялардан тұрады.

№ 2 ДӘРІС

1. Тақырыбы: Биообъект өндіріс құралы ретінде. Биологиялық объектілердің жіктелуі, олардың қасиеттері. Биотехнология әдістері. Мақсатты өнімдердің бағытталған биосинтезінің физиологиялық тәсілдері.

2. Мақсаты: білім алушыларды биообъект өндіріс құралы ретінде, биологиялық объектілердің жіктелуін, олардың қасиеттері, биотехнология әдістерін мақсатты өнімдердің бағытталған биосинтезінің физиологиялық тәсілдерімен таныстыру.

3. Дәріс тезистері:

Биообъектілердің белсенді күйіндегі белсенділік пен тұрақтылық - олардың биотехнологияда ұзақ уақыт қолдануға жарамдылығының маңызды көрсеткіштерінің бірі болып табылады.

Осылайша, биообъектінің жүйелі орналасуына қарамастан, іс жүзінде табиғи ұйымдастырылған бөлшектер (фагтар, вирустар) және табиғи генетикалық ақпараты бар жасушалар немесе жасанды түрде берілген генетикалық ақпараты бар жасушалар қолданылады, яғни кез келген жағдайда микроорганизм, өсімдік, жануар немесе адам болсын, жасушаларды пайдаланады

Биообъектілердің жіктелуі

Жануарлардан алынатын макробиообъектілер:

Адам (донор)

Адам (иммундау объектісі, донор)

Сүтқоректілер, бауырымен жорғалаушылар, құстар, балықтар, жәндіктер, буынаяқтылар, Теңіз омыртқасыздары

Өсімдік тектес биообъектілер:

Өсімдіктер (жабайы және плантациялық өсіріледі)

Балдырлар

Өсімдік жасушалары мен тіндерінің дақылдары

Биообъектілер-микроорганизмдер:

Эукариоттар (қарапайымдылар, саңырауқұлақтар, ашытқылар)

Прокариоттар (актиномицеттер, бактериялар)

вирустар.

Қазіргі заманғы биотехнологиялық өндірістердің көпшілігінің негізі әлі күнге дейін микробтық синтез, яғни микроорганизмдердің көмегімен әртүрлі биологиялық белсенді заттардың синтезі болып табылады.

Өкінішке орай, өсімдіктер мен жануарлардан алынатын заттар бірқатар себептерге байланысты әлі кең қолданыста болған жоқ.

Объектінің табиғатына қарамастан, кез – келген биотехнологиялық процестің дамуының негізгі кезеңі-организмдердің (егер ол микробтар болса), жасушалардың немесе тіндердің (егер олар күрделі организмдер-өсімдіктер немесе жануарлар болса) таза дақылдарын алу.

Биообъект технологиялық процестің қатысушысы ретінде макро-био нысандар (адам, жануарлар, өсімдіктер):

- сыртқы ортада мүлдем автономды өмір сүруге пластикалық бейімделген жоғары ұйымдастырылған тірі жүйелер
- биомасса (ұлпа, биофлюидтер, жасушалар) алу табиғи жағдайда жүреді (ДӨ плантациялық өсіру, жыландар, аралар, сүліктер өсіру).

микробиообъектілер сыртқы ортада автономды өмір сүруге қабілетсіз, техногендік экологиялық тауашаны құру үшін қамтамасыз ету қажет:

монокультурада биообъектінің болуы үшін жағдайлар;

- биомассаның қажетті мөлшерін алу үшін
- экономикалық тұрғыдан тиімді жұмыс қарқыны; өндіруші культураны сыртқы қолайсыз

факторлардан қорғау;

- өндіруші култураны патогендік микрофлорамен ластанудан қорғау (көкжөтел бактериялары үшін лизогендік фаг, полиомиелит вирусы үшін онкогендік вирустар);
- патогендік штамм-өндірушілердің шығарындыларынан қоршаған ортаны қорғау (қсантан алу кезінде фитопатогенді *Xantomonas campestris*, B2 витаминін алу кезінде *Eremothecium* саңырауқұлағы-мақта паразиті).

Биобъектілер

Макромолекулалар: барлық кластағы ферменттер (көбінесе гидролазалар мен трансферазалар); оның ішінде иммобилизацияланған түрде (тасымалдаушымен байланысты) қайталанатын өндірістік циклдарды пайдаланудың қайталануын және стандарттылығын қамтамасыз етеді

ДНҚ және РНҚ-оқшауланған түрде, бөгде жасушалардың құрамында

2) микроорганизмдер:

- **вирустар** (патогенділігі әлсіреген вакциналарды алу үшін қолданылады);
- **жасушалар** прокариоттар және эукариоттар бастапқы метаболиттердің өндірушілері: аминқышқылдары, азотты негіздер, коферменттер, моно-және дисахаридтер, алмастыру терапиясына арналған ферменттер және т. б.);
- **екінші метаболиттердің өндірушілері:** антибиотиктер, алкалоидтар, стероидты гормондар және т. б.
- **нормофлора-**дисбиоздың алдын алу және емдеу үшін қолданылатын микроорганизмдердің жекелеген түрлерінің биомассасы жұқпалы
- **аурулардың қоздырғыштары-вакцина** өндіруге арналған антигендердің көздері
- трансгенді м/о немесе адамға тән ақуыз гормондарын, спецификалық емес иммунитеттің ақуыз факторларын және т. б. өндіретін жасушалар.

3) Микроорганизмдер

жоғары өсімдіктер – ББЗ алу үшін шикізат ;

Жануарлар - сүтқоректілер, құстар, бауырымен жорғалаушылар, қосмекенділер, буынаяқтылар, балықтар, ұлулар, адам

Трансгенді организмдер

Биотехнология қолданатын биологиялық объектілер немесе жүйелер ретінде ең алдымен бір жасушалы микроорганизмдерді, сондай-ақ жануарлар мен өсімдіктерді атау керек.

Бұл нысандарды таңдау келесі тармақтарға байланысты:

Жасушалар - бұл өмір сүру процесінде әртүрлі құнды өнімдерді шығаратын "биофабрикалар": ақуыздар, майлар, көмірсулар, дәрумендер, нуклеин қышқылдары, амин қышқылдары, антибиотиктер, гормондар, антиденелер, антигендер, ферменттер, спирттер және т. б.

Бұл өнімдердің көпшілігі адам өмірінде өте қажет, шикізаттың жетіспеушілігіне немесе жоғары құнына немесе технологиялық процестердің күрделілігіне байланысты "техникалық емес" тәсілдермен алу мүмкін емес.

2. Жасушалар өте тез көбейеді. Сонымен, бактериялық жасуша әр 20-60 минут сайын, ашытқы - әр 1,5-2 сағат сайын, жануар – 24 сағаттан кейін бөлінеді, бұл салыстырмалы түрде қысқа уақыт ішінде салыстырмалы түрде арзан және жетіспейтін қоректік ортада жасанды түрде өсуге мүмкіндік береді. микробтардың, жануарлардың немесе өсімдік жасушаларының биомассасының үлкен мөлшері.

Мысалы, 2-3 күнде сыйымдылығы 100 м³ биореакторда. сіз 1016-1018 микробтық жасушаларды өсіре аласыз. жасушалардың тіршілік әрекеті процесінде оларды өсіру кезінде сәрсенбіде көптеген құнды өнімдер келеді, ал жасушалардың өзі осы өнімдердің қоймалары болып табылады.

3. Ақуыздар, антибиотиктер, антигендер, антиденелер және т.б. сияқты күрделі заттардың биосинтезі химиялық синтезге қарағанда айтарлықтай үнемді және

технологиялық жағынан қол жетімді.

Сонымен қатар, биосинтездің бастапқы шикізаты синтездің басқа түрлеріне қарағанда қарапайым және қол жетімді. Биосинтез үшін ауылшаруашылық, балық, тамақ өнеркәсібінің қалдықтары, өсімдік шикізаты, ашытқы, ағаш, меласса және т.б. қолданылады.).

4. Өнеркәсіптік масштабта биотехнологиялық процесті жүргізу мүмкіндігі, яғни тиісті технологиялық жабдықтың болуы, шикізаттың қолжетімділігі, өңдеу технологиясы және т. б.

Биообъект функциясы - мақсатты өнімнің толық биосинтезі, оның ішінде бірқатар дәйекті ферментативті реакциялар немесе мақсатты өнімді алу үшін маңызды болып табылатын бір ғана ферментативті реакцияның катализі.

Мақсатты өнімнің толық биосинтезін жүзеге асыратын **биообъект өндіруші** деп аталады.

Жеке фермент болып табылатын немесе биотехнолог қолданатын бір ферментативті реакция қызметін атқаратын **биообъект өнеркәсіптік биокатализатор** деп аталады.

Осылайша, биообъектілерге макромолекулалар да, микро және макроорганизмдер де жатады.

Бастапқы шикізатты белгілі бір түрлендіруді жүзеге асыра алатын және қажетті өнімді құра алатын **биологиялық объект** – биотехнологиялық процестің **негізгі буыны**

Биотехнология нысандары - бұл жасушалар

- микроорганизмдер
- жануарлар мен өсімдіктер
- Трансгенді жануарлар
- өсімдіктер
- көпкомпонентті жасушалардың ферменттік жүйелері және жеке ферменттер

Биотехнологиялық процестердің **негізінде-Микробтық синтез** (микроорганизмдердің көмегімен әртүрлі биологиялық белсенді заттардың синтезі).

Объекты растительного и животного происхождения не нашли столь широкого применения.

Биотехнологиялық процесті әзірлеудің бастапқы кезеңі

организмдердің таза өсірінділерін (микроорганизмдер жағдайында)

жасушалар немесе ұлпаларды (өсімдіктер мен жануарлар) алу

Микробтық жасушалар мен өсімдіктер мен жануарлар тіндерінің культуралары бір-бірінен әдістемелік тұрғыдан ерекшеленбейді.

Қазіргі уақытта микроорганизмдердің 100 мыңнан астам түрі белгілі

Прокариоттар (бактериялар, актиномицеттер, риккетсиялар, цианобактериялар)

Эукариоттар (ашытқы, жіп тәрізді саңырауқұлақтар, кейбір протозоа, балдырлар).

Микроорганизмдердің алуан түрлілігімен өте маңызды және көбінесе күрделі мәселе - қажетті өнімді алуға, яғни өнеркәсіптік мақсаттарға қызмет етуге қабілетті ағзаны дұрыс таңдау.

Биообъектілер ретінде қазіргі заманғы биотехнологиялық өндірісте **прокариоттар** мен **эукариоттардың** микробтық жасушалары үстем жағдайға ие.

Пробиотиктер - микроорганизмдердің жекелеген түрлерінің биомассасына негізделген препараттар асқазан-ішек жолдарының микрофлорасын бұзу үшін дисбактериоздарда қолданылады. Вакциналар өндірісінде микроорганизмдер де қажет.

Сонымен, гендік инженерия әдістерімен микробтық жасушаларды адамдарға тән ақуыз гормондарының, спецификалық емес иммунитеттің ақуыз факторларының және т. б. өндірушілеріне айналдыруға болады.

Биотехнологиядағы классикалық тәсіл - қажетті микроорганизмді табиғи жағдайлардан бөлу

Алдымен **жинақтаушы дақылдар** алынады: материалдың үлгілері табиғи мекендеу

орындарынан алынады және таңдаулы ортаға себіледі.

Содан кейін микроорганизмді одан әрі зерттей отырып, **таза культураны** бөледі.

Биотехнологиялық объектіні таңдаудың **басты критерийі** - мақсатты өнімді синтездеу мүмкіндігі.

Микробиологиялық өнеркәсіп үшін микроорганизмдер селекциясында жасушадағы реттеуші процестердің өзгеруі маңызды (Кері байланыс принципіне негізделген)

Биохимиялық реакциялар жылдамдығының өзгеру жолдары :

Жеке фермент молекулаларының каталитикалық белсенділігінің өзгеруі (бірнеше секунд немесе минут).

Ферменттер синтезі жылдамдығының өзгеруі (ұзақ жол)

Ретроингибирлеу әдісімен жасушадағы метаболикалық реакциялардың белсенділігін реттеу

Бұл жасушадағы метаболикалық реакциялардың белсенділігін реттеудің ең көп таралған әдісі.

Көптеген бастапқы метаболиттердің биосинтезі осы биосинтетикалық жолдың соңғы өнімі концентрациясының жоғарылауымен осы жолдың алғашқы ферменттерінің бірінің белсенділігін тежейтіндігімен сипатталады.

4. **Иллюстрациялық материал:** презентация.

5. **Әдебиет:** 1-қосымшада ұсынылған.

6. Бақылау сұрақтары:

1. Биообъект өндіріс құралы ретінде.
2. Биологиялық объектілердің жіктелуі, олардың қасиеттері.
3. Штаммдарды жақсарту мүмкіндіктері, суперпродуценттер және олардың ерекшеліктері.
4. Биотехнология әдістері. Мақсатты өнімдердің бағытталған биосинтезінің физиологиялық тәсілдері.
5. Қоректік орта және шикізат сапасының критерийлері.
6. Беттік өсіру. Культураларды сақтау. Терең өсіру (ашыту).
7. Биотехнологиялық жүйелердегі биообъектілердің жұмыс шарттары.

ОҢТҮСТІК-ҚАЗАҚСТАН MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Дәрілер технологиясы кафедрасы «Фармацевтикалық биотехнология» пәні бойынша дәріс кешені	044-43/ - (2023-2024) Стр. 10 из 19

№ 3 ДӘРІС

Тақырыбы: Биотехнологиялық өндірістің құрылымы. Биотехнологиялық Өндірістің процестерімен аппараттары. Өткізу шарттары және аппаратура. БТ өндірісінің принципі және технологиялық сызбасы. БТ процесінің негізгі параметрлерін бақылау және басқару

2. Мақсаты: білім алушыларды биотехнологиялық өндірістің құрылымы, биотехнологиялық өндіріске арналған жабдықтармен, ферменттерлермен, БТ процесінің негізгі параметрлерін бақылау және басқару тәсілдерімен таныстыру.

3. Дәріс тезистері:

1. Биотехнологиялық өндірістің процестері мен аппараттары. Өткізу шарттары және аппаратура.
2. Биотехнологиялық өндірістің принциптік технологиялық схемасы.
3. Биотехнологиялық процестің негізгі параметрлерін бақылау және басқару.

Биотехнологиялық жүйе (БТЖ) бұл биосинтез арқылы белгілі бір өнімді шығару үшін құрылған технологиялық кешен

- культура
- бұл жасанды жағдайда өсетін жасушалар немесе организмдер.
- штамм
- бұл әртүрлі мекендейтін жерлерден оқшауланған микроорганизмдердің бір түрінің культурасы.
- клон
- жыныссыз көбею арқылы жалпы ата-бабадан шыққан жасушалардың немесе жеке тұлғалардың жиынтығы.
- Популяция (от лат. populus - халық)
- ортақ гендік қоры бар және белгілі бір аумақты алып жатқан бір түрдің жеке тұлғаларының жиынтығы.

Биотехнологиялық өндіріс

Биотехнологиялық өндіріс - бұл дәйекті орындалатын кезеңдер, олардың саны, реттілігі мен ерекшелігі көптеген факторлармен анықталады: қолданылатын биообъектінің ерекшеліктері, шикізат, мақсатты өнімнің сипаты.

Өндіріс сатылары

Технологиялық схемалардың алуан түрлілігіне қарамастан, олардың барлығы бірқатар жалпы кезеңдерді қамтиды. Оларға жатады:

- егу материалын (инокулятты) дайындау;
- биообъектіні культивациялау үшін қоректік ортаны дайындау;
- негізгі кезең - биообъектіні культивациялау (өсіру);
- мақсатты өнімді алу.

Микроорганизмдердің белсенді өсуі үшін қоректік ортаға биогендік элементтер енгізіледі: көміртегі, азот және фосфор, сондай - ақ макро-және микроэлементтер (негізінен тыңайтқыштар немесе техникалық тұздар түрінде). Сондай-ақ температура, ортаның рН, қуат көздерінің концентрациясы, аэрация деңгейі белгілі бір деңгейде сақталады.

Өнеркәсіптік жағдайда көміртек көзі ретінде жеке органикалық қосылыстардан басқа (глюкоза, сахароза, лактоза және т.б.) күрделі органикалық субстраттар қолданылады – әдетте тамақ өнеркәсібінің, ауылшаруашылығының және өнеркәсіптің басқа түрлерінің қалдықтары

БТЖ негізгі компоненттері

Органикалық өнімдерді биотехнологиялық әдістермен өндірудің химиялық

әдістерден артықшылығы

Акуыздар, антибиотик және т.б. сияқты көптеген күрделі органикалық молекулаларды химиялық жолмен синтездеу мүмкін емес.

Биоконверсия мақсатты өнімнің едәуір көп шығуын қамтамасыз етеді.

Биологиялық жүйелер төмен температурада, рН-ның төмен мәндерінде (бейтарапқа жақын) және т. б. жұмыс істейді.

Каталитикалық биологиялық реакциялар химиялық Катализ реакцияларына қарағанда әлдеқайда ерекше.

Биологиялық процестер химиялық синтез реакцияларында жиі кездесетін сияқты, олардың қоспаларын емес, тек бір типтегі таза изомерлердің өндірісін қамтамасыз етеді.

Химиялық әдістермен салыстырғанда биологиялық әдістердің бірқатар кемшіліктері бар:

- Биологиялық жүйелер сыртқы қалаусыз микрофлорамен оңай ластануы мүмкін.
- Биологиялық жолмен синтезделген мақсатты өнім өте күрделі қоспада болады, бұл оны қажетсіз заттардың қоспасынан бөлуді қажет етеді.
- Биотехнологиялық өндірістер көп мөлшерде суды қажет етеді, оны қоршаған ортаға тастау арқылы алып тастау керек.
- Биопроцестер әдетте стандартты химиялық процестермен салыстырғанда баяу жүреді.

Типтік биотехнологиялық процестің сызбасы

- Үлгілік технологиялық процестің негізгі кезеңдері
- Белгілі бір штамм-продуцентті пайдалана отырып, себу материалын дайындау
- Қоректік ортаны дайындау және зарарсыздандыру
- Ферментациялау
- Мақсатты өнімді бөлу және оның тауарлық нысанын алу
- Биотехнологиялық процестің қосалқы сатылары
- Жабдықтар мен коммуникацияларды зарарсыздандыру
- Ауаны тазарту және зарарсыздандыру
- Көбіктендіргіштерді және басқа да түрлі қоспаларды дайындау және зарарсыздандыру
- Продуценттердің штаммдары. Егу материалын дайындау кезеңі.

Кез келген биотехнологиялық процестің негізгі элементі штамм-өндіруші болып табылады.

Биологиялық белсенді заттардың (ББЗ) барлық өнеркәсіптік маңызды продуценттері жасуша дақылдары Ұлттық музей коллекцияларында сақталады

Соңғы жылдары биотехнологияның қарқынды дамуына байланысты коллекциялардағы генетикалық ресурстардың сақталуына байланысты жағдай күрт өзгеруде

Біріншіден, генетикалық ресурстардың жаңа түрлері пайда болады - гендер мен ДНК кітапханалары.

Екіншіден, ғылыми қызмет процесінде құрылған ресурстар саны күрт артады.

Үшіншіден, әртүрлі организмдердің генетикалық материалы жаңа дәрі-дәрмектерді, биотехнологияларды және басқа да тауарлар мен қызметтерді жасау үшін белсенді қолданылады.

Генетикалық және биологиялық материалдарды сақтауды қамтамасыз ететін коллекциялар тәуелсіз мамандандырылған ұйымдармен ұсынылған

- Ботаникалық бақтар;
- ғылыми-зерттеу ұйымдарының құрылымдық бөлімшелері (микроорганизмдер және жасушалық дақылдар коллекциялары);

- генетика және селекция саласындағы зерттеулер жүргізетін зертханалардың жұмыс коллекциялары;
- сондай-ақ генетикалық материалды сақтау негізгі функция болып табылмайтын бірқатар ұйымдар (питомниктер, Сент-Джон сусланы, хайуанаттар бағы және т.б.).

Мұражай коллекцияларында жасуша культуралары негізінен лиофилизацияланған күйде сақталады (оларды қорғаныш ортаға /сахароза-желатин, майсыз сүт, бұқа немесе жылқы сарысуларына немесе т.б./ орналастырғаннан кейін) 10-30 жыл.

Өндірушілерді сақтау үшін дақылдарды минералды май қабаты астында, стерильді топырақта, кварц құмында, белсендірілген көмірде, кептірілген қоректік субстраттарда және т. б. сақтау сияқты әдістер де қолданылады.

Өндірушілер жасушаларының мұражай дақылдары агаризацияланған байытылған қоректік ортаға себу арқылы жандандырылады.

Бірнеше өткелден (қайта егуден) кейін дақылдар сақтау үшін және өндіріс процесінде бастапқы тұқым ретінде қолданылады.

Кесте бойынша зертханада сақталатын продуцент жасушаларының өсірінділерінің (культура) тазалығы мен өнімділігіне бақылау жүргізіледі.

1. Биотехнологиялық процестің бірінші кезеңі - зертханалық жағдайда тұқым алу.

Ол үшін продуцент культурасын шабылған агаризацияланған қоректендіру ортасынан шайындыны 50-100 мл стерильді себу қоректік ортасымен толтырылған тербелмелі колбаларға (Эрленмейер колбасы, 750 мл) стерильденеді. Себілген колбалар микробиологиялық тербелетін орынға (180-220 айн/мин) орнатылады және продуцент культурасы ол үшін оңтайлы температурада 12-48 сағат бойы өсіріледі.

Колбаларда өсірілген сұйық стерильді себу материалын қоректік ортаның жалпы көлемінің 1-10% есебінен стерильді қоректік ортасы алдын ала тиелген егу аппараттарына (инокуляторларға) ауыстырады

Егер тұқымның көп мөлшерін алу қажет болса, ол бірнеше сатыда колбаларда және/немесе өсіп келе жатқан көлемнің бірнеше инокуляторларында өсіріледі. Тұқым өсіру сатыларының саны ферментаторлардың көлеміне және тұқым шығынын тұтынуға байланысты.

Әдетте, көлемі 0,1 ден 10 м³ дейінгі инокуляторларды қолданады. Себу материалын алудың әр кезеңінде оны микроскоппен және стерильділікпен бақылайды.

Себу материалын өсіру ортасы, әдетте, ферментациялық ортаға сәйкес келмейді, яғни. Сбу материалын өсіру кезінде биомассаның тез өсуі үшін ортаны байыту керек.

Соңғы кезеңде алынған вегетативті тұқым стерильді ферментациялық ортаға жүктелген ферментаторға стерильді түрде жіберіледі

Қоректік ортаны дайындау сатысы

Өндірістік жағдайда қоректік орта әдетте кәсіпорынның барлық шеберханаларының қажеттіліктерін қамтамасыз ететін жеке шеберханада дайындалады.

Қоректік орталар араластырғыштармен және жылу алмастырғыштармен жабдықталған арнайы контейнерлерде (араластырғыштарда) қоршаған орта компоненттерін жылыту және жақсы еріту үшін дайындалады.

Қоректік орта компоненттері араластырғыштарға белгілі бір ретпен жүктеледі (жазбаға сәйкес).

Қажет болса, шикізаттың жекелеген түрлері алдын-ала өңделеді: ұнтақтау, экстракциялау және т. б.

Қоректік орта әдетте шоғырланған түрде дайындалады. Ортаның қатты компоненттерін мұқият ұсақтауға және қалған компоненттерді толығымен ерітуге ерекше назар аударылады.

Бұл стерилдеудің сенімділігін қамтамасыз ету және жасуша дақылдарының қоректік орта компоненттерін тұтынуын жеңілдету үшін қажет.

Дайындалған қоректік орта зарарсыздандырылады. Стерилизацияның ең көп таралған және әмбебап әдісі-жоғары температураны қолдануға негізделген әдіс.

Микроорганизмдер жасушалары, сондай-ақ олардың споралары қоректік ортада қолданылатын химиялық заттарға қарағанда жылу әсеріне сезімтал.

Іс жүзінде зарарсыздандырудың басты мақсаты - қоректік ортаның сапасын сақтай отырып, зарарсыздыққа қол жеткізу.

Экспозицияның ұзақтығы немесе экспозиция уақыты – бұл микроорганизмдер өлетін, бірақ қоректік ортаның сапасы сақталатын уақыт аралығы.

Қоректік ортаны термиялық стерилизациялау (оны жүргізу әдісі бойынша) мерзімді және үздіксіз болып бөлінеді

Мерзімді зарарсыздандыру әдісімен процестер - қоршаған ортаны жылыту, ұстау және салқындату-бір құрылғыда уақыт өте келе жүреді. Бұл ферменттер, егу машинасы немесе арнайы стерилизатор болуы мүмкін.

Қыздыру процесінің өзі қоректік ортаға ("өткір" бу) температурасы 130-135 С дейін қызып кеткен бу ағынын тікелей енгізу (инъекция) немесе аппараттың жылу күртешесіне ("саңырау" бу) бу беру арқылы жүзеге асырылады.

Стерилизацияның үздіксіз әдісімен әрбір қарапайым процесс - қыздыру, ұстау және салқындату-бұл үшін арнайы жасалған аппараттарда жүзеге асырылады: үздіксіз стерильдеуге арналған аппараттар жүйесін құрайтын жылытқыш, шыдағыш, жылу алмастырғыш – үздіксіз стерильдеу қондырғысы (ҮСҚ).

Ол үшін дайындалған қоректік орта ашыту цехына жіберіледі, онда ол ҮСҚ-да стерильденеді, содан кейін ол алдын ала стерильденген ферменттерлерге түседі.

Ашыту (ферментация) -биотехнологиялық процестің негізгі кезеңі

Ашыту кезеңінде мақсатты өнімнің - биомасса мен метаболизм өнімдерінің жинақталуы жүзеге асырылады.

Қазіргі уақытта ең көп таралған-сұйық қоректік ортада асептикалық аэробты жағдайда өндіруші жасушаларды мерзімді өсіру (терең ашыту).

Ашыту (ферментация) әдетте биореакторларда 0,01-ден 100 м³-ге дейін жүзеге асырылады.

Технологиялық процесті аппаратуралық ресімдеу. Биореакторлар.

Биологиялық өнімдердің өнеркәсіптік өндірісі өзара байланысты физикалық, химиялық, биофизикалық, биохимиялық, физика-химиялық процестердің күрделі кешені болып табылады және технологиялық желілерді құрайтын материалдық, энергетикалық ағындармен өзара байланысты әртүрлі жабдықтардың көп мөлшерін қолдануды қамтиды.

Биотехнологиялық процестің негізгі аппаратуралық элементі биореактор — ферменттер болып табылады.

Биореакторлар микроорганизмдерді өсіруге, биомассаны сақтауға, мақсатты өнімді синтездеуге арналған. Биореакторлар болаттың жоғары маркаларынан, кейде титаннан жасалады. Биореактордың ішкі бетін жылтырату керек.

Типтік ферменттерлер штуцерлер мен таратушы құрылғылардың ең аз саны бар әртүрлі сыйымдылықтағы (шағын — 1 – ден 10 л-ге дейін, көп тонналы-1000 л-ден астам) тік сыйымдылықтар болып табылады.

Биореакторларда оңтайлы гидродинамикалық және масса алмасу жағдайлары қамтамасыз етілуі тиіс.

Биореактор типі, аппараттың және оның жекелеген тораптарының ішкі қабырғаларын өңдеу тазалығы, сыйымдылық, толтыру коэффициенті, жылу беру беті, жылуды бұру тәсілі, араластырғыш, аэрациялайтын құрылғылардың түрі, арматура және

тиек құрылғылары, көбікті сөндіру тәсілі-бұл жеке және өзара байланыста микроорганизмдер мен жасушаларды культивациялау процесіне әсер ететін жекелеген элементтердің толық тізбесі емес

- Биореакторлар үш негізгі топқа бөлінеді
- механикалық араластыратын реакторлар;
- ішіндегісін араластыру үшін ауа өткізетін барботаждық колонналар;
- ішкі немесе сыртқы айналымы бар эрлифтық реакторлар;
- олардағы культуралық ортаның араласуы мен айналымы ауа ағынымен қамтамасыз етіледі, соның арқасында культуралық ортаның жоғарғы және төменгі қабаттары арасында тығыздық градиенті пайда болады.

Бірінші типтегі биореакторлар жиі қолданылады, өйткені олар технологиялық жағдайларды оңай өзгертуге және микроорганизмдердің даму сипатын және олардың биосинтетикалық белсенділігін анықтайтын өсіп келе жатқан жасушаларға ауаны тиімді жеткізуге мүмкіндік береді.

Сол мақсатта араластырғыштар қолданылады-бір немесе бірнеше.

Ауаның таралу тиімділігі араластырғыштың түріне, айналу санына, ортаның физика-химиялық қасиеттеріне байланысты.

Культуралық ортаны қарқынды араластыру кезінде ол көбіктенеді, сондықтан биореактордың жұмыс көлемі жалпы көлемнің 70% аспайды.

Ерітінді бетіндегі бос кеңістік көбік жиналатын буфер ретінде қолданылады, осылайша культуралық сұйықтықтың жоғалуына жол берілмейді.

Сонымен қатар, көбіктену ауа биореактордан шығатын тесіктердегі сүзгілердің батпақтануына, ауа ағынының төмендеуіне және ферменттерге бөгде микроорганизмдердің енуіне әкелуі мүмкін.

Биореакторды зарарсыздандыру үшін қысым асты бу қолданылады. Биореактордың ішінде зарарсыздандыру кезінде бу жетпейтін "өлі аймақтар" болмауы керек.

Стерильділік асептикалық жағдайда жұмыс істейтін биотехнологиялық жабдықты герметизациялаумен қамтамасыз етіледі.

Жасуша дақылдарын ластайтын негізгі агенттер-бактериялар, ашытқылар, саңырауқұлақтар, қарапайымдылар, микоплазмалар, вирустар.

Ластану көздері-ауа, шаң, қоректік орта, жұмыс ерітінділері, жабдық, жұмысшы персонал.

Микроорганизмдер мен аэрозоль бөлшектерінен ауаны тазарту компрессордың алдындағы сору желісіне Орнатылатын алдын ала тазарту сүзгілері (аралас тереңдік сүзгілері – Қағаз, картон, мата материалдары) арқылы жүзеге асырылады

Терең өсіру қондырғылары биореактордағы және оның көйлегіндегі қысымды қашықтықтан өлшеу блоктарымен, ауамен немесе газ қоспасымен (оттегі мен азот, оттегі мен көмірқышқыл газы, ауа және көмірқышқыл газы, азот және көмірқышқыл газы) аэрация қарқындылығын қашықтықтан бақылау блоктарымен жабдықталған.

Автоматты басқару блогы биореактор мен арматураның бағдарламалық зарарсыздандырылуын, араластырғыштың айналу жылдамдығын және клапандар мен басқару клапандарының ашылуын немесе жабылуын қашықтан басқаруға мүмкіндік береді.

Өндірістік процесті бастамас бұрын бос ферментатор мұқият жуылады, оның тығыздығы тексеріліп, "өткір" бумен зарарсыздандырылады.

Стерильділікті қамтамасыз ету үшін ферменттерді химиялық дезинфекциялық заттармен алдын-ала өңдеу жиі қолданылады. Сонымен қатар, барлық іргелес коммуникацияларды зарарсыздандырады.

Содан кейін ферментер УНС-да (немесе басқа тәсілмен) стерильденген салқындатылған қоректік ортаға беріледі, себу материалы (1-10%) қоректік ортаның жалпы көлемінен стерильді түрде енгізіледі, аэрация және араластыру жүйелері қосылады.

Себу материалы берілгенге дейін қоректік ортаның температурасы мен рН осы дақыл үшін оңтайлы мәндерге жеткізілуі керек.

Өндіруші жасушаларды терең асептикалық өсіруге арналған ферментаторлар, әдетте, биіктігі диаметрінен 2,0-2,5 есе болатын тот баспайтын болаттан жасалған герметикалық цилиндрлік контейнерлер болып табылады.

Ферментерлерде турбина, пропеллер немесе басқа типтегі араластырғыштар орнатылады. Араластырғыштың диаметрі ферментер диаметрінің үштен бірін құрауы керек.

Өндірушілердің оңтайлы өсу температурасын ұстап тұру үшін ферментерлерде Қос корпус (көйлек) және/немесе катушкалар сияқты жылу алмастырғыштар бар.

Стерильденбеген атмосфералық ауаның ферментерге түсуін болдырмау үшін КЖ бетіндегі ауа қысымы 20-30 кПа-ға артады. Қажет болса, химиялық көбіктендіргіштер енгізіледі.

КЖ қарқынды көбіктену кезеңінде ферментерге стерильді көбіктендіргіш енгізіледі. Көбіктену үшін майлы (табиғи майлар және т.б.) және синтетикалық (силикондар, пропиолдар және т. б.) болып бөлінетін беттік-белсенді заттар (беттік-белсенді заттар) қолданылады.

Ферменттерде микроорганизмдерді өсіру ұзақтығы көптеген бактериялар үшін орта есеппен 18-48 сағ, актиномицеттер мен микроскопиялық саңырауқұлақтар үшін 200-250 сағ құрайды.

Ашыту кезінде температура, ортаның рН және басқа да параметрлер автоматты түрде реттеледі.

Арнайы кесте бойынша ферментатордан КЖ сынамаларын стерильді түрде іріктейді.

Ашыту процесінің аяқталуы өндіруші жасушаларының морфологиялық өзгерістерімен, қоректік ортаның компоненттерін тұтынумен және соңғы пайдалы өнімнің максималды жинақталуымен анықталады.

Өсіру процестерін бақылау және басқару

Басқарылатын өсірудің негізгі міндеті-өндірушілердің өсіп келе жатқан дақылдары үшін қолайлы жағдай жасау.

Алайда, өндірістік аппараттағы жасуша культурасының жай-күйін тікелей зерттеу мүмкін емес.

Сондықтан ашыту кезінде өндірушінің мәдениетінің физиологиялық жағдайы әртүрлі параметрлер бойынша жанама түрде бағаланады:

- продуцент культурасының өсу қарқыны,
- оттегі мен түрлі субстраттарды тұтыну,
- көмірқышқыл газын және метаболизмнің басқа да өнімдерін (оның ішінде мақсатты) бөлу, КЖ қышқылдану немесе сілтілену жылдамдығы (рН мәні бойынша), жылу бөлу және т. б.

Өсіру режимін сақтау және түзету үшін негізгі бақылау әсерлері аэрация және араластыру режимі, салқындатқышты беру, рН мөлшерін реттеу, көбік деңгейін ұстап тұру, субстраттың мөлшерлеу жылдамдығы болып табылады.

Өнеркәсіптік биотехнологияның проблемаларының бірі мамандандырылған датчиктердің болмауы болып табылады, өйткені автоматтандыру құралдары мен құралдарының жалпы өнеркәсіптік номенклатурасы көбінесе процестердің асептикалық жағдайларына сәйкес келмейді, бірнеше рет термиялық стерилизацияға төтеп бермейді,

биомасса, ауа көпіршіктері, май компоненттері, сұйық эмульсиялар мен қатты бөлшектерді қамтитын күрделі ферментациялық ортада жұмыс істей алмайды.

Субстратты мөлшерлеу Жоғарыда айтылғандай сорғылар, құбырлар және тиек арматурасы-биотехнологиялық өндірістің " тар " орны.

Асептикалық өндіріс жағдайында перистальтикалық немесе мембраналық сорғылар ең жақсы мөлшерлеу сорғылары болып табылады, онда жұмыс органы сұйықтықпен өткізбейтін мембрана арқылы өзара әрекеттеседі.

Дозалау бактарының көмегімен сорғыларсыз да мөлшерлеуге болады. Бұл ретте желілердегі қысым ферменттердегі қысымнан 1,5-2 атм артық болуы тиіс.

Ашыту аяқталғаннан кейін КЖ 10-15 С дейін салқындатылады және резервуарларға айдалады, олардан КЖ біртіндеп әрі қарай өңдеуге жіберіледі.

Ашытудан кейінгі барлық кезеңдерде мақсатты өнім өспейді, тек оны өңдеу жүзеге асырылады.

Кез келген биотехнологиялық өнімді бөлу және тазалау сатыларының мақсаты - мақсатты өнімнің ең аз шығынымен препараттың қажетті тауарлық нысанын алу.

Мақсатты биотехнологиялық өнімді бөлу және тазарту технологиясы мыналарға байланысты:

- өнім түрі (биомасса немесе мақсатты метаболиттер)
- өнімді оқшаулау (торларда немесе КЖ сүзгісінде)
- мақсатты өнімнің физика-химиялық қасиеттері

Тауарлық өнімнің негізгі бөлігін биотехнологиялық өнеркәсіп екі нысанда шығарады (үлгілік схемаға сәйкес):

- құрғақ өнім (ұнтақ, түйіршіктер, ұсақ бөлшектер немесе т. б.)
- сұйық өнім (концентраттар құрамында 50% дейін құрғақ заттар бар).

Биотехнологиялық процестің қосалқы сатыларының мақсаты (жабдықтар мен коммуникацияларды стерильдеу, ауаны тазарту және стерильдеу, көбіктендіргіштерді дайындау және стерильдеу және т.б.) – ферменттеуді жүргізудің асептикалық жағдайларын қамтамасыз ету.

Ашытудан кейінгі барлық сатылар әдетте зарарсыздандырылмаған жағдайларда (биофармацевтикалық өндірістерді қоспағанда) жүргізіледі.

Көбік кетіргіштерді және басқа қоспаларды зарарсыздандыру, жабдықтар мен коммуникацияларды зарарсыздандыру сияқты көмекші кезеңдерде вегетативті жасушалар да, споралар да өлетін термиялық зарарсыздандыру қолданылады.

Термиялық зарарсыздандыруды іс жүзінде жүзеге асыру, ең алдымен, зарарсыздандырылатын затқа байланысты. Сонымен, бос құрылғылар мен коммуникациялар әдетте қысыммен қаныққан су буымен, әртүрлі сұйық орталармен – қысыммен қыздыру арқылы зарарсыздандырылады.

Коррозияға тұрақсыз жабдықтар мен аспаптар химиялық антисептиктерді қолдану арқылы немесе газдармен (мысалы, CO₂ немесе метил бромидімен қоспадағы этилен оксиді), спиртпен немесе т. б. өңдеу арқылы зарарсыздандырылады.

Қысыммен қаныққан су буы ең үлкен бактерицидтік әсерге ие!

Ауаны тазарту және зарарсыздандыру сияқты қосалқы кезеңдерде сүзу әдісі қолданылады.

Биотехнологиялық өндірістің маңызды және айрықша ерекшеліктерінің бірі стерильді ауаның көп мөлшерін алу болып табылады.

Ең үлкен масштабта стерильді ауа аэрация үшін өсіру процестерінде қолданылады. Аэробты өндірушілерді өсіру кезінде ауаның нақты шығыны минутына 1 м³ / м³ КДЖ құрайды.

Сығылған стерильді ауа өсірілетін дақылдарды аэрациялау және араластыру үшін ғана емес, сондай-ақ стерильді Сұйықтықтар мен таза дақылдарды бір реактордан екіншісіне беру үшін, сондай-ақ аппараттар мен коммуникацияларды үрлеу үшін қажет.

Сығылған стерильді ауа стерильді аймақ деп аталатын цехтардың бөліктерін желдету үшін де қолданылады, онда асептикалық жағдайларда, мысалы, дайын өнімді тазарту мен ораудың соңғы кезеңдері жүзеге асырылады.

Ауаны тазарту микроорганизмдерді жоюға немесе оларды жоюға негізделген түбегейлі әртүрлі әдістермен жүзеге асырылуы мүмкін.

Ауаны зарарсыздандырудың ең тиімді әдістерінің бірі-ультракүлгін сәулелермен сәулелену. Бұл әдіс қораптардағы және технологиялық бөлмелердегі ауаны зарарсыздандыру үшін қолданылады .

Отандық және шетелдік зерттеушілер өнеркәсіпте талшықты және кеуекті материалдарды қолдана отырып, сүзгілердегі ауаның көп мөлшерін тазарту әдісі техникалық және экономикалық тұрғыдан тиімді екенін дәлелдеді. Осылайша 99,999% тазалық дәрежесі бар ауаны алуға болады.

Ауада тоқтатылған бөлшектер талшықты материалмен және инерциялық және диффузиялық тұндыру механизмдерінің арқасында сақталады.

4. Иллюстрациялық материал: презентация.

5. Әдебиет: 1-қосымшада ұсынылған.

6. Бақылау сұрақтары:

1. Биотехнологиялық өндірістің құрылымы.
2. Биотехнологиялық өндіріске арналған жабдық. Ферменттерлер.
3. Әр түрлі қосылыстардың биосинтезінің технологиялық параметрлері.
4. Биотехнологиялық өндірістерге арналған жағдайлар.
5. БТ процесінің негізгі параметрлерін бақылау және басқару

№ 4 ДӘРІС

Тақырыбы: Қазіргі биотехнологияның генетикалық негіздері. Молекулалық генетиканың негізгі түсініктері. Гендік инженерия әдістері және дәрілік препараттардың продуценттерін жасау.

2. Мақсаты: білім алушыларды биотехнологияның генетикалық негіздері және молекулалық генетиканың негізгі түсініктері таныстыру.

3. Дәріс тезистері:

1. Биотехнологияның генетикалық негіздері.
2. Молекулалық генетиканың негізгі түсініктері.
3. Геннің бастапқы құрылымы. Гендердің реттеуші және құрылымдық бөліктері.

Генетика - тұқым қуалаушылық және өзгергіштік туралы ғылым.

Ген - ДНҚ молекуласының бір бөлігін басқаратын фрагменті белгі немесе пептид .

Генотип - белгілі бір адамның барлық гендерінің жиынтығы.

Аллельдер - гомологиялық хромосомалардың белгілі бір учаскесінде орналасқан және бір белгінің дамуын анықтайтын сол геннің әртүрлі күйлері.

Гендік инженерия (немесе рекомбинантты ДНҚ технологиясы) – генетикалық материалды бір организмнен екіншісіне тасымалдауға мүмкіндік беретін эксперименттік процедуралардың жиынтығы.

Генетикалық ақпараттың негізгі тасымалдаушысы ДНҚ молекулалары болып табылады. Нуклеин қышқылдары туралы алғаш рет Ф.Мишер 1869 жылы 75 жылдан кейін, 1944 жылы, О. Т. Эвери және оның қызметкерлері тұқым қуалайтын ақпарат қоймасы ретінде қызмет ететін ДНҚ молекуласы екенін дәлелдеді.

1953 жылы Д.Уотсон мен Ф. Крик ДНҚ құрылымының моделін жасады, ал 1966 жылы М. Ниренберг, с. Очоа және Х.-Г. Коран генетикалық кодты ашып, нуклеин қышқылдарының метаболизміне қатысатын ферменттерді (лигазалар мен рестриктазалар) бөліп алды. ДНҚ-спиральға оралған қос жіп.

Әрбір жіп тізбектей жалғанған нуклеотидтерден тұрады. Әрбір ДНҚ нуклеотидінде төрт азотты негіздің бірі бар: гуанин (Г), аденин (А) (пуриндер), тимин (Т) және цитозин (с) (пиримидиндер)

Әрбір азотты негіз дезоксирибозамен байланысты, соңғысына өз кезегінде фосфат тобы қосылады. Көршілес нуклеотидтер бір-бірімен тізбекте 3'гидроксил (3'-ОН) және 5'-фосфат топтары (5' - RO₄) түзетін фосфодиэфирлік байланыс арқылы байланысады. Бұл қасиет ДНҚ-да полярлықтың болуын анықтайды, яғни қарама - қарсы бағытта, атап айтқанда 5' және 3'ұштары: бір жіптің 5'ұшы екінші жіптің 3'ұшына сәйкес келеді.

ДНҚ-ның қайталама құрылымы іргелес сутектік байланыс тізбектерінің азотты негіздері арасында пайда болу арқылы түзіледі. Бұл жағдайда нуклеин қышқылдарының негіздері әрқашан бірдей әрекеттеседі: аденин негізі әрқашан тиминмен әрекеттеседі, ал цитозин негізі әрқашан гуанинмен әрекеттеседі. Осылайша, комплементарлық принципі жүзеге асырылады.

Функционалды ақуыздарды немесе РНҚ-ны кодтайтын қатаң спецификалық нуклеотидтер тізбегі бар жеке генетикалық элементтер гендер болып табылады. Ген-ақуыздың бастапқы құрылымы (аминқышқылдарының саны мен тізбегі) туралы генетикалық ақпаратты кодтайтын бірнеше жүзден миллион жұп нуклеотидтердің ДНҚ нуклеотидтерінің тізбегі.

Гендік инженерия организмнен тыс жасанды генетикалық жүйелерді мақсатты түрде жобалауға және оларды жаңа ағзаны құру (немесе бар организмді өзгерту) мақсатында тірі организмге енгізуге негізделген. Бұл гендердің бір бөлігін бір организмнің ДНҚ молекуласынан (донорлық ДНҚ) арнайы ферменттер арқылы кесіп алып, екіншісіне, реципиентке, ағзаға беруге болатындығын көрсетеді. Гендердің мұндай тасымалдануы трансгенез деп аталады, ал ДНҚ-ға бөгде гендер енгізілген организмдер трансгендік деп аталады. Тасымалдау үшін қолданылатын генетикалық құрылымдар рекомбинантты ДНҚ деп аталады.

Оларға донорлық ДНҚ фрагменті (клондалған ДНҚ) және векторлық ДНҚ (клондалған ДНҚ-ны тасымалдауға және ендіруге жауап беретін вектор) кіреді. Рекомбинантты ДНҚ реципиент организмнің генетикалық аппаратының құрамдас бөлігіне айналады және оған жаңа

бірегей қасиеттер береді.

Рекомбинантты ДНҚ құрылысында қолданылатын ферменттер. Рекомбинантты ДНҚ технологиясында қолданылатын ферменттердің көпшілігі бактериялардың жасушаларынан бөлініп, прокариоттық және эукариоттық жасушалардың ДНҚ фрагменттерін "кесу" және "айқастыру" үшін қолданылады.

Бұл ферменттерді бірнеше топқа бөлуге болады:

ДНҚ фрагменттері (рестриктазалар) "кесілетін" ферменттер;

ДНҚ (полимераза ДНҚ) немесе РНҚ (кері транскриптазалар, ревертазалар) үлгісіндегі ДНҚ синтездейтін ферменттер;

ДНҚ (лигаза)фрагменттерін байланыстыратын ферменттер; ДНҚ фрагменттерінің ұштарының құрылымын өзгертетін ферменттер.

Рестриктазалар (рестрикциялар эндонуклеазалары) – ДНҚ фрагменттерін "кесетін" ферменттер. Eco RI-дің алғашқы рестриктазасы E. coli-ден оқшауланған. Бұл жоғары спецификалық ферменттер ДНҚ молекуласындағы азотты негіздердің белгілі бір тізбегін таниды және ыдыратады (Рестриктазалар сайттары).

Рестриктазалардың әрекеті нәтижесінде, әдетте, ДНҚ фрагменттері (рестриктары) түзіледі, яғни, ұштарында бір тізбек екіншісінен ұзынрақ болады, бұл өзіндік "күйрықты"кұрайды. Мұндай ұштар (күйрықтар) "жабысқақ" ұштар деп аталды, өйткені олар өзін-өзі толықтыра алады. Рестрикция нәтижесінде "доғал" ұштар да пайда болуы мүмкін (8.1-сурет).

Кері транскриптазалар, ДНҚ полимеразалары-ДНҚ үлгісіндегі ДНҚ синтездейтін ферменттер. Гендік инженерияда E. coli (Poli) жасушаларынан оқшауланған ДНҚ полимераза I жиі қолданылады. Фермент молекулалық салмағы 103 кДа болатын мономерлі полипептидтік тізбектен тұрады және 3 домендік құрылымға ие. РНҚ-ға тәуелді ДНҚ полимераза (ревертаза) – мРНҚ негізіндегі ДНҚ-ның комплементарлы тізбегін синтездеу үшін қолданылатын фермент.

Лигазалар-бір фрагменттің 3'-гидроксил терминал тобы мен басқа фрагменттің 5' - фосфат тобы арасында түзілетін фосфодиэфирлік байланыстар арқылы ДНҚ фрагменттерін "байланыстыратын" ферменттер.

Қолданыстағы лигазалардың екі түрінің ішінен ДНҚ фрагменттерін өзара байланыстыру үшін әдетте "жабысқақ" және "доғал" ұштарын біріктіре алатын эмбебап T4 фаг лигазасы қолданылады. ДНҚ лигазалары ДНҚ жөндеу және репликация процестерінде табиғи жағдайда қажет.

ДНҚ фрагменттерінің ұштарының құрылымын өзгертетін ферменттер, мысалы, ДНҚ молекуласының сызықтық фрагментінен 5'фосфат топтамаларын бөлетін сілтілі фосфатаза болып табылады, бұл ДНҚ фрагменттерінің кездейсоқ, қажетсіз комбинацияларының санын айтарлықтай азайтады.

Val 31 нуклеазасы-ДНҚ тізбегінен нуклеотидтерді спецификалық емес түрде алып тастайтын фермент. Бұл ДНҚ-ның асимметриялық ұштарын "күнгірттеуге" немесе ДНҚ фрагменттерін қысқартуға, олардың функционалды маңызды элементтерін жақындастыруға мүмкіндік береді.

Трансгенді организмдерді құрудың негізгі кезеңдері

Трансгенді ағзаны құру процесін бірнеше жалпы кезеңдерге бөлуге болады.

1. Тасымалдауға арналған қажетті генді (трансгенді) алу (оқшаулау).
2. Рекомбинантты ДНҚ (РДНҚ) құрылысы.
3. Генетикалық трансформация, яғни трансгенді қамтитын кДНҚ-ны реципиент жасушаларына беру және қосу.
4. Молекулалық селекция-трансформанттарды, яғни рекДНҚ тасымалдайтын клондарды таңдау.

I кезең. Генді табиғи көздерден (сәйкес геномнан) немесе геномдық кітапханадан оқшаулауға болады;

жасанды – химиялық (қолда бар нуклеотидтер тізбегі бойынша) немесе ферментативті (кері транскрипция механизмін қолдана отырып) синтезделген.

ДНҚ фрагментациясын (рестрикциясын) жүргізгеннен кейін қоспадан ДНҚ фрагменттері (ДНҚ рестрикттері) бөлінеді.

ДНҚ-ны бөлу үшін шектеулер электрофорезге жүгінеді. Бөлу мөлшері мен тұрақты қатынастарының айырмашылығына негізделген электр заряды-масса.

II кезең. Рестриктаза әсерінен кейін алынған және құрамында белгілі бір гендер бар рекомбинантты ДНҚ мен вектордың фрагменттері фрагменттердің қай ұштарында "доғал" немесе "жабысқақ" екеніне байланысты үш негізгі әдістің бірімен "тігіледі".

Аттас "жабысқақ" ұштармен тігу (рестриктаза–лигаза әдісі) бұл әдіс ең кең таралған және танымал. Базалық жұптасу тек комплементарлы тізбектер арасында жүреді, сондықтан Eco RI түзетін ААТТ ұштары, мысалы, Hind III түзетін АГЦТ ұштарымен жұптаспайды.

Бірақ, бір рестриктазаның әсерінен пайда болған кез келген екі фрагмент (олардың шығу тегіне қарамастан) комплементарлы нуклеотидтерден тұратын бір тізбекті аймақтар арасында сүтегі байланыстарын қалыптастыру арқылы "бір-біріне жабысып" қалуы мүмкін.

Доғал" ұштармен тігу (коннектор әдісі).

"Доғал" ұштарды ДНҚ лигазасының әрекеті арқылы қосуға болады, егер фермент те, "доғал" ұштар да реакция қоспасында жоғары концентрацияда болса.

Бұл жағдайда байлау реакциясының өзіндік ерекшеліктері бар және оның тиімділігі "жабысқақ" ұштарға "тігуге" қарағанда төмен.

Фрагменттерді әртүрлі "жабысқақ" ұштарымен тігу әр түрлі шектеу эндонуклеазаларынан түзілген және әртүрлі, яғни бір-біріне комплементарлы емес "жабысқақ" ұштары бар фрагменттерді тігу қажет болған жағдайда линкерлер (немесе «ұластырғыш») қолданылады.

Линкерлер-бұл химиялық синтезделген олигонуклеотидтер, олар шектеу орындары немесе екеуінің тіркесімі болып табылады.

III кезең. Жасушаға жаңа (рекомбинантты) генді енгізу екі жолмен жүзеге асырылуы мүмкін: векторды қолдану немесе тікелей енгізу арқылы.

Вектор-ДНҚ немесе РНҚ молекуласы, оған енгізілген бөгде гендерді жасушаға тасымалдауға қабілетті, онда бұл молекулалар автономды түрде немесе геноммен (хромосомамен) интеграцияланғаннан кейін репликацияланады.

Векторлар белгілі бір қасиеттерге ие болуы керек:

- трансформацияланған жасушаларды бастапқы жасушалардан ажыратуға мүмкіндік беретін маркер гендерінің болуы: бұл селективті (жасушаларға антибиотиктерге, гербицидтерге төзімділік береді) немесе репортер (жасушалар осы гендердің өнімдерінің түсінің өзгеруіне ыңғайлы түрде тексеріледі) гендер болуы мүмкін;
- бактерия жасушасында экспрессия үшін бөгде генді орналастыруға қажет тиісті промотордың болуы.

Векторлардың бірнеше түрі бар: бактериялық плазмидалар, вирустар және т. б.

Құрамында фаг ДНҚ мен плазмидалар бар гибридті векторлар бар. Оларға, мысалы, космидтер мен фазмидтер жатады. Сонымен қатар, хлоропласт және митохондриялық ДНҚ векторлар ретінде қолданыла алады.

ДНҚ сегменттері қызығушылық тудырады, олар ДНҚ-ның бір сайтынан екіншісіне өздерінің транспозициясын (қозғалысын) бастапқы сайттан кесіп, жаңа сайтқа хромосома немесе плазида – транспозондар енгізу арқылы басқарады.

Ашытқылар мен бактериялардың жасанды хромосомаларын векторлық молекулалар ретінде де қолдануға болады.

Жасушаға гендерді тікелей енгізу әдістері

Әртүрлі организмдердің жасушаларына генетикалық материалды енгізу үшін тікелей тасымалдаудың бірқатар жалпы әдістері қолданылады, мысалы: трансформация, трансдукция, трансфекция, микроинъекция, электропорация, "шағын жасушалар" әдісі, липосомаларға орау, электронды зеңбірек.

Трансформация - жасуша қабығының өткізгіштігінің жоғарылауына байланысты рекомбинантты ДНҚ-ны жасушаға енгізу әдісі. Жасушалар CaCl₂ мұз ерітіндісімен өңделеді, содан кейін 42°C температурада 1,5 минут ұсталады.

Трансдукция - бактериялық ДНҚ-ны бір жасушадан екіншісіне бактериофаг арқылы тасымалдау процесі. Жалпы трансдукция бактериялардың генетикасында геномды картаға түсіру және штаммдарды құру үшін қолданылады.

Трансфекция кезінде ДНҚ кальций фосфатының кристалдарына адсорбцияланады (Грэм Ван дер Эб, 1973). Кальций преципитатының бөлшектері түзіледі. Олар фагоцитоз арқылы жасушаға

сінеді.

Трансфекция үшін ДНҚ-ны адсорбциялайтын полимер декстран қолданылады. Жасушаларға ену әсері мен экспрессия уақыты жоғары, бірақ тұрақты трансформация жиілігі кальций преципитатын қолданғаннан төмен.

Электропорация-әдіс мембранаға жоғары кернеулі импульстардың әсерінен тұрады, бұл мембраналардың өткізгіштігін қайтымды түрде арттыратын көптеген кеуектердің уақытша түзілуін тудыруы мүмкін. Қысқа уақыт ішінде пайда болған тесіктерден кейін өзге ДНҚ жасушаға енеді. Бұл қарапайым, тиімді және қайталанатын әдіс. Оның көмегімен трансгенді жүгері, күріш және қант қамысы өсімдіктері алынды.

ДНҚ микроинъекциясы жұқа микроинелер мен микроманипулятордың көмегімен жасушаға немесе тікелей ядроға трансген қосылған векторлық ДНҚ енгізуге мүмкіндік береді. Бұл әдіс айтарлықтай тиімділікке ие және кез-келген ДНҚ-ны кез-келген жасушаға енгізуге мүмкіндік береді және жасушаларда енгізілген генді сақтау үшін селективті қысым қажет емес.

Липосомаларға орау экзогендік генетикалық материалды рестриктазалардың деструктивті әсерінен қорғау үшін қолданылады. Липосомалар-фосфолипидтерден тұратын сфералық мембраналар. Олар сулы ерітінді мен липидтердің қоспасын күрт шайқау немесе фосфолипидтердің сулы эмульсияларын ультрадыбыспен өңдеу арқылы алынады.

Биологиялық баллистика әдісі өсімдіктерді, әсіресе монокоттарды түрлендірудің ең тиімді әдістерінің бірі болып табылады. Әдістің мәні мынада: диаметрі 0,6—1,2 мкм болатын вольфрамның ең кішкентай бөлшектеріне трансформацияға қажетті гендік құрылымы бар вектордың ДНҚ-сы шашылады.

Каллус немесе жасуша суспензиясы Агаризацияланған ортасы бар Петри табақшасына жағылады және биолистикалық зеңбіректің астына 10-15 см қашықтықта орналастырылады. Вакуумдық сорғымен зеңбіректе қысым 0,1 атм дейін төмендейді.

IV кезең. Молекулалық селекция.

Рекомбинантты ДНҚ тасымалдайтын трансформацияланған жасушаларды кейіннен анықтау үшін векторда бір немесе бірнеше маркер гендері болуы керек. Трансформацияланған жасушаларды бастапқы жасушалардан ажыратуға мүмкіндік беретін маркер гендерінің екі тобы бар, Генді жасушаға енгізу-селективті және репортер гендері:

Селективті гендер - жасушаларға селективті артықшылық береді, яғни антибиотиктерге (канамицин, тетрациклин және т.б.) немесе гербицидтерге төзімділік. Мысалы, лактамаза генінің қатысуымен бактериялық жасуша ампициллинге төзімділікке ие болады және осы антибиотикпен ортада колониялар түзеді, ал сол ортадағы қарапайым жасушалар өледі.

Репортер гендері - тіндерде болуы оңай анықталатын жасушалық бейтарап ақуыздарды кодтайды. Репортер ретінде көбінесе β-глюкуронидаза (GUS), жасыл флуоресцентті ақуыз (GFP), люцифераза (LUC), левомецетин ацетилтрансфераза (CAT) гендері қолданылады.

Генді жасушаға енгізуге арналған векторлардың түрлері

Векторлардың бірнеше түрі бар:

Бактериялық плазмидалар бактериялардың жасушалық ДНҚ-ның негізгі бөлігі хромосомада болады (E. coli хромосомасында, мысалы, 4 миллион жұп нуклеотидтер).

Алайда, хромосомалардан басқа, бактерияларда ұзындығы бірнеше мың базалық жұп болатын өте кішкентай дөңгелек ДНҚ плазида молекулаларының көп мөлшері бар (молекулалық салмағы 1,5-тен 300-ге дейін) мегадалтон, 1 МД = 1500 б.о).

Мұндай шағын хромосомалар плазмидалар деп аталады. Әдетте, плазмидалардың құрамында антибиотиктерге, ауыр металл иондарына (R плазмидалары) төзімді гендер, сондай-ақ кейбір органикалық қосылыстардың катаболизмін бақылайтын гендер бар (биодеградациялық плазмидалар немесе D-плазмидалар).

Бұл гендер плазмидаларда болғандықтан, олар әлдеқайда көп көшірмелермен ұсынылған.

Клондау үшін жиі қолданылатын плазмидалардың бірі Pbr322 E. coli-ден оқшауланған табиғи шыққан плазмидалар негізінде жасалған. Бұл плазмидте екі антибиотикке төзімділік гендері бар: ампициллин және тетрациклин, бұл антибиотиктерге төзімділік гендерінде рестрикция сайты бар.

Егер бөгде ДНҚ фрагменті төзімділік гендерінің біріне енсе, онда соңғысы инактивацияланады.

Вирустар. Жасушаның өліміне әкелмейтін, бірақ хост жасушасының геномына енетін және онымен бірге көбейетін немесе оның бақыланбайтын өсуін тудыратын вирустар бар, яғни олар катерлі ісікке айналады.

Оларға SV40 ДНҚ вирустары мен полиома вирусы жатады. Кейбір ісік РНҚ вирустарын енгізу вирустық бөлшектердің жасушадан оның лизисінсіз бүршіктенуіне әкеледі.

Вирус ДНҚ-ны қайта біріктіргеннен кейін өміршең болуы керек.

Вирустар бактерияларға оңай енгізіледі. Фаг ДНҚ мен плазмидалары бар гибриді векторлар бар. Оларға, мысалы, космидтер мен фазмидтер жатады.

Космидтер-бұл ДНҚ молекуласын фаг бөлшегіне орау мүмкіндігін қамтамасыз ететін λ фаг геномының бөлімі енгізілген плазмидтік векторлар.

Фазмидтер сонымен қатар фаг пен плазида арасындағы будандар болып табылады. Бөгде ДНҚ енгізілгеннен кейін олар кейбір жағдайларда фагтар, ал басқаларында плазмидалар сияқты дами алады.

Бактериялардың генетикалық объект ретіндегі ерекшеліктері

- микроорганизмдер кішкентай, көбею жылдамдығы жоғары,
- жасанды жағдайда оңай өсіріледі;
- гаплоидтар, үстемдік құбылысы жоқ;
- донорлық және реципиенттік жасушалардың жыныстық саралануының болуы;
- окшауланған ДНҚ фрагменттерінің болуы (жылжымалы генетикалық элементтер)

Репликация (лат. репликация-жаңару) - ата-аналық ДНҚ молекуласына негізделген екі еншілес ДНҚ молекуласын құру процесі. ДНҚ репликациясын репликация деп аталатын 15-20 түрлі фермент ақуыздарынан тұратын күрделі кешен жүзеге асырады.

Арнайы ферменттердің көмегімен аналық ДНҚ-ның қос спиралы екі жіпке өріліп, әрбір түзілген жіпке екінші жіп салынып, екі бірдей еншілес ДНҚ молекуласын түзеді, содан кейін олар жеке спиральдарға айналады.

Аналық жасушаның кейінгі бөлінуі кезінде әрбір еншілес жасуша бастапқы аналық жасушаның ДНҚ-сымен бірдей ДНҚ молекуласының бір данасын алады. Бұл процесс генетикалық ақпараттың ұрпақтан-ұрпаққа дәл берілуін қамтамасыз етеді.

ДНҚ репликациясының кезеңдері

3 кезең: бастау, ұзарту және тоқтату. Репликация оғи-дің белгілі бір нүктесінде басталады (ағылшын тілінен. origin -басталу) және бір уақытта екі қарама-қарсы бағытта жүреді.

ДНҚ матрицалық тізбегін бөлуге ферменттер қатысады: хеликаза және топоизомераза. Жаңа ДНҚ тізбегінің синтезі ДНҚ полимеразасымен реттеледі. Құрылады деп аталатын"репликация шанышқысы".

ДНҚ құрылымдық - функционалдық бірлігі

ДНҚ-ның негізгі құрылымдық-функционалдық бірлігі-оперон.

Оперон бір-бірімен байланысқан құрылымдық гендер (цистрон) тобын қамтиды.

Ген операторы құрылымдық гендердің бүкіл тобын басқарады, олардың арасында белгілі бір аймақ - промотор (РНҚ полимеразға өзара әрекеттесетін реттеуші элемент)бар

Реттеуші элементтер:

Энхансер - оперонның транскрипциясын күшейтетін генетикалық элемент

Аттенуатор-оперонның жұмысын әлсірететін генетикалық элемент. Оперонның промоутерлік бөлімі мен оның алғашқы құрылымдық геномы арасында орналасқан.

Әрбір оперон дербес бірлік ретінде қызмет етеді. Оперон немесе оперондар тобы реттеуші геннің бақылауында. Мұндай құрылымдық - функционалдық бірлік регулон деп аталады.

Оперонның жұмысын ұйымдастыру

Қалыпты жағдайда реттеуші ген белсенді және жасушада репрессор ақуызының синтезі байқалады.

Репрессорлық ақуыздың 2 Белсенді бөлімі бар. Біреуімен - субстрат-индуктор (лактоза) өзара әрекеттеседі, ал екіншісімен ол ген операторына қосылады және осылайша транскрипцияны бақылайды.

Егер ортада лактоза болса, ол репрессор аймағымен байланысады, оның конформациясының өзгеруіне әкеледі және ген операторын блоктау қабілетінен айырады. Оперонның репрессиясы

алынып, ферменттің белсенді синтезі жүреді.

Егер индуктор болмаса - оперон үнсіз, m-PHK синтезіне тыйым салынады, сәйкесінше фермент жоқ.

Экстрехромосомалық генетикалық элементтер

Ұсынылған:

- плазмидалар,
- транспозоналар,
- кірістіру элементтері(инсерционды)
- орташа немесе ақаулы фагтар.

Жылжымалы генетикалық элементтер бактерияларға белгілі бір жағдайларда өмір сүруге мүмкіндік беретін селективті артықшылықтар береді.

Плазмидтер жабық ДНҚ-мен ұсынылған жылжымалы генетикалық элементтер. Бактериялық хромосомамен (автономды) байланысты емес немесе оның құрамына біріктірілген болуы мүмкін. Плазмидтер термині 1952 жылы Ледерберг F - факторын ашқаннан кейін енгізілді.

Плазмидтер микроорганизмдерде кең таралған. Олар түрдің ішінде, түрлер арасында және тіпті ұрпақтар арасында берілуі мүмкін.

Плазмидтер бір бактериалды жасушада бірнеше көшірмеде болуы мүмкін, бірақ көшірмелер саны сыни мәнге жеткенде, жасуша плазмидтерді өздігінен жоғалтады.

Тұқым қуалайтын өзгергіштік бұл ДНҚ-дағы нуклеотидтер тізбегінің өзгеруімен, олардың толық немесе ішінара жоғалуымен, гендердің құрылымдық қайта құрылуымен байланысты.

Тұқым қуалайтын өзгергіштік түрлері:

Мутациялар

Генетикалық рекомбинациялар

S – R – диссоциациялар

Спонтандық мутациялар

олар табиғи жағдайда популяцияда түсініксіз себептердің әсерінен көрінеді.

Репликация қателері, қосымша негіз жұптарының дұрыс қалыптаспауы олардың пайда болуына әкеледі. $10^6 - 10^7$ жасушаға 1 мутацияның шамамен жиілігі. Стихиялық мутация қолайлы және қолайсыз генетикалық өзгерістерді анықтай алады.

Индукцияланған мутация белгілі бір оқиғаның немесе әсердің әсерінен пайда болады.

Мутагендер - мутацияны тудырған заттар.

Мутагендер болуы мүмкін:

Физикалық (температура, иондаушы сәулелену, ультракүлгін сәулелену, жоғары жиілікті электромагниттік сәулелену, ультрадыбыстық және т. б.);

Химиялық (негіз аналогтары-бромурацил; алкилдеуші қосылыстар-азот қышқылы; интеркалрилеуші агенттер-акридинді бояғыштар және т. б.)

S – R – диссоциациялар

Олар бактериалды хромосомаға экстрахромосомалық мұрагерлік факторларды енгізгеннен кейін пайда болады.

Әр түрлі колонияларды құрайтын бактериялық жасушалардың екі формасы пайда болады.

R – пішіндер-өрескел бет, тегіс емес жиектер;

S – пішіндер-тегіс бет, тегіс жиектер.

Көптеген бактериялар үшін вирустық формалар S – колонияларын құрайды.

Диссоциация кезінде микроорганизмдердің морфологиясы, биохимиялық, АГ қасиеттері, патогендік қасиеттері бір уақытта өзгереді.

Генетикалық рекомбинациялар

Жасуша популяциясындағы жеке адамдар арасында генетикалық материал алмасу

Генетикалық тасымалдау процесіне реципиент – бактерия және донор-бактерия қатысады.

Рекомбинация түрлері :

өзара әрекеттесетін ДНҚ құрылымында гомологиялық бөлімдер болған кезде жалпы немесе гомологиялық рекомбинация;

Сайт-нақты рекомбинация. Бұл рекомбинация хромосоманың қатаң шектеулі бөліктерінде (сайттарында) жүреді

Вирустар генетикасы

Вирустық популяцияларға сипаттама

Популяцияның көп болуы мутация ықтималдығын арттырады
 Ұрпақтардың тез өзгеруі

Гаплоид және асексуалдық көбею әдісі
 Геномның төмен сыйымдылығы және қайталанатын гендердің болмауы
 Эпидемиялық процесс динамикасындағы үздіксіздік
 Сыртқы жағдайларға жақсы бейімделген

Вирустардағы зерттелмеген өзгерістер хост жасушасының ерекшеліктерімен байланысты және суперкапсидтің химиялық құрамының өзгеруімен көрінеді, оның құрамына липидтер мен көмірсулардың көбеюі жүретін хост жасушаларының қосылуы нәтижесінде пайда болады.

Фенотиптік араластыру жасушаларды бірнеше вирустармен аралас жұқтырған кезде, Егер бір вирус ұрпағының бір бөлігі екі вирустың да қасиеттерін алса, бірақ олардың генотипі өзгеріссіз қалады.

Мутациялар

Вирустар нуклеин қышқылдарының репликациясы кезінде пайда болады. Мутанты вирустардың фенотиптік ерекшеленеді құрылысы әшекейлер, олар түзетін, жасуша культурасына бойынша сезімталдық температурасы, АГ-қасиеттері капсида белоктар.



Вирустар генетикалық рекомбинацияға да қабілетті.

Сезімтал хост жасушасын екі вирус жұқтырған кезде олардың қасиеттері өзгеруі мүмкін. Әсіресе фрагменттелген геномы бар вирустарда жиі кездеседі.

Генетикалық реактивация-байланысты вирустарда әртүрлі гендер белсенді болмаған кезде гендердің қайта бөлінуі. Олардың өзара әрекеттесуімен толыққанды вирустық геномдар пайда болуы мүмкін, олардың бірнеше белсенділігі бар.

Комплементация

Бір вирустың геномымен кодталған ақуыздар басқа вирустың көбеюіне ықпал етеді. Екі ақаулы вирустың функционалды өзара әрекеттесуі. Бұл жағдайда бір вирус екіншісінің генетикалық ақауын толтырады. Комплементация осы вирустардың молекулалары арасында нуклеин қышқылдарының алмасуымен қатар жүрмейді. Көптеген вирустарда сипатталған: аденовирустар және sv40 онкогендік вирусы.

Өзара әрекеттесулер

Вирус жұқтырған жасушаның қайталама инфекциясына иммунитет жағдайы

Интерференция мүмкін:

Гетерологиялық

Гомологиялық

Гетерологиялық кедергі. Бір вируспен инфекция бір жасушада басқа вирустың көбею мүмкіндігін толығымен блоктады. Басқа вирустың адсорбциясының тежелуімен байланысты (рецепторлардың бітелуі немесе бұзылуы)

Гомологиялық кедергі. Егер жасуша ақаулы және толық вирусты жұқтырса (көмекші). Ақаулы вирус көбеюге араласып, ақаулы интерференция бөлшектерін (di)құра алады

Гибридті жасушаларды алуға негізделген

Нақты антигенмен ынталандырылған В-лимфоциттердің

Жасанды жағдайда шексіз көбеюге қабілетті миелоидты (ісік жасушалары) Мұндай жасуша тез көбейіп қана қоймайды, сонымен қатар осы антигенге антиденелер шығарады (жоғары ерекшелігі).

Бір ата-аналық жасушадан алынған мұндай АТ моноклоналды деп аталады.

Моноклоналды технология қолданылады:

Диагностика үшін:- жұқпалы аурулар- - аутоиммунды аурулар- ісік аурулары- инфекциялық емес және аллергиялық аурулар және т. б.

эр түрлі молекулалардың (мысалы, жасушалық рецепторлардың) құрылымы мен функцияларын зерттеу.Терапия үшін:- генотерапия

Иммундық жауап модуляциясы

Эмбриогенетикалық инженерия

Геномды қайта құру-эмбриондарды клондау арқылы қайта құру.

тұқым қуалайтын ауруларды түбегейлі емдеудің гендік-инженерлік әдістері.

Баллистикалық трансфекция - плазмидтік ДНҚ-мен қапталған ауыр металл бөлшектерімен (алтын, вольфрам) ағзалар мен тіндерді атуға негізделген.

Мұндай бөлшектер гендерді тікелей жасуша ядроларына (тері және шеміршек аурулары) әкеледі.

1975 жылы Э. Саузерн тығыз негізде иммобилизацияланған таңбаланған нуклеин қышқылын қолданды.

Біздің елімізде ДНҚ иммобилизациясы ақылы негізде жүзеге асырылады (кварц, нейлон, микрогельдер), ал биосенсорлар 1988 жылдан бастап шығарылады.

Иммобилизацияланған биообъектілер

Иммобилизация деп биологиялық объектінің функционалды белсенділігін сақтай отырып, ерімейтін тасымалдаушымен байланысы түсініледі

фермент

акуыз (инженерлік энзимология)

Тұтас жасушалар

Биосенсорлардың негізгі жұмыс принципі-нуклеин қышқылдарының қосымша тізбектерінің өзара әрекеттесуі .

Мақсатты ДНҚ-ның иммобилизацияланған сынамамен әрекеттесуі және осы өзара әрекеттесуді кейінгі тіркеу бар.

Олигонуклеотидтердің 1,28 см 2 көлеміндегі көшірмелерінің негізіне қолдану тығыздығы 50 000-нан 1 000 000-ға дейін. Мұндай жоғары тығыздықтағы матрицалар ДНҚ чиптері деп аталады.

3. Иллюстрациялық материал: презентация.

4. Әдебиет: 1-қосымшада ұсынылған.

5. Бақылау сұрақтары:

1. Биотехнологияның генетикалық негіздері.
2. Молекулалық генетиканың негізгі түсініктері. Геннің бастапқы құрылымы. Гендердің реттеуші және құрылымдық бөліктері.
3. Микроорганизмдерді іріктеу әдістері.
4. Мутагенез. Мутагендердің түрлері. Мутация түрлері. Скрининг.
5. Биотехнологияның генетикалық негіздері.

1. Тақырыбы: Гендік инженерия әдістері. "In vitro" және "in vivo" тәжірибелерінде генетикалық қайта құру.

2. Мақсаты: білім алушыларды биотехнологияның генетикалық негіздері мен гендік инженерия әдістері гибридизация. "In vitro" және "in vivo" тәжірибелерінде генетикалық қайта құру тәсілдерімен таныстыру.

3. Дәріс тезистері:

1. Биотехнологияның генетикалық негіздері.
2. Гендік инженерия әдістері гибридизация. "In vitro" және "in vivo" тәжірибелерінде генетикалық қайта құру.

Гендік инженерияның дамуы генетика, биохимия, биофизика т.б. ғылымдардың қол жеткізген табыстарымен тығыз байланысты: - Алғаш 1869ж. Фридрих Мишер лейкоциттердің ядросынан ДНҚ молекуласын бөліп алды; - 1967ж. Мартин Геллерт ДНҚ-лигаза ферментін ашты; - 1961ж. Джулиус Мармур, Поль Доти ДНҚ ренатурациясы құбылысын ашып, нуклеин қышқылдарының гибридтелу ерекшелігі мен дәлдігін анықтады; - Геннің химиялық жолмен қолдан синтезделуі алғаш рет 1970 жылы америка ғалымы Хар Гобинд Корананың зертханасында жүргізілді; - 1972-1973ж. Герберт Бойер, Стэнли Коэн, Пол Наим Берг ДНҚ клондау технологиясын жасады; - 1975-1977ж. Фредерик Сенгер, Барклей Джордж Баррел, Аллан Максам, Уолтер Гилберт нуклеотидтік бірізділіктерді тез анықтау әдісін жасады; - 1978 жылы Даниел Натанс, америка микробиологы Хамилтон Смит және швейцария микробиологы, әрі генетигі Вернер Арбер рестриктазаларды ашқандары үшін Нобель сыйлығына ие болды. Натанс алғашқы болып, SV40 (Simian virus 40) вирусын генетикалық зерттеуде Смит пен Арбер анықтап, сипаттаған рестриктазаларды пайдаланды; - 1979ж. Хар Гобинд Корана тирозиндік супрессорлық РНҚ генін синтездеп алды; - 1981-1982ж. Ричард Пальмитер, Ральф Лоуренс Бринстер трансгенді тышқан, Аллан Спредлинг, Джеральд Майер Рубин трансгенді дрозофилланы алды. Гендік инженерияның дамуына биофизикалық аппараттардың – ультра және микроцентрифугалар, спектрофотометрлер, аминқышқылды анализдеуші, секвенаторлар, пептидтер мен олигонуклеотидтердің синтезаторы, сонымен қатар, хроматографияға арналған әртүрлі құрылғылардың, гель – электрофорездің, ПТР, радиоиммундық анализдеушінің, гельдерді сканерлеушінің, т.б. қарқынды дамуы әсер етті.

Ген инженериясының дәуірі басталмай тұрып 1969 жылы Г.Корана нуклеотидтерді белгілі бір жүйемен орналасқан ДНҚ синтезінің методологиясын жасап берген. Жекеленген дербес амин қышқылы - 6 ашытқының аланиндік тРНҚ-ның бастауыш жүйесі ашылғаннан кейін Г.Корана химиялық жолмен осы РНҚ-ның көлемі 77 полинуклеотидтен тұратын кодтық бөлігін синтездеді.

Кейіннен 1979 жылы осы зертханада ішек таяқшасының тирозиндік тРНҚ-сы синтезделді және ол T4 бактериофагының құрамына енгізіліп, бактерияның жасушасында жұмыс істеді. Микроағзалар генетикасы мен молекулалық биологияның екпінді дамуы біздің ғасырымыздың 70-жылдарының бірінші жартысында генетикалық инженерия, ген инженериясы немесе рекомбинантты ДНҚ техникасы деп аталатын жаңа эксперименттік технологияның пайда болуына әкелді. ТМД елдерінде алғашқы - екі, ал батыста соңғы аталу кең қолдану алды.

Бұл уақытта эмбриологтар жануарлардың ұрық жасушаларын манипуляциялауда айтулы жетістіктерге жеткен болатын. Соның арқасында, мысалы, бақаның жұмыртқа жасушасынан ядроны алып тастаған соң оған бақа дернәсілінің ішек қабырғасынан алынған жасушаның ядросын енгізу арқылы жетілген ересек ағза алу мүмкіндігі туды. Алғаш рет осындай жынысты емес жолмен жануар алынды, ол белгілі бір түрлерді клондауға, яғни сол түрдің генетикалық көшірмесін алуға мүмкіндік берді. Егер зерттеушіге ұрық жасушаларын және «таза» гендерді алу мүмкін болса, онда анықталған дефектілі гендерді сау гендермен алмастыру арқылы гендік терапия жүргізуге болады. Ең алғашқыда «Гендік инженерия» термині дәл осы үдеріс үшін енгізілген. Бірақ көп ұзамай «таза» гендерді қолдану арқылы өзіндік емес қасиеттерге ие бактериялар мен тиімділігі жоғары өндірістік микроағзалар штаммдарын құрастыру мүмкіндігіне жол ашылғандығы анықталды.

Сондықтан, гендік инженерияны ақпараттық молекулаларға әртүрлі операциялар жүргізу

арқылы, мақсатты құрастырылған ағзалар алу үшін қолданылатын молекулалық – генетикалық әдістердің кешенді жинағы деп атай бастады. Ген инженериясының дүниеге келген уақыты 1972 жыл деп есептеледі. Сол жылы П. Берг алғаш рет пробиркада үш түрлі микроағзаның ДНҚларының фрагменттерінен жаңа гибридтік ДНҚ құрастырды. Бірақ маймылдың рак вирусының, бактериофагтың және ішек бактериясының гендік ДНҚ-ларынан құрастырылған ол гибридтік ДНҚ-ның жасуша ішінде ойдағыдай жұмыс істей алатындығы тексерілмеді, себебі, құрамында обыр вирусының нуклеин қышқылы болғандықтан ғалымдар тәуекелге бармады. Жасушада жұмыс істей алатын гибридтік ДНҚ-ны 1973-74 жылдары С.Козн мен Г.Бойер құрастырды. Олар басқа ағзадан бөліп алған ДНҚ фрагментін (генін) бактерия плазмидасының құрамына енгізді. Ол плазмидадағы бөтен гендердің алғаш рет жаңа ағза ішінде жұмыс істей алатынын көрсетті. Соның артынша-ақ дүниежүзінің көптеген зертханаларында жұмыс істей алатын әртүрлі плазмидалар алынды. Кеңес елінде ондай бөтен гені бар плазмида академик А.А. Баевтың басшылығымен жасалды. Молекулалық биология ғылыми жетістіктерінің нәтижесінде пайда болған ген инженериясы ағзаның бағалы қасиетін сақтап қана қоймай, оған жаңа әрі сапалы қасиет те бере алады.

Бұл атаудың екі түрі қолданылады: «генетикалық инженерия» және «ген инженериясы». Соңғы кезде «генетикалық инженерия» жалпылама түрде қолданылып жүр, ген инженериясы да осының ішіне кіреді.

Ген инженериясы – рекомбинантты РНҚ мен ДНҚ алу, жасушалардан гендерді бөліп алу, гендермен әртүрлі жұмыстар жасау, басқа ағзаларға енгізудің әдіс тәсілдері мен технологиясын қарастырады. «Инженерия» деген атау құрастыру деген мағынаны білдіреді. Яғни ген инженериясы дегенді ген құрастыру деп түсіну қажет.

Ген инженериясы шешетін мәселелер: 1) генді химиялық немесе ферментті қолдану жолымен синтездеу; 2) әртүрлі ағзадан алынған ДНҚ фрагменттерін бір-бірімен жалғастыру (ДНҚ рекомбинанттарын алу); 3) бөтен генді жаңа жасушаға векторлық ДНҚ арқылы жеткізу және олардың қызмет жасауын қамтамасыз ету; 4) жасушаларға гендерді немесе генетикалық жүйелерді енгізу және бөтен нәруызды синтездеу; 5) бөтен генге ие болған жасушаларды таңдап бөліп алу жолдарын ашу. Генетикалық инженерия деп *in vitro* жағдайында қызмет етуге пәрменді генетикалық құрылымдарды (рекомбинантты ДНҚ-ны) құрастыруды және оларды тірі жасушаларға енгізуді түсінеді. «Генетикалық инженерия» және «ген инженериясы» терминдері синоним ретінде қаралғанмен, олардың мағынасы бірдей емес: генетикалық инженерия - генетикамен байланысқан, ал ген инженериясы - тек генге ғана қатысы бар. Гендік инженериялық міндеттерді шешу келесідей негізгі кезеңдерден құралады: 1) генді оқшаулап бөліп алу; 2) басқа ағзаға тасымалдау үшін генді векторға енгізу; 3) гені бар векторды модификацияланатын ағзаға көшіру; 4) ағза жасушаларының қайта жасалуы; 5) генетикалық модификацияланған ағзаларды іріктеу және модификация дұрыс жүрмегендерді жою. Дәстүрлі түрдегі селекциядан айырмашылығы, гендік инженерияда тікелей генетикалық аппаратқа әсер ете отырып, молекулалық клондау техникасын қолданады. Мысалы: 8 - гендік модификацияланған дәнді дақылдардың жаңа сорттарының алынуы; - гендік модификацияланған бактерияларды қолдану арқылы адам инсулинін өндіру; - жасушаларды өсіру арқылы эритропоэтинді өндіру.

Пробиркаларда жүргізілген бірінші сәтті ДНҚ рекомбинациясы тәжірибелерінен кейін гендік-инженерлік сипаттың адамзатқа әкелер зияны туралы алғашқы күмәндану мен қорқыныш пайда болды. 1

974 жылы шілде айында, бірнеше көрнекті ғалымдар *in vitro* рекомбинантты ДНҚ-ға мораторий енгізу туралы ұсыныспен ғылыми қоғамдастық шақырды. 1975 жылы Калифорниядағы Асиламор конференциясына гендік инженерия саласында жұмыс істейтін түрлі елдердің 140 ғалымдары жиналды. Барлық нәтижелер мен мүмкін болатын ықпалдарды жан-жақты тексере келе, ғалымдар әлеуетті қауіпі шамалы, өйткені табиғатта рекомбинантты штамдар тіршілікке қабілетсіз және бақылаусыз таратылуы екіталай деген тоқтамға келді. Мораторийді тоқтатып, арнайы әзірленген ережелерге сәйкес зерттеулерді жалғастыру туралы шешім қабылданды. Бүгін күні біз гендік инженерия табиғатқа немесе адамға залал әкелген жоқ, өзінің шамамен 50 жылдық дамуында зерттеушілерге де қандайда бір зиян келтірген емес деп айтуымызға болады. 1.2 Гендік инженерияның практикалық қолданылуы Гендік инженерия әдістері іргелі мәселелерді шешуде табысты қолданылады.

ONTUSTIK-QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Дәрілер технологиясы кафедрасы «Фармацевтикалық биотехнология» пәні бойынша дәріс кешені	044-43/ - (2023-2024) Стр. 28 из 19

Олар геномдардың және гендердің молекулалық құрылымын, сондай-ақ олардың экспрессиясын реттеудің молекулалық механизмдерін зерттеуде шешуші мәнге ие. Қолданыстың бастапқы кезеңдерінде эукариоттық ағзаларды зерттеуде елеулі прогреске қол жеткізуге мүмкіндік берді.

Гендердің құрылымы үзілісті болатыны, мобильді дисперсті гендердің бар екендігі анықталып, жасушалардың жіктелуі кезінде гендердің қайта іске қосылуының негізгі механизмдерін түсіндірді, ДНҚ деңгейіндегі көптеген реттеуші элементтердің құрылымы анықталды, жекелеген жағдайлардағы жасушалардың қатерлі ісікке азғындауының генетикалық себептерін және т.б. түсіндірді.

Гендік инженерия молекулалық медицина негізін құрайтын жаңа ғылыми бағыттардың дамуына ықпал етті: молекулалық вирусология, молекулалық онкология, молекулалық нейрофизиология және тағы басқалар.

Гендік инженериядағы елеулі жетістіктер молекулалық биотехнологияның пайда болуына серпін беріп, қолданбалы міндеттерді шешуге де қол жеткізді.

Енді генетикалық өнімдердің тізімі құрамында жүздеген дәрілердің және басқа да пайдалы дәрілердің атаулары бар.

Гендік-инженерлік тәжірибелердегі негізгі зерттеу нысандары Escherichia Coli K-12 жасушалары және оның плазмидалары мен бактериофагтары болған, себебі олар сол кезде толық генетикалық зерттелген болатын. Бұл бізге мақсатты түрде жаңа векторлық молекулалар мен реципиент жасушаларды құрастыруға және рекомбинантты ДНҚ молекулаларының қасиеттерін болжауға және оларды талдауға мүмкіндік берді. Бірақ уақыт өте келе, клондау жүйелері индустриялық маңызды түрлі микроағзалар, сондай-ақ, өсімдіктер мен жануарлар жасушалары үшін де әзірленді. Енді геномында кез келген тандаулы гені бар өсімдіктер мен жануарларды алуға болады. Жұмыстың табысы оған инвестицияланған сомаға байланысты. Өндіріске қажетті жасушаларды белгілі бір қасиеттері бойынша таңдайды. Қандайда бір амин қышқылы, антибиотик, стероидты гормон немесе органикалық қышқылды мүмкіндігінше көп мөлшерде синтездеуге және өндіруге қабілетті жасушалар таңдап алынады. Кейде микроағза өзіне қорек ретінде мұнайды немесе қалдық суларды пайдалана алатындай, оларды өңдеп биомасса немесе мал азықтық нәруыз өндіретіндей болуы керек. Медицинадағы қолданыста да молекулалық биология мен гендік инженерия бір-бірімен тығыз байланысты. Ғалымдардың міндеті - ағзадағы ауруды молекулалық жағдайда түсіну, проблеманы тудыратын заттарды анықтау және ауруды емдеуге қатысты ұсыныстар беру. Осы ұсыныстарды орындау «гендік инженерлерге» тапсырылады. Олар адам нәруыздарын белсенді өндіретін продуценттерді жасайды, мәселені шешетін молекулаларды бөліп алу жолдарын қарастырады немесе құрастырып шығарады.

1. Прокариоттардың гендік-инженерлік әдістері. Гендік инженерияда әдетте нәруыздарды кодтайтын гендермен жұмыс жасайды. 11 Соңғы кездері ген құрылымы туралы көзқарастар біршама күрделенді. Молекулалық генетика дамуының бастапқы кезеңінде гендер үзіліссіз, нуклеотидтер бірізділігінің кодтарынан тұрады деп болжаған. Кейіннен гендердің мозаикалық құрылымды, ақпараты бар және ақпараты жоқ бөліктерден тұратынын анықтады. Сондықтан да белгілі бір нәруыз туралы ақпарат неғұрлым ұзын ДНҚ учаскелерінде орналасады. Мысалы, тышқанның дигидрофолатредуктаза гені 32 м.ж.н тұрады. Ал оның коды бар аймағы 568 ж.н. ғана тұрады.

Сонымен қоса, ДНҚ-да гендер белгілі бір орнығып орналасады. Әрбір жеке жұмыс жасайтын ген үш элементтен тұрады: промотор, нәруыз туралы ақпараты бар бөлік, транскрипция терминаторы. Транскрипцияланатын нуклеотидтердің координаттарын оң таңбамен, ал промотордағы нуклеотидтерді теріс таңбамен белгілейді. Гендердегі нуклеотид саны бірінші транскрипцияланатын нуклеотидтен басталады. +1 деп белгілейді. Бактерияда транскрипцияны барлық гендер үшін ортақ болатын РНҚполимераза жүргізеді. Ол 5 суббірліктен тұрады - 2α , β , β' , σ . РНҚполимераза промоторды σ бөлігі арқылы тани алады. Ішек таяқшасының жасушасында 6 түрлі σ - суббірліктер болады (1-кесте). 1-кесте - E. coli РНҚ-полимеразасының σ -сигма суббірліктері және олар танитын промоторлар құрылымы Промоторлар ұқсас болғанмен бұлардың ген топтары әртүрлі σ -70 суббірлігі (цифр килодальтондағы массасын білдіреді). Басым көпшілік гендердің транскрипциясына қатысады.

Ал басқа суббірліктер арнайы жағдайларда қатысады. 12 Транскрипция сатысында РНҚ-

полимераза көмегімен мРНҚ синтезделеді. РНҚ-полимераза ДНҚ-ның промотор бөлігімен байланысады да, синтез соңында транскрипцияның терминатор бөлігінен ажырайды. Трансляция сатысында нәруыз синтезделеді. Осы үдерістерді жүргізетін сигналдар ген құрылымында орналасқан. Ақпараты бар бөліктің бас жағындағы инициациялық кодон және аяқ жағында орналасатын терминациялық кодон. Кодон үш нуклеотид бір аминқышқылына сәйкес келеді (синтездейді). Барлық промоторлардың екі консервативті бірізділіктері болады. Біреуі тану үшін, екіншісі промоторды РНҚ- полимеразамен тығыз байланыстыру үшін қажет

Екі бірізділіктің де стандартты промоторлардағы орындары әртүрлі шоғырланады және 90% жағдайларда, олар 16-18 ж.н. ажыратылады. -10 бірізділігіндегі 3'-соңындағы нуклеотид бірінші транскрипцияланатын нуклеотидтен орташа есеппен 6-7 н.ж. қашықтықта 13 орналасады. Жарты жағдайда E.coli гендеріндегі алғашқы транскрипцияланатын нуклеотидтер дезоксиаденозин болып табылады. Оның көршілес нуклеотидтері ең алдымен, дезоксицитидин (координата - 1) және тимидин (координата +2) болып табылады. Консервативті бірізділіктердің стандартты промоторлардағы шоғырлануы басқаша, бірақ біркелкі болу үшін -35, -10 жәйттарда белгілейді.

Матрицалық РНҚ синтезінің аяқталу сигналы ол транскрипцияның терминаторлары болып табылады. Ішек таяқшаларының гендерінің басым бөлігі үшін транскрипция терминаторлары жеткілікті. Бірақ кейбір бактериялық және фагтардың гендері үшін қосымша фактор Rho қажет. Прокариоттарда транскрипция және трансляция кеңістікте де, уақыт бойынша да ажыратылмаған.

Сондықтан, әрбір геннің рибосоманы байланыстратын RBS сайтының құрылымы өзіне тән ерекше, себебі, SD-бірізділікке қосымша, ол бірнеше бастапқы кодондарды да қамтиды. Rho-ға тәуелді емес екі учаскесі болады, бірінші учаскесі ұзындығы әртүрлі Г-Ц көп болатын бөлік, мРНҚ-да ұзындығы 7-20 жұп нуклеотидтер болатын шпилька түзеді. 7-9 жұп нуклеотидтерден кейін яғни шпилькадан кейін шамамен 6 уридин қалдығынан тұратын екінші учаскесі орналасады. Бірінші учаскеде РНҚ-полимеразаның ДНҚ бойымен жылжуы тежеліп тоқтайды. Екіншісінде РНҚ-полимераза ДНҚ-н ажырайды. Rho-ға тәуелді терминатор ерекшелігі - шпильканың болуы, транскрипт соңындағы 50-90 нуклеотидтері 40 % дейін цитидильді қалдықтардан тұрады және гуанидильді қалдықтар аз болады 15 %-ға дейін. Мұндай учаскелерде Rho фактор матрицалық РНҚ байланысады, жылжып отырып шпилькада тоқтап қалған РНҚ-полимеразаны қуып жетеді және оның ДНҚ-дан ажырауына қатысады. Мұндай бөліктер гендердің ортасында да кездеседі (шпилька тәрізді), бірақ бұл жағдайда Rho факторлардың әсеріне рибосомалар кедергі жасайды. Қазіргі кезде толып жатқан «көшпелі» гендер болатындығы анықталған. Кейде оларды «секірмелі» гендер деп атайды. Гендердегі ақпарат генетикалық код түрінде жазылған, тек кейбір кірпікшелі қарапайымдылардың митохондриясында болатын кодондарда айырмашылықтар бар, басқа барлық ағзаларда бірдей.

Прокариоттарда гендерді іске қосатын өнімдерді индуктор, ал ажырататын өнімдер – репрессор деп аталынады. Индуктор – бұл ген экспрессиясын арнайы реттейтін сигнал немесе бір реакцияның соңғы өнімі. Репрессор – бұл нәруыз. Индукцияланатын ген дегеніміз индуктор әсерінен жауабы күшейетін, яғни экспрессиясы күшейтілетін ген. Эукариот гендерінде индуктордың орнына реттеуші термині қолданылады. Реттеуші элемент қызметін нәруыз, белсенді оттегі, металл атқара алады. Ген экспрессиясының реттелуі – бұл ДНҚ-ның әртүрлі бөлігіне немесе нүкте аймағына (сайттарға) белгілі бір өнімдер, мысалы нәруыздың арнайы өзіндік қосылуынан транскрипцияның басталып жүруін айтамыз. Сонымен, гендер экспрессиясының реттелуі дегеніміз қоршаған орта өзгерістеріне ағзаның бейімделуі. Прокариот гендері экспрессиясының реттелуі. 1961 жылы Жакоб және Моно оперон моделін ұсынды. Олар ішек таяқшасындағы лактоза метаболизмін зерттеген болатын. Ол үш ферменттің (үш құрылымдық гендердің коды) қатысуымен іске асады.

Реакцияның соңғы өнімдері белсенді емес репрессормен байланысып, оларды белсенді күйге алып келеді. Репрессор оператормен байланысып құрылымдық гендердің транскрипциясын бөгейді және бұл үдеріс эффектор концентрациясы төмендегенге дейін жүреді. Содан кейін эффектор репрессордан ажырап, репрессор төмендеп оперон жұмысы жанарады. Оперонның мұндай типі репрессивті (Триптофан опероны) деп аталынады, мысалы: триптофан метаболизмінің реттелуі осылай жүреді. Прокариоттарда гендердің экспрессиялы реттелуі транскрипция деңгейінде өтеді. Реттелудің айрықшалануына кейбір гендердің қосымша бір, екі промоторларының болуы әсерін тигізеді. Оның біреуі ген экспрессиясының қандайда бір базальді

деңгейін қамтамасыз етсе, ал екіншісінің транскрипциясы жасушада белгілі бір сигналдар болғанда ғана басталады. Мысалы, ДНҚ репарациясының индукциялық жүйесін кодтайтын гендер құрылымы сондай болады. Белгілі бір қызметті бірнеше нәруыз бірігіп атқаратын жағдайларда, оларды кодтайтын гендер үйлесімді экспрессияланатын топты құрайды. Егер мұндай топқа жататын гендер бір-біріне жақын жерде орналасса, онда топ оперон, ал әртүрлі жерлерде болса, регулон деп аталады. Оперондар мен регулондардағы гендік экспрессияны үйлестіру осы гендердің транскрипциясын бір мезгілде қосу немесе тежеу арқылы жүзеге асырылады.

4. Иллюстрациялық материал: презентация.

5. Әдебиет: 1-қосымшада ұсынылған.

6. Бақылау сұрақтары:

1. Биотехнологияның генетикалық негіздері.
2. Гендік инженерия дістері гибридизация. "In vitro" және "in vivo" тәжірибелерінде генетикалық қайта құру.
3. Плазмидтер, БАВ продуценттерін генетикалық құрылым-даудағы олардың негізгі сипаттамалары мен рөлі.

1. Тақырыбы: Рекомбинантты ақуыздардың биотехнологиясы. Физиологиялық белсенді заттардың әртүрлі топтарына жататын рекомбинантты ақуыздар.

2. Мақсаты: білім алушыларды рекомбинантты ақуыздардың биотехнологиясы, физиологиялық белсенді заттардың әртүрлі топтарына жататын рекомбинантты ақуыздар, оларға қойылатын талаптар таныстыру.

3. Дәріс тезистері:

1. Рекомбинантты ақуыздардың биотехнологиясы.
2. Рекомбинантты ақуыздармен жұмыс істеудегі қауіпсіздік ережелері.
3. Рекомбинантты инсулиннің өнеркәсіптік өндірісі.

Рекомбинантты ақуыздардың түзілуі негізгі әдістерінің біріне айналды **жоғары қажетті ақуыз өнімдерін шығарады** медициналық зерттеулер және фармацевтика сияқты өмір туралы ғылым қолданбаларының кең ауқымы үшін.

Бұрын белгілі бір ақуызды алудың негізгі жолы оны табиғи көзден оқшаулау болды, бұл әдетте тиімсіз және уақытты талап етеді. Дегенмен, гендік инженериядағы және рекомбинантты молекулалық биологиялық әдістердегі соңғы жетістіктердің арқасында биотехнологиялық ландшафт трансформациялық өзгерістерге ұшырады, бұл **арнайы рекомбинантты ақуыздарды экспрессиялайды** бактериялар, ашытқылар, жәндіктер жасушалары, балдырлар жүйелері және сүтқоректілердің жасушалары сияқты арнайы экспрессиялық жүйелерде.

Осы **биотехнологиялық инновация** биомедицина мен фармацевтикалық биопроцестер үшін ғана емес, сонымен қатар жаһандық сын-қатерлерге инновациялық шешімдер ұсынатын басқа биотехнологиялық қолданбалар үшін де іргелі болды. Бұл технология дамып келе жатқандықтан, оның әлеуеті өмір туралы ғылымның көптеген салаларына деген көзқарасымызды одан әрі өзгертуге уәде береді.

Рекомбинантты ақуыздар дегеніміз не? Егер ақуыздар биологиялық жүйелердегі жұмыс күші болса, жасуша биопроцестерінің көпшілігін басқаратын болса, **рекомбинантты ақуыздар** солар **рекомбинантты ДНҚ генінен экспрессияланады**, болған **генетикалық тұрғыдан жасалған клондау үшін өрнек векторы**. ішіне енгізілгеннен кейін **қабылдаушы организм**, вектор қажетті хост жасушаларында транскрипция және кейінгі РНҚ трансляциясы арқылы рекомбинантты ақуыз экспрессиясын қолдайды.

Оның үстіне, арқылы **гендік инженерия әдістемелерін қолдану** белгілі бір ақуызды кодтайтын ДНҚ тізбегін өзгертуге болады **өзгерістерді тудырады** құралы ретінде қызмет ететін оның құрылымы, қызметі немесе басқа да тән қасиеттері **инженерлік рекомбинантты ақуыздар** әртүрлі талаптарды қанағаттандыру үшін бейімделген сипаттамалары бар. Белгілі бір мақсатқа арналған жаңа протеиндерді жасаудан тыс, арнайы ақуыз өндірісіне тән бейімделушілік, сонымен қатар **passбарларын** жетілдіру.

Рекомбинантты ақуызды қолдану

Рекомбинантты ақуыздардың бірнеше түрлері бар, олардың әрқайсысының қолдану өрісі ерекше, бірақ олардың көпшілігі әртүрлі салаларда таптырмас болды. **медициналық салалар**.

Мысалы, **фармацевтика өнеркәсібі**, рекомбинантты протеиндердің өндірісі ең маңызды болып табылады **вакциналар мен емдік агенттерді әзірлеу**, өйткені олар көбінесе белсенді фармацевтикалық ингредиент ретінде қызмет етеді **биофармацевтикалық препараттар**. Мысалы, моноклоналды антиденелер немесе иммуноглобулиндік антиденелер және басқа жетілдірілген терапиялық әдістер сияқты рекомбинантты антиденелер әдетте осы тапсырыс беруші протеин жүйесі арқылы жасалады. Сондай-ақ, рекомбинантты ақуыз технологиясының дәлдігі мен ауқымдылығы

төңкеріс жасады **есірткінің дамуы**, инсулин, өсу факторлары немесе кейбір гормондар сияқты жоғары сапалы, стандартталған емдік ақуыздарды өндіруге мүмкіндік береді.

Өрісінде **диагностика**, рекомбинантты ақуыздардың өнімділігі мен қолжетімділігі артқан сайын, олар **аса сезімтал және арнайы сынақтарды әзірлеу үшін пайдаланылады** әртүрлі аурулар үшін. Мысалы, егер вирусты өсіру мүмкін болмаса да, оның ген тізбегі сақталған жағдайда, нақты вирустың рекомбинантты ақуыздарын пайдалану арқылы өндірілетін ELISA сынағы арқылы пайда болған вирустарға немесе жаңа вирус штаммдарына жылдам жауап беруге болады.

Зерттеудегі шешуші рөл

Ін **зерттеу**, олар үшін шешуші болды **белоктардың қызметі мен өзара әрекеттесуін зерттеу**, бұл биологиялық процестер мен ауру механизмдерін түсіну үшін өте маңызды. Сонымен қатар, олардың өзара әрекеттесуін талдау үшін, олардың биологиялық рөлдерін тереңірек түсінуге және осы белоктардың функционалдық қасиеттерін түсінуге ықпал ететін беттік плазмондық резонанс сияқты күрделі әдістер қолданылады. Мысалы, ақуыздарды экспрессиялау *E. coli* биомедициналық зерттеулерге күрделі биохимиялық жолдарды зерттеуге мүмкіндік берді және десірәртүрлі биологиялық процестердің негізінде жатқан молекулалық механизмдер. Сонымен қатар, CRISPR CAS9 немесе Cre-lox технологиясы сияқты геномды өңдеу құралдарын пайдалана отырып, Rag 1 және Rag 2 немесе CNTF гені сияқты гендердің рекомбинантты ақуыздарын пайдалану геннің экспрессиясын, сигнал беру жолдарының реттелуі туралы құнды түсінік берді. әртүрлі жасушалық компоненттер арасындағы күрделі өзара әрекеттесу.

Сонымен қатар, технологиядағы рекомбинантты ақуызды қолдану тек медицина үшін ғана емес, сонымен қатар ауыл шаруашылығы және жаңа тамақ технологиясы сияқты басқа салалар үшін де іргелі болып табылады. **күрделі мәселелердің перспективалық шешімдерін ұсынады** биотехнологиялық өнеркәсіпте. Бұл технология дамып келе жатқандықтан, оның болашақ инновациялар үшін әлеуеті біздің өмір туралы ғылымдарға деген көзқарасымызды зерттеуде де, салалық қолданбаларда да, сондай-ақ тәжірибеде де төңкеріс жасауға уәде береді. **TECNIC** біз ең жаңа жетілдірілген шешімдердің бөлігі болғымыз келеді **бірге дамиды**.

Рекомбинантты ақуыз өндірісіндегі қиындықтар

Бұл биотехнология орасан зор ресурстар мен ноу-хауды қажет етеді, ал өндірістегі сәтсіздіктер ауыр зардаптарға, сондай-ақ қаржылық кемшіліктерге әкелуі мүмкін. Оның ортақ қиындықтарына тиімділікке, тазалыққа және ауқымдылыққа қатысты мәселелер және оңтайлы нәтижелерге мұқият қарауды және күрделі шешімдерді талап етеді.

Ресурстарды азайту кезінде кірісті оңтайландыру тиімділігі

Тазалық пен функционалдық тұтастықты қамтамасыз ету

Ақуызды дұрыс экспрессиялау үшін орта жағдайларын оңтайландыру

Масштабтау қиындықтарын жеңу

Рекомбинантты ақуыздарды өндірудегі TFF маңызы

Өнімділігі жоғары және тұрақты нәтижелермен жоғары таза рекомбинантты ақуыздарды алу үшін, **ең жақсы құрал-жабдықтармен жұмыс істеу міндетті болып табылады**, зерттеу мақсаттары үшін емдік антиденелерді өндіріп жатырсыз ба немесе өнеркәсіп үшін үлкен ферменттер шығарасыз. Басты шешім ретінде, **TECNIC Биореакторлар** → көзге түседі **upstream рекомбинантты ақуызды биоөндеу өндірісі**, зерттеуден бастап ірі өнеркәсіптік өндіріске дейін әрбір қадамда негізгі міндеттерді тәжірибемен шешу.

Бізге қоршаған ортаның барлық параметрлерін нақты бақылауды қамтамасыз етуге мүмкіндік беріңіз, **ең жақсы жасушалық немесе микробтық жағдайларды**

онтайландыру ресурстар мен уақытты пайдалануды барынша азайта отырып, ақуыз шығымы үшін.

Рекомбинанттық препараттарда жасушалық субстрат талап етілетін реттілігі бар, алдыңғы негіз қалаушының жалғыз жасушасынан клондалған трансфекцияланған жасушалар болады. Рекомбинанттық ДНК технологиясын пайдалана отырып, жасушалық субстраттарды жасау кезінде осы Қағидалардың 5.2-тарауының ұсынымдарын ескеру қажет. Рекомбинанттық емес препараттар (соның ішінде рекомбинанттық емес вакциналар) үшін жасушалық субстрат одан әрі модификацияламай ЖББ жасау үшін іріктелген ата-аналық (бастапқы) жасушалар желісінен алынған жасушалар болады. Гибридомадан алынатын препараттар үшін жасушалық субстрат миелома ата-аналық жасушалық желісінің басқа ата-аналық жасушалармен, мысалы, көкбауырдың иммундық жасушаларымен қосылуы арқылы алынған гибридомалық жасушалық желі болады.

Микроорганизмдердің басым жасушалары үшін селективтік ортадағы өсімді талдау әдетте иесінің жасушасының иесінің жасушалар банкіне және трансформацияланған жасушалар банкіне арналған түрі деңгейдегі төлнұсқалықты растау үшін жеткілікті. Өртүрлі штаммдар пайдаланылуы мүмкін E. coli жағдайында төлнұсқалықты сынаудың қосымша әдістері ретінде фаготиптеу сияқты биологиялық сипаттамаларды айқындау әдісін қараған жөн. Плазмида банктері үшін төлнұсқалықты бағалау осы Қағидалардың 5.2-тарауына сәйкес экспрессиялаушы конструкцияны талдаудың көмегімен орындалуы мүмкін. Талап етілетін өнімді экспрессиялау да экспрессиялаушы конструкцияның төлнұсқалығын растау үшін пайдаланылуы мүмкін.

Тазалығын сынау.

Жасушалық желіні әзірлеу мен жасаудың маңызды (сыни) аспектісі ЖББ мен ЖЖБ-ның биологиялық тазалығын бағалау, яғни олардың бөгде микробтық және жасушалық контаминанттардан таза екенінің дәлелдемесі болып табылады. Бұл сынақтарды жоспарлау және жүргізу кезінде селективтік агенттер мен антибиотиктердің бөгде микробтық контаминанттардың табылуына тигізетін әсерін ескеру қажет.

4. Иллюстрациялық материал: презентация.

5. Әдебиет: 1-қосымшада ұсынылған.

6. Бақылау сұрақтары:

1. Рекомбинантты ақуыздардың биотехнологиясы.
2. Физиологиялық белсенді заттардың өртүрлі топтарына жататын рекомбинантты ақуыздар.
3. Рекомбинантты ақуыздардың биотехнологиялық өндірісінің спектрі.

1. Тақырыбы: Ферменттер, дәрумендер мен коферменттер өндірісінің болашағы

2. Мақсаты: білім алушыларды дәрілік құралдар ретінде қолданылатын ферменттер және Фармацевтикаға арналған ферменттердің ақуыздық инженериясымен таныстыру.

3. Дәріс тезистері:

1. Ферменттер, дәрумендер мен коферменттер өндірісінің болашағы.
2. Ферменттер алу биотехнологиясы

Ферменттік препараттарды алу көздері

Ферменттер барлық тірі нысандарға тән және барлық өсімдіктерде, жануарлар мен микроорганизмдерде кездеседі.

Алайда, организмдегі ферменттердің биосинтез процесі жасуша алмасуын қамтамасыз етумен байланысты және синтезделетін ферменттердің мөлшері ағзаның өмірлік қажеттілігімен қатаң анықталады; мұндай заттар ферментті препараттардың алу көзі бола алмайды.

Бұл үшін ферменттердің едәуір мөлшерін жинай алатын микроорганизмдер, кейбір өсімдіктер немесе өсімдіктер мен жануарлардың жеке мүшелері қолайлы. Өсімдік шикізаты. Ферменттердің көзі әртүрлі дәнді дақылдардың (уыт) өсіп шыққан дәні болуы мүмкін. Оны тікелей техникалық ферменттік препарат ретінде пайдалануға немесе тазартылған ферменттік препараттарды алу үшін бастапқы материал ретінде қызмет етуге болады.

Тропикалық және субтропикалық елдерде қауын ағашының латексі, фикус түрлеріне жататын өсімдіктердің латексі, мысалы, жапырақтары, інжір өсінділері, Ананас жасыл массасының шырыны және т. б. протеиназаларды өнеркәсіптік өндіру үшін шикізат ретінде қолданылады.

Жануарлардың мүшелері мен тіндері. Барлық ет өңдеу зауыттарында құрамында ферменттері бар шикізат жиналады, оны консервілейді және ферменттік препараттар алу үшін пайдаланылады.

Мұндай шикізат - ұйқы безі, шошқалардың асқазандары мен аш ішектерінің шырышты қабаттары, ірі қара малы, сүт бұзаулары мен қозылар, жыныстық жетілген жануарлардың ұрықтары.

Ұйқы безі құрамында көптеген ферменттер бар: химотрипсин, коллагеназа, эластаза, трипсин, амилаза, липаза және т. б.

Шошқалар мен ірі қара малдың асқазандарының шырышты қабаты пепсин мен липаза көзі болып табылады. Сүт бұзаулары мен қозыларынан Реннин ферменті алынады. жыныстық жетілген мал аталық бездерінен фермент гиалуронидаза алынады.

Микроорганизмдер. Арнайы жасалған жағдайларда микроорганизмдер көптеген ферменттерді синтездей алады.

Олар қоректік ортаның құрамына қарапайым емес, бір ферменттің синтезінен екіншісіне оңай ауысады және салыстырмалы түрде қысқа өсу цикліне ие (16-100 сағат).

Ферменттік препараттарды өнеркәсіптік алу үшін табиғи объектілерден бөлінген микроорганизмдердің табиғи штамдары да, мутантты штамдар да пайдаланылады.

Фермент өндірушілері әртүрлі микроорганизмдер болуы мүмкін: бактериялар, саңырауқұлақтар, ашытқы, актиномицеттер.

Микроорганизмдер ферменттердің бүкіл кешенін бір уақытта синтездей алады, бірақ сонымен бірге моно-ферментті және көп мөлшерде бір ғана ферментті құрайтын мутантты штамдар арасында бар.

Ферменттер мен ферменттік препараттардың жіктелуі және номенклатурасы.

Қазіргі классификацияға сәйкес барлық ферменттер катализделген реакция түріне сәйкес алты негізгі класқа бөлінеді:

- 1) оксидоредуктазалар;
- 2) трансферазалар;
- 3) гидролазалар;
- 4) лиазалар;
- 5) изомеразалар
- 6) лигазалар (синтетазалар).

Өнеркәсіптік маңызды ферменттердің көпшілігі, олардың қажеттілігі ондаған мың тоннамен анықталады, үшінші класқа - гидролаздарға жатады.

Әлемнің әртүрлі фирмалары шығаратын препараттардың басым көпшілігі күрделі болып табылады, олардың құрамында негізгі ферменттерден басқа, ілеспе ферменттер мен ақуыздардың едәуір мөлшері бар.

Әлемнің әртүрлі фирмалары шығаратын препараттардың басым көпшілігі күрделі болып табылады, олардың құрамында негізгі ферменттерден басқа, ілеспе ферменттер мен ақуыздардың едәуір мөлшері бар.

Ферменттердің қолданылу саласы және көздері

Ферменттік препараттар өндірісі заманауи биотехнологияда жетекші орындардың бірін алады. Оларды шығару көлемі үнемі артып, қолдану аясы кеңеюде.

Ферменттер ақуыз тектес жоғары белсенді емес уытты емес биокатализаторлар болып табылады.

Олардың химиялық катализаторлардан артықшылығы-қалыпты қысым, температура 20-дан 70 °С-қа дейін, рН 4-тен 9-ға дейін. Олар субстраттың жоғары ерекшелігіне ие, бұл субстраттардың күрделі қоспасында тек белгілі бір қосылыстарға әсер етуге мүмкіндік береді.

Қабылданған жіктеу мен номенклатураға сәйкес қазір 2000-ға жуық ферменттер анықталды. 250-ге жуық атау өнеркәсіптік түрде шығарылады, ферменттік препараттарды сатудың жалпы сомасының 99% - ы тек 18 ферменттерге келеді.

Шығарылатын препараттардың ішіндегі ең үлкен үлес салмағын синтетикалық жуғыш заттарда кеңінен қолданылатын протеиназалар және крахмалды өңдеуге арналған амилазалар алады.

Препараттардың бұл екі түрі шетелде ферменттік препараттар шығарудың жалпы көлемінің 60% - ын құрайды.

Басқа ірі салалар – ферменттерді тұтынушылар

шарап пен шырын өндіру 10 %;

Спирт өндіру 8 %;

сыра өңдеу 5 %;

нан пісіру 5 %;

Сыра өндіру 6 %;

басқа салалар 6 %.

Ферменттерді өндірудің жалпы көлемінде жоғары тазартылған ферменттік препараттар ерекше орын алады.

Олардың жалпы көлемдегі үлесі өте аз, өйткені технология күрделі, үлкен материалдық шығындар мен уақытты қажет етеді.

Бұл препараттар медицина, аналитикалық мақсаттар және ғылыми зерттеулер үшін өте маңызды.

Ферменттер барлық тірі тіршілік иелеріне тән, алайда оларды бөліп шығару үшін пайдаланылатын энзимнің құрамы 1-ден кем болмайтын табиғи объектілер ғана пайдаланылады %.

Ферменттердің көздері :

протеиназалар алу үшін – амилазалар, фикус латексі, қауын ағашын алу үшін – әр түрлі дәнді дақылдардың (уыт) өскен дәні;

жекелеген ағзалары жануарлар ұйқы безі, шырышты асқазанға және жіңішке ішектерді, ірімшігі ірі қара мал);

микроорганизмдер.

Нақты жағдайларда микроорганизмдер көптеген ферменттерді синтездей алады. Олар бір ферменттің синтезінен екіншісіне оңай ауысады, қысқа өсу циклі бар (16-дан 100 сағатқа дейін).

Ферменттерді өнеркәсіптік өндіру үшін табиғи штаммдар да, мутагенез, биосинтезді іріктеу және индукциялау арқылы алынған штаммдар да қолданылады.

Ферменттер бактерияларды, саңырауқұлақтарды, ашытқыларды, актиномицеттерді синтездеуге қабілетті; микроорганизмдер моно - немесе полиферменттер болуы мүмкін

Штамм мен өсіру жағдайларын таңдау

Ферменттерді өндіру үшін микроорганизмдерді қолданудың орындылығы келесідей:

- генетикалық манипуляциялар катаболит деңгейін мың немесе одан да көп есе және биосинтетикалық ферменттердің деңгейін бірнеше жүз есе арттырады;
- микробтық жасушаларды қымбат емес ортаны және микроорганизмдердің тез өсуіне байланысты үлкен көлемде өсіру энергетикалық негізделген;
- микроорганизмдер қабілетті реакциялардың алуан түрлілігі. Бұл әсіресе қайталама метаболизмге қатысты;
- микроорганизмдер жануарлар мен өсімдіктерде кездесетін осындай ферменттердің ғана емес, сонымен қатар басқа жерде табылмаған бірқатар ерекше ферменттердің көзі болып табылады. Мысалы, целлюлоза, танназа, гидрогеназа және т. б.
- микроорганизмдердің әртүрлі қоршаған орта жағдайларына бейімделу қабілеті, бұл культура арзан субстраттарда өсетін өндіріске өткізуге мүмкіндік береді.
- Өнеркәсіптік өндіріс және ферменттерді қолдану екі маңызды факторға негізделген:
- біріншіден, ферменттер тірі жасушаларда түзіледі;
- екіншіден, олар тірі жасушаларға қарамастан ортада өзіндік әсерін көрсете алады.

Штаммның алғашқы бөлінуімен микроорганизмдер олардың мекендейтін жерлерінде мол субстратты жоюға бейімделеді, сондықтан осы субстратпен әрекеттесетін ферменттер түзеді.

Сондықтан целлюлазалар мен лигнолитикалық ферменттердің продуценттері орман топырақтарынан, пектиназ продуценттері – жемістер мен өсімдіктерден, несеп қышқылының деструкторлары – құс қорасынан және т. б. шығарылады.

Ферменттер өндірісінің бірінші кезеңі - ең көп мөлшерде қажетті ферментті құрайтын ағзаны таңдау.

Бұл ретте өндірушіге қойылатын мынадай жалпы талаптар ескеріледі:

- жасушадан тыс ферменттердің пайда болуы ұсынылады, өйткені оларды оқшаулау оңай;
- қысқа уақыт ішінде ферменттің жоғары өнімділігі;
- ферментті культуралық сұйықтықтан тазарту оңай болуы керек;
- штаммдар антибиотиктерді, улы заттарды шығармауы керек және токсиндерді құрайтын штаммдардың туыстары болмауы керек.

Суперсинтез ферменттерін қолдану өсудің қоршаған жағдайларының өзгеруіне байланысты және организмнің генетикасының өзгеруіне әкелетін бірқатар әдістер.

Микроорганизмдер - ферменттер продуценттерін культивациялау технологиясы және ферменттердің бөлінуі

Технологиялық процесті үш кезеңге бөлуге болады:

Егу материалын алу;

беткі немесе терең культивациялау әдістерімен өндірістік культураны алу;
 дайын өндірістік дақылдан техникалық немесе тазартылған ферменттік препараттарды бөлу.

Беттік әдіс микроорганизмдерді кюветтерде орналастырылған ылғалданған стерильденген бетінде өсіруден тұрады. Инкубацияны, арнайы термостатикалық цехта онда температура тұрақты кезінде жүргізеді, ылғалдылық және ауа беру бақыланады.

Терең әдіс үнемді. Оны іске асыру үшін стерильді ауаны араластыруға және сұйық қоректік ортаға беруге арналған құрылғылармен жабдықталған тот баспайтын болаттан жасалған ферментерлер қолданылады.

Ең прогрессивті - бұл ферментаторға қоректік орта мен тұқымдарды үздіксіз жеткізуді және өмірлік маңызды өнімдер мен микробиалды массаның үздіксіз іріктелуін қамтамасыз ететін ағынды әдіс.

Әдістің артықшылығы - микроорганизмдер культурасының өсуін ұзақ уақыт (200 күнге дейін) автоматты режимде ұстап тұру мүмкіндігі.

Әдістің артықшылығы - микроорганизмдер культурасының өсуін ұзақ уақыт (200 күнге дейін) автоматты режимде ұстап тұру мүмкіндігі.

Өнеркәсіпте коммерциялық препараттар кеңінен қолданылады, олардың жиілігі тек 0,1% құрайды (яғни 99,9% қоспалар).

Мұндай салаларға алкоголь, былғары, тоқыма өнеркәсібі, Ауыл шаруашылығы, тұрмыстық химия өндірісі жатады.

Тазартылмаған препараттар қоректік ортаның қалдықтарымен бірге микроорганизмдер культурасын жұмсақ кептіру режимінде алынады.

Мұндай препараттар беттік әдіспен өсірілген продуцент культурасының сығындысынан немесе терең әдіспен өсірілген продуцент мәдени сұйықтығының сүзіндісінен алынады

Азық-түлік, ғылыми зерттеулер мен медицинаның көптеген салалары тазартылған ферменттік препараттарды қажет етеді. Ферментті оқшаулау көзі микроорганизмдердің биомассасы, культуралық сұйықтықтың сығындысы немесе фильтраты болуы мүмкін.

Микроағзалардың биомассасын жасушаішілік құрылымдардың: лизосомалардың, митохондриялардың, ядролардың және т. б. бұзылуына дейін мұқият ұсақтау керек.

Содан кейін препараттар органикалық еріткіштермен, тұздармен тұндыру арқылы тазартылады, содан кейін диализ, аффиндік хроматография, қайта тұндыру, гель фильтрациясы, сорбция, кристалдану және т. б.

Ферменттер ақуыздық сипатқа ие болғандықтан, ілеспе балласты ақуыздарды инактивациялау кезінде олардың белсенділігін сақтайтын режимдерді сақтауға ерекше мән беріледі. Тазартылған ферменттер төмен температурада (минус 80 °С дейін) сақталады. Ферменттерді тұрақтандыру үшін олардың препараттарына коферменттер мен субстраттар қосылады.

Ферменттер адамның практикалық іс-әрекетінің әртүрлі салаларында биологиялық катализатор ретінде кеңінен қолданылады. Ферменттердің көздері жануарлар, өсімдіктер және микроорганизмдер болуы мүмкін. Қазіргі уақытта екі мыңнан астам ферменттердің болуы анықталды, олардың бірнеше жүздегені жеке заттар ретінде алынды.

Белсенді өндірушілерді алу. Мутанттар көп жағдайда бірқатар қосылыстарда ауксотрофты болады, өйткені оларда белгілі бір метаболикалық бұзылулар пайда болды, бұл жасушаның кейбір функцияларының гипертрофиясын тудырды. Әдетте табиғи көздерден анықталған белсенді штамдар мутагендердің әсеріне бірнеше рет ұшырайды, яғни сатылы таңдауды жүзеге асырады.

Нәтижесінде жоғары өнімді штамдар алынады. Көбінесе химиялық және физикалық сипаттағы мутагендердің аралас әсері тиімді. Осылайша, этилениминді және

ультракүлгін сәулеленуді сатылы іріктеумен бірге қолдану өте белсенді штаммдарын алуға мүмкіндік берді. амилолитикалық, протеолитикалық және басқа ферменттік кешендердің продуценттері ретінде қолданылады.

Өндірістік құнды штаммдарды іріктеу өндіріс жағдайында да жүргізіледі.

Дұрыс орнатылған өндірістік процестің міндетті шарты-бұл өндіруші микроорганизмдерді сақтау шаралары.

Жоғары биохимиялық белсенділікті қамтамасыз ететін өндірістік құнды штаммдарды сақтаудың бірқатар әдістері бар.

Зауыт зертханалары жанындағы тірі дақылдар мұражайларында дақылдар кезең-кезеңімен қайта егіледі. Алайда, қысқа уақыт аралығында қайта егу микроорганизмдердің белсенділігін төмендетуі мүмкін, сондықтан тығыз ортада культура дамығаннан кейін ол стерильді вазелин майымен құйылады.

Көптеген жағдайларда сақтаудың ең жақсы тәсілі - дақылдарды лиофилизациялау.

Микроорганизмдерді өсіруге арналған қоректік орта.

Мақсаты бойынша қоректік орта үш негізгі топқа бөлінеді:

- зертханада және мұражайда өндіруші штаммдарды сақтауға арналған орта,
- тұқым алуға арналған орта негізгі өндіріс процесінде үлкен көлемде қолданылатын орта.

Егер ортаның бірінші тобы микроорганизмдердің физиологиялық қажеттіліктері негізінде таңдалса, онда соңғы екі топ өндіріс талаптарын қанағаттандыруы керек, яғни олар өте арзан болуы керек.

Белгілі бір ферменттің жинақталуын қамтамасыз ететін ортаның құрамы өндірушілердің культурасын оқшаулау және сақтау үшін қолданылатын ортаның құрамынан айтарлықтай ерекшеленуі мүмкін.

Микроорганизмдерді өсіруге арналған қоректік орта.

Мақсаты бойынша қоректік орта үш негізгі топқа бөлінеді:

- зертханада және мұражайда өндіруші штаммдарды сақтауға арналған орта,
- тұқым алуға арналған орта
- негізгі өндіріс процесінде үлкен көлемде қолданылатын орта.

Егер ортаның бірінші тобы микроорганизмдердің физиологиялық қажеттіліктері негізінде таңдалса, онда соңғы екі топ өндіріс талаптарын қанағаттандыруы керек, яғни олар өте арзан болуы керек.

Белгілі бір ферменттің жинақталуын қамтамасыз ететін ортаның құрамы өндірушілердің культурасын оқшаулау және сақтау үшін қолданылатын ортаның құрамынан айтарлықтай ерекшеленуі мүмкін.

Ферменттерді оқшаулау және тұрақтандыру.

Микроорганизмдер ферменттерін бөлу және тазарту әдісін таңдау әртүрлі және локализацияға және қолдану мақсаттарына байланысты анықталады.

Тазартылмаған ферментті препараттар саңырауқұлақ мицелийін қатты субстратпен (Кебек, целлюлоза және т.б.) кептіру және ұнтақтау арқылы немесе бүріккіш кептіргіште культуралық сұйықтықпен бірге продуцентті кептіру арқылы алынады.

Кептірілген препараттар ұнтақталады және осы түрінде қолданылады. Мұндай препараттардың нақты ферменттік белсенділігі төмен, бірақ олар сақтау кезінде арзан және тұрақты. Осылайша амилазалар, протеаиназалар алынады.

Витаминдер, Провитаминдер, коферменттер.

М. с. әдісімен негізінен В12 дәрумені, ішінара В2 дәрумені және оның коферменттік формасы — флавинадениндинуклеотид (ФАД), каротиноидтар, эргостерин шығарылады.

Сонымен қатар, осы типтегі әртүрлі басқа қосылыстардың (никотинамидті коферменттер және т.б.) өндірісі дамуда. В12 дәрумені тек М. С. арқылы алынады.

Бұл ретте негізгі продуценттер ретінде пропион қышқылды бактериялар, актиномицеттер, сондай-ақ ашыту өнеркәсібінің қалдықтарын (спирттен кейінгі, ацетон-бутил бардтары және т.б.) пайдаланатын және негізінен азықтық концентрат (продуцент биомассасымен кептірілген орта) алу үшін қолданылатын метан ыдырататын бактериялар кешені қызмет етеді.

Микроорганизмдер синтездейтін ферменттер және олардың негізінде құрылған ферменттік препараттар халық шаруашылығында, әсіресе тамақ өнеркәсібінде үлкен маңызға ие болды.

Ферменттер — протеаз, амилаз, фосфатаз, целлюлаз, пектиназ, глюкозооксидаза, липаза, каталаза — көптеген мицелиалды саңырауқұлақтар, кейбір актиномицеттер мен бактериялар.

Ферменттің локализациясына байланысты микробтық масса немесе микроб жасушаларынан бос сүзгі өңделеді. Таза ферментті препараттарды алу айтарлықтай технологиялық қиындықтармен байланысты.

Мұндай препараттар әдетте өте қымбат; сондықтан өнеркәсіпте құрамында протеаздар мен липазалар, протеаздар мен амилазалар бар күрделі препараттар қолданылады.

Витамин жетіспеушілігінің себептері:

а. Экзогенді:

дұрыс тамақтанбау, яғни тамақпен жеткіліксіз тұтыну. XX ғасырдың ортасынан бастап Тамақ өнімдеріндегі дәрумендердің мөлшері орташа есеппен 50% - ға төмендегені анықталды.

Бұл қарқынды егіншілікпен және топырақтың сарқылуымен, жасыл масса мен әдемі көріністі арттыру үшін көкөністер мен жемістерді таңдаумен байланысты.

- гельминтозалар, лямблиозалар, дизентерия,
- Ішек дисбактериозы.

б. Эндогенді:

- сіңірудің бұзылуы (энтероколиттер, шығу тегі әртүрлі гастроэнтериттер). Мысалы, Аддисон-Бирмердің зиянды анемиясы,

бауыр мен өт қабының аурулары (майда еритін дәрумендер үшін), жоғары қажеттілік (жүктілік, лактация, физикалық белсенділік), кофермент түзетін ферменттердің генетикалық ақаулары.

Ресейде халықтың 89% – ы жазда да С дәрумені, 43% – В1 дәрумені, 44% – В2 дәрумені, 68% – В6 дәрумені, 22% - В12 дәрумені жетіспейді.

Әйелдердің 39%-ында фолий қышқылының жетіспеушілігі анықталды (шала туылу мен Болашақ балалардың деформациясының негізгі себептерінің бірі); 45% β-каротиннің (провитамин А) жетіспеушілігінен зардап шегеді, 21% - да Е дәрумені жеткіліксіз.

Кейбір дәрумендер ағзаға провитамин түрінде енеді.

Денеді Провитаминдер белсенді формаларға айналады, мысалы:

каротиноидтар А дәруменіне айналады,

тағамдық эргостерол немесе 7-дегидрохолестерол ультракүлгін сәулелердің әсерінен тиісінше эргокальциферол (D2) және холекальциферол (D3 витамині) айналады.

Биохимиялық реакцияларда витаминдік коэнзимдерді алмастыратын немесе коэнзим синтезіне кедергі келтіретін немесе витаминнің әсеріне кедергі келтіретін заттар антивитаминдер деп аталады, мысалы:

- дикумарол (антивитамин К) – қанның ұю факторларының синтезін тежейтін К витаминінің белсенді түрінің пайда болуына жол бермейді,
- изониазид (антивитамин РР) – тотығу-тотықсыздану реакцияларының жүруін бөгейтін НАД және НАДФ-қа ұқсас" дұрыс емес " коферменттер түзеді,

ОҢТҮСТІК-ҚАЗАҚСТАН MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ		SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Дәрілер технологиясы кафедрасы «Фармацевтикалық биотехнология» пәні бойынша дәріс кешені	044-43/ - (2023-2024) Стр. 40 из 19	

- птеридиндер (антифолаттар) – В9 витаминін реакциялардан ығыстырып, пурин және пиримидин негіздерінің, соның салдарынан нуклеин қышқылдарының синтезіне жол бермейді,
- авидин (антивитами́н Н) – ішектегі витаминмен байланысады және оның қанға сіңуіне жол бермейді.

4. Иллюстрациялық материал: презентация.

5. Әдебиет: 1-қосымшада ұсынылған.

6. Бақылау сұрақтары:

1. Патологиялық процесті жою үшін жеке ферменттердің ерекше қасиеттерін қолдану.
2. фармацевтикаға арналған ферменттердің ақуыздық инженериясы.

1. Тақырыбы: Жоғары ағзалар жасушаларының соматикалық гибри дері. Нақты антигенгенимундық жауаптың механизмі. Поликлоналды және моноклоналды антиденелерд алу және қасиеттері. Иммунобиотехнология туралы түсінік. Вакциналар. Гибридомдық биотехнология.

2. Мақсаты: білім алушыларды биообъект өндіріс құралы ретінде, биологиялық объектілердің жіктелуін, олардың қасиеттері, биотехнология әдістерін мақсатты өнімдердің бағытталған биосинтезінің физиологиялық тәсілдерімен таныстыру.

3. Дәріс тезистері:

Соматикалық жасушалар дегеніміз не? "Соматиш" термині жалаңаш дегенді білдіреді. Соматикалық жасуша-бұл дене жасушасы. Соматикалық жасушалар лейкоциттерден тұрады. Сүт безінің сүтінде олардың құрамында: Макрофаген (60%), Лимфозит (25%) және полиморфты ядро (полиморф - керниг) нейтрофил Гранулоцит (15%) / Ігкж желіннің ластанған бөлігінен алынған сүттегі барлық жасушалардың 99% - ы ақ қан жасушалары, ал 1% - сүт түзетін бездер тінінің жасушалары. Бұл екі жасуша бірігіп, мл-мен өлшенетін сүт жасушаларының соматикалық санын құрайды, сүт безінің қабыну дәрежесін бақылау үшін соматикалық жасушалар саны сияқты фактор үлкен маңызға ие. Соматикалық жасушалардың саны желіннің жеке төрттен бір бөлігінің, жеке сиырлардың, жеке табынның немесе табын тобының сүтінде анықталады. Соматикалық жасушалардың екі міндеті бар: Патогендік микробтарды фагоциттеу, яғни оларды өз құрамына қабылдау және жою. Зақымданған немесе кесілген тіндерді қалпына келтіруге көмектесу. Соматикалық жасушалардың санына әсер ететін факторлар. Жасуша санының өзгеруі-бұл белсенді процесс биологиялық процесс, оның сандық көрінісі соматикалық жасушалар мен мастит қоздырғыштары арасындағы тұрақты және ұзақ күрес нәтижесінде айтарлықтай өзгереді. Сиырдың желініндегі, демек, салқындатқыш резервуардың сүтіндегі осындай жасушалардың санына әсер ететін маңызды фактор көктамыршілік инфекциялар болып табылады. Мұнда көптеген табындарда сиырлардың 5% - ы бір табынға шаққандағы соматикалық сүт жасушаларының жалпы құрамының 50% -, анықтайтынына назар аудару керек. Соматикалық жасушалардың саны қоздырғыштардың санына, түріне және қабыну дәрежесіне байланысты бірнеше мыңнан бірнеше миллионға дейін жетуі мүмкін. Егер мұндай жасушалары аз сиырларда, бір қарағанда, денсаулығының өзгеруі байқалмаса, онда бұл жасушалардың жоғары көрсеткіштері бар сиырларда сапасыз сүт бар, оны жеткізуге болмайды. Алайда, екеуі де өндіріске қауіп төндіреді және жалпы сүттің соматикалық жасушаларының санына теріс әсер етеді. Маститтің субклиникалық формалары бар сиырлар ауыр зардаптарға әкеледі, өйткені олар негізінен жалпы сүттің соматикалық жасушаларының санын анықтайды, ал олардың сүтінде айқын белгілер жоқ және қалыпты болып көрінеді. Соматикалық жасушалардың саны үнемі өзгермейтіндіктен және күн сайын, аптадан аптаға дейін өзгеретіндіктен, сиырдың немесе оның желінінің төрттен бір бөлігінің инфекциялық күйін тек бір сынақ нәтижелеріне сүйене отырып бағалау мүмкін емес. Соматикалық жасушалардың санына әсер ететін басқа да анықтаушы факторларды келтірейік. Инфекциялық мәртебе. Соматикалық сүт жасушаларының санына қатты әсер ететін Фактор-бұл желін ішіндегі инфекциялар. Мастит қоздырғыштары желіннің төрттен біріне енгенде немесе олардың жұқтырған төрттен бір бөлігі өскенде, организм қоздырғыштармен күресетін ақ қан жасушаларын шығара бастайды. Көп жағдайда соматикалық жасушалар микробтардың санын сәтті азайтады, бірақ кейбір микробтар әлі де өмір сүре алады. Нәтижесінде соматикалық жасушалардың саны біраз уақытқа азаяды, бірақ микробтар көп мөлшерде көбейе бастағаннан кейін процесс қайтадан басталады. Бұл құбылыс соматикалық

жасушалар санының ауытқуымен түсіндіріледі. Пенсильвания мемлекеттік университетінде (Нью - Йорк) сау сиырлар мен жұқтырған сиырлардың барлық ширектеріндегі сүт сынамаларындағы соматикалық жасушалардың санын бір табында салыстыруға бағытталған зерттеулер жүргізілді. Нәтижелер кестеде келтірілген.

Иммунобиотехнология - бұл қазіргі заманғы биотехнологияның бір саласы, ол ғылыми жетістіктермен қатар, диагностикалық, профилактикалық және дәрілік заттардың қарқынды дамып келе жатқан технологиялық өндірісімен, иммундық жүйенің әртүрлі агенттері мен процестерін қолдана отырып ұсынылған.

Иммунобиотехнология мыналарды қамтиды:

- инфекциялардың таралуын кеңінен зерттеу үшін диагностикалық тест - жүйелер (диагностикумдар) индустриясына вакциналар жасауды
- иммуномодуляторлар поликлональды және моноклоналды антиденелерді алуды.
- Адамның сыртқы қолайсыз факторлардың, биологиялық белсенді агенттердің әсерінен қорғайтын иммундық жүйесі бар екені белгілі.
- Мұндай агенттер - микроорганизмдердің жасушалары, вирустар, ақуыздар, нуклеин қышқылдары, антибиотиктер, антигендердің жалпы атауымен біріктірілген пестицидтер.
- "Антиген" ұғымы жалпы болып табылады, өйткені ол антиденелерді алуға болатын белгілі бір химиялық құрылымды білдіреді.
- Сыртқы ортаның антигендері адам ағзасына ауамен, сумен, тамақпен, шырышты және тері арқылы енеді.
- Иммундық жауап - бұл белгілі бір гормондардың қатысуымен әр түрлі типтегі лимфоциттер жасушалардың жасушааралық өзара әрекеттесуінің күрделі процесі, нәтижесінде В жасушалары осы антигенге қарсы нақты антиденелерді белсенді синтездейді.
- Антигендердің бір бөлігі адамға вакциналар мен иммуномодуляциялық препараттар (агенттер) түрінде түсуі мүмкін.

• **Иммуномодуляторлар** ағзаның иммундық реакциясын күшейтеді немесе әлсіретеді.

Иммуномодуляторлар тобындағы препараттарға иммундық процестерді ынталандыратын және иммунокомпетентті жасушаларды (Т - және В-лимфоциттер) және иммунитеттің қосымша факторларын (макрофагтар және т.б.) белсендіретін ерекше қабілеті бар

- Жануар
- Микробтық
- Ашытқы
- синтетикалық шығу тегі препараттар жатады.

Дененің жалпы қарсыласуының жоғарылауы белгілі бір дәрежеде бірқатар ынталандырушы агенттерінің (кофеин, элеутерококк және т.б.), дәрумендердің, дибазолдың, пиримидин туындыларының - метилурацилдің, пентоксилдің (регенерацияны тездетеді, лейкопозді күшейтеді), нуклеин қышқылдарының туындылары мен биогендік препараттардың әсерінен пайда болуы мүмкін - адаптогендер.

Бұл препараттардың ағзаның төзімділігін арттыру, регенерация процестерін жеделдету қабілеті баяу қалпына келтіру процестерін, инфекциялық, қабыну және басқа ауруларды кешенді терапияда кеңінен қолдануға негіз болды.

Жасушалық және гуморальды иммунитеттің жұмысында тимус безі (тимус) маңызды рөл атқарады. Онда бағаналы жасушалардың лимфоциттерге бөлінуі, сондай-ақ лимфоциттердің белгілі бір жасушаларының дамуы мен жетілуіне әсер ететін белгілі бір заттардың (гормондардың) секрециясы жүреді.

Тимус безінен бірқатар полипептидті гормондар (тимозин, гомеостатикалық тимус гормоны, тимопоэтин I және II, тимус гуморальды факторы) және стероидты (тимостерол) құрылым бөлінеді.

Иммуностимулятор ретінде қолданылатын бірқатар экстрактивті препараттар (тималин, тактивин, тимоптин, вилозен) алынды; олардың барлығында жоғарыда аталған тимус безінің гормондары (соның ішінде альфа-тимозин) бар.

Иммундық жүйенің басқа мүшесінен - сүйек кемігінен-в-активин препараты алынды. Синтетикалық иммуностимуляторларға левамизол, бірқатар пептидті иммуностимуляторлар (тимоген, иммунофан және т.б.) жатады.

Иммуномодуляторлар бөлінеді: микробтық иммуномодуляторлар тимикалық иммуномодуляторлар сүйек-ми иммуномодуляторлары цитокиндер, нуклеин қышқылдары және химиялық таза.

Микробтық иммунокорректорлар. Микробтан шыққан иммунокорректорларды шартты түрде үш ұрпаққа бөлуге болады. 1950 жылдың басында АҚШ пен Еуропа елдерінде иммуностимулятор ретінде медициналық қолдануға рұқсат етілген иммуномодулятор туа біткен және жүре пайда болған иммунитеттің факторларын күшейту қабілеті бар БЦЖ вакцинасы болды.

Микробтық иммунокорректорлар.

Бірінші буын иммуномодуляторларына бактериалды полисахаридтер болып табылатын пирогенал және продигиозан сияқты дәрі-дәрмектер жатады.

Екінші буын иммунокорректорларына Бронхомунал, ИРС-19, Имудон, Бронхо-Ваксом, Рибомунил, Ликопид жатады.

Эндогендік иммуномодуляторларды имунорегуляторлық пептидтер мен цитокиндерге бөлуге болады.

Құрамында иммунокорректорларға: тимикалық пептидтер кешені, Тималин, Тимоптин және т. б., тимус сығындылары-Тимостимулин және Вилозен.

Тимоген-2 буын иммуномодуляторларына жатады және аминқышқылдары-1-глутамил-L-триптофан.

Миелопид аминқышқылдарынан тұрады, оның құрамы толығымен декодталған, бұл сүйек кемігінен шыққан жаңа синтетикалық иммуномодуляторлардың дамуына алғышарт болды: Серамил, Бивален

Бағытталған химиялық синтез арқылы алынған жоғары молекулалық, химиялық таза иммунокорректорларға Полиоксидоний иммуномодуляторы жатады

Полиоксидоний ағзаға кең спектрдің фармакологиялық әсеріне ие: иммуномодуляциялаушы; детоксикация; антиоксидантты; мембранопротекторлы.

Полиоксидонийдің детоксикациялық қасиеттері оның қандағы улы заттардың концентрациясын төмендету қабілетінде көрінеді, мысалы, күйік ауруы бар науқастарда энтеробактериялардың липополисахарид деңгейі.

Полиоксидоний қандағы еритін улы заттар мен микробөлшектерді қарқынды түрде адсорбциялайды. Иммундық жауаптың қалыптасуы бірқатар имунорегуляциялық молекулалардың бақылауымен жүреді.

Иммуномодуляторлар шартты түрде бөлінеді: иммуностимуляторлар-иммунитетті арттыратын заттар имунитетті төмендететін имуносупрессанттар (имуносупрессорлар)

Бұл белгісіздік аурудың сипатына, науқастың жағдайына және басқа жағдайларға байланысты имуносупрессанттар ынталандыруы мүмкін, ал иммуностимуляторлар дененің иммундық реакциясын тежейді.

Иммуномодуляторлар ғана емес, сонымен қатар көптеген биологиялық белсенді заттар мен кешендер, соның ішінде дененің өзі шығаратын иммундық реакцияларды

ынталандыру немесе басу қабілетіне ие.

Иммуномодуляторлар шартты түрде бөлінеді: иммуностимуляторлар-иммунитетті арттыратын заттар иммунитетті төмендететін иммуносупрессанттар (иммуносупрессорлар).

Бұл белгісіздік аурудың сипатына, науқастың жағдайына және басқа жағдайларға байланысты иммуносупрессанттар ынталандыруы мүмкін, ал иммуностимуляторлар дененің иммундық реакциясын тежейді.

Иммуномодуляторлар ғана емес, сонымен қатар көптеген биологиялық белсенді заттар мен кешендер, соның ішінде дененің өзі шығаратын иммундық реакцияларды ынталандыру немесе басу қабілетіне ие.

Иммуносупрессорлар

- Иммуносупрессорлар ретінде қолданылады: азатиоприн, глюкокортикоид препараттары (преднизон, преднизолон және т. б.),
- ісікке қарсы дәрілер тобының көптеген препараттары (ісікке қарсы дәрілер) (метотрексат, меркаптопурин, циклофосфан, миелосан, хлорбутин, розевин және т. б.),
- белгілі иммуносупрессивті белсенділігі бар кейбір антибиотиктер (адриамицин, циклоспорин А және т.б.).

Иммуностимуляторлар

Иммуностимуляторларға жатады:

- синтетикалық препарат левамизол,
- айырша безінен алынатын препараттар (тималин, тактивин),
- құрамында микробтық липополисахаридтер бар препараттар (мысалы, пирогенал, продигозан, БЦЖ вакцинасы).
- Интерферондар иммуностимуляторлық белсенділікке ие.

Иммуносупрессорлар

Иммуносупрессорлар ағзаның иммундық реакциясын негізінен иммунокомпетентті жасушалардың, ең алдымен лимфоциттердің көбеюін басу арқылы тежейді.

Бұл осы кіші топтың препараттары I. S. цитостатикалық әсерге ие, яғни жасушалық даму циклінің жеке немесе барлық кезеңдерінде жасушалардың бөлінуін (әсіресе тез көбейетін және соның ішінде лимфоциттердің) басу қабілетіне ие.

Жасушалық даму цикліне әсер ету ерекшеліктеріне байланысты иммуносупрессорлар арасында:

- фазаға тән,
- Циклоспецификалық
- циклонға тән препараттар болып ерекшеленеді.

Фазоспецификалық препараттар

Фазаға тән (S-фазаға тән) препараттар (азатиоприн, меркаптопурин, метотрексат және т.б.) ДНҚ синтезі фазасында лимфоциттер мен басқа жасушалардың бөлінуін тежейді.

Бұл препараттар иммунокомпетентті жасушалардың максималды көбеюі кезеңінде, яғни иммунизациядан кейінгі 1-2-ші күні тиімді.

Мұндай препараттардың әсер етуінің молекулалық механизмдері нуклеотидтер синтезінің бұзылуы, РНҚ мен ДНҚ полимерленуінің тежелуі, "қаулы" (тұрақсыз) ДНҚ молекулаларының пайда болуы.

Циклоспецификалық препараттар

Циклоспецификалық препараттар (миелосан, адриамицин және т.б.) жасушалық циклдің барлық фазаларында лимфоциттердің көбеюін тежейді. Иммундық реакциялардың ең көп басылуы осы препараттарды иммунизациядан 1-2 күн бұрын енгізу кезінде байқалады.

Олардың әсер етуінің молекулалық механизмдері жасушаның әртүрлі метаболиттерінің, әсіресе ДНҚ-ның алкилденуінен (көмірсутекті радикалдардың қосылуынан), сондай-ақ ДНҚ-ға интеркаляциядан (ендіруден) және оның көбеюі үшін қажетті жасуша геномының активтенуінің алдын алудан тұрады.

Циклонеспецификалық препаратта

Циклонспецификалық емес тән препараттар (циклофосфан) цитостатикалық және цитотоксикалық әсерге ие, яғни пролиферациялық жасушалардың бөлінуін тежеп қана қоймайды, сонымен қатар демалатын (пролиферацияланбайтын) лимфоциттердің өмірлік белсенділігін тежейді.

Осыған байланысты мұндай препараттар иммундық реакцияларды антигенмен байланысқанға дейін де, одан кейін де тежейді.

Молекулалық әсер ету механизмдері бойынша циклофосфан миелосанға және ДНҚ-ны алкилдеу қабілеті бар басқа циклонспецификалық препараттарға ұқсас.

Циклоспорин А

А циклоспориннің иммуносупрессивті әсері осы препараттың антиген әсерінен иммунокомпетентті жасушалардың белсендірілуін бөгеу қабілетіне байланысты, бұл олардың пролиферациясына кедергі келтіреді.

Бұл ішінара циклоспорин а интерлейкин-2 хелперлерінің синтезін тежейді және эффекторлық лимфоциттердің мембраналарында интерлейкинге сезімтал-2 рецепторлардың көрінуіне жол бермейді.

Циклоспорин А-дан басқа, интерлейкиндердің өндірісі глюкокортикоид препараттарын, циклофосфанды және басқа иммуносупрессорларды бұзады.

Иммуносупрессорларды клиникалық қолдану тактикасы бірнеше препараттардың ұзақ мерзімді аралас тағайындалуына дейін азаяды. Науқастардың иммундық статусын зертханалық зерттеу нәтижелері мен клиникалық деректері (иммуноглобулиндердің құрамы, Т - және В-лимфоциттердің жалпы саны, бластотрансформация реакциясы және т.б.) емдеу тиімділігінің критерийлері болып табылады.

Көптеген иммуносупрессивті препараттардың жанама әсерінің ең көп кездесетін көрінісі - бұл тез таралатын тіндердің зақымдануынан туындаған асқынулар, мысалы, асқазан-ішек жолдарының шырышты қабығының эрозиясы, сүйек кемігінің гемопоэзін тежелуі.

Иммуностимуляторлар

Иммуностимуляторлардың тән ерекшелігі-олардың әрекеті иммундық жүйенің депрессиясы аясында ғана көрінеді. Олар дененің қалыпты иммунологиялық әлеуетін арттырмайды.

Иммуностимуляторлардың негізгі әсері Т - және В-лимфоциттердің санын, сондай-ақ иммунитеттің моноциттік-макрофагты байланысының жасушаларының санын көбейту болып табылады.

Сонымен қатар, бұл жасушалардың функционалды белсенділігі артады (мембраналарда интерлейкинге сезімтал рецепторлардың көрінісі артады, РНҚ мен ақуыз синтезі күшейеді).

Кейбір иммуностимуляциялық препараттардың (тималин, тактивин) әсерінен интерлейкин-1, интерлейкин-2 және интерлейкин-4 синтезі артатыны анықталды, олардың қатысуымен иммундық жүйенің жасушаларын біріктіру процесі жүреді. Кейбір иммуностимуляторлық препараттар (пирогенал, продигозан, БЦЖ вакцинасы) иммунитетке жанама емес әсер етеді.

Иммуностимуляторлар негізінен бастапқы (туа біткен) және қайталама (сатып алынған) иммун тапшылығы жағдайында қолданылады, соның ішінде қатерлі ісік, радиациялық ауру, созылмалы, жалқау инфекциялар және т.б. иммуностимуляторлардың

жанама әсерлері жеке препараттарға тән.

Моноклональдық антиденелер

Моноклоналды антиденелер бұл атауды алды, өйткені оларды жасушалардың бір клоны шығарады. Бұл құбылысты културада в лимфоциттері өссе байқауға болады. Лимфоциттерді белгілі бір нысанаға антиденелер шығаруға немесе олардың бетімен байланысқан кезде антигенге қосуға болады.

Байланыстыру лимфоцитті тиісті антиденелер шығаруға ғана емес, сонымен қатар оның клондарының пайда болуына әкелетін жасушаның бөлінуін қоздырады.

Бұл антиденелердің бір түрін шығаратын клондар. Жасуша културасында байқалатын лимфоциттердің бір түрінің бөлінуі организмде де жүреді.

Моноклоналды антиденелер (МАД) жалғыз антидене түзетін жасушадан шыққан иммундық жасушалар арқылы шығарылады.

Сондықтан МАД тек "антигендік детерминанттар" деп аталатын иммуногендік заттың белгілі бір эпитопына қарсы бағытталған.

МАД алу үшін иммунизацияланған тінтуірдің көкбауырынан лимфоциттер оқшауланып, олар тінтуірдің ісік жасушаларымен (миелома жасушалары) біріктіріледі.

Бұл қажет, өйткені културадағы антидене түзетін лимфоциттердің өміршеңдігі бірнеше аптаға ғана шектеледі.

Ісік жасушасымен біріктірілген кезде гибридті жасушалар пайда болады, олар гибридомалар деп аталады, олар Өлмейтін болады.

Шын мәнінде, тек бір гибридомды жасушалар антиденелер шығара алады. Мұндай жасушаларды клондау арқылы бөліп алып, көбейту керек.

Клондарды антиденелерді қалыптастыру қабілетіне тестілеуден кейін оң културалар таңдалады, олар қайтадан клондалады және кейіннен іріктеледі.

Нәтижесінде моноклоналды антиденелер шығаратын гибрид алынады. Осы жасушалар моноклоналды антиденелер өндірісін биореакторда *in vitro* немесе асцит сұйықтығында *in vivo* жүзеге асырады.

Моноклоналды антиденелер алу

Адамның қажеттіліктері үшін антиденелер алу жануарларды иммундаудан басталады.

Антигенді бірнеше инъекциядан кейін иммундық жауап стимуляторларының қатысуымен қан сарысуында нақты антиденелер жиналады. Антиденелер қан сарысуын аммоний сульфаты, алкоголь, ПЭК және басқа заттармен тұндыратын G-глобулин фракциясы түрінде Сарысудан шығарылады.

Алынған антиденелердің құрамында көптеген қоспалар бар. Жоғары тазартылған антиденелер ион алмасу хроматографиясы арқылы шығарылады.

Стандартты препараттарды алу өте қиын, өйткені олардың құрамы жануардың түріне, оның жеке ерекшеліктеріне, иммундау цикліне және басқа да бақыланбайтын факторларға байланысты.

Сонымен қатар, қазіргі биохимиялық талдау үшін ерекшелігі өте маңызды, яғни бұл затты қан сарысуы, өсімдік шырыны, ферменттік орта сияқты күрделі көп компонентті ортада оқшаулау мүмкіндігі.

Бұл "антиген - антидене" қағидаты бойынша өзара әрекеттесетін антиденелерді қолданатын иммунохимиялық әдісті қолдану кезінде мүмкін.

Мұндай талдауды жүргізу үшін бірдей антиденелер қажет, олардың синтезі әдеттегі әдістермен қабылданбайды.

Мәселені шешуді 1975 жылы ағылшын ғалымдары Георгий Келлер мен Цезарь Милштейн ұсынған.

Олар жасуша гибридтерін - гибридтерді алу әдістемесін жасады.

Гибридомалар иммунизацияланған жануарлардан алынған лимфоциттердің *in vitro* өсіретін сүйек кемігінің миелома жасушаларымен бірігуі нәтижесінде пайда болады.

Жануар иммунизацияланады, антигенді енгізуге жауап ретінде тінтуірдің денесінде В-лимфоциттер антиденелерін шығарады. Бұл жасушалар тек қабылдаушы организмде өмір сүре алады, жасанды қоректік ортаға ауысқан кезде олар өледі.

Егер иммундық жасушаны ісікпен біріктірсе, жасанды ортада шексіз өмір сүре алатын гибридті жасушалар пайда болады. Сонымен қатар, олар антиденелерді синтездеу қабілетін сақтайды.

Антиденелердің белгілі бір түрлерін синтездейтін будандар селективті өсу орталарында таңдалады. Содан кейін олар культуралық сұйықтыққа орналастырылады, онда олар көбейіп, көптеген байланысты жасушаларды (клон) құрайды.

Мұндай клондар моноклоналды (МКА) деп аталатын антиденелерді синтездей алады. МКА-құрылымы мен ерекшелігі бойынша біртекті антиденелер, оларды шексіз мөлшерде өндіруге болады.

Антиденелерді алудың тағы бір әдісі алынған гибридоманы тышқанның іш қуысына енгізуге негізделген. Онда гибридома көбейіп, асциттік ісіктің пайда болуына әкеледі (іш қуысын толтыратын сұйықтықта жүзетін жасушалардың жиналуы).

Бұл әдіс жоғары концентрацияланған антидене препараттарын алуға мүмкіндік береді. Бірақ жаппай өндіріс бір уақытта бірнеше мың тышқанды қолдануды қажет етеді. Сонымен қатар, алынған материал қосымша тазалауды қажет етеді.

Бұл қымбат және уақытты қажет етеді, сондықтан қазіргі уақытта жасуша мәдениетін қолдана отырып, бірінші әдіске артықшылық беріледі.

Антигенге қарсы антиденелердің жоғары ерекшелігі оларды макромолекулалар, жасуша фрагменттері немесе тұтас жасушалар болсын, әртүрлі заттарды анықтауға арналған қуатты құралға айналдырады.

Гендік инженерияда моноклоналды антиденелер рекомбинантты иммуногендердің құрамындағы протективті эпитоптарды анықтау үшін сәтті қолданылады.

Суда еритін полимерге бекітілген моноклоналды антиденелер хроматографиялық тазартудың және вирустық антигендердің қоспасынан, соның ішінде В гепатиті вирусының беткі антигенінен және әртүрлі биологиялық белсенді заттардан, мысалы интерферондардан босатудың жақсы құралы ретінде қызмет етеді.

Моноклоналды антиденелер белгілі бір дәрежеде А, В, С және D гепатиттерінің вирустарымен жұмыс жасауда қолданылды.

Моноклоналды антиденелерді алу процедурасы келесі кезендерді қамтиды:
жануарларды иммундау;

- жасушаларды бірігуге дайындау;
- біріктіру;
- арнайы антиденелерді тудыратын клондарды іріктеу; клондау және реклонирлеу;
- гибридомды жасушалардың жаппай дамуы;
- құрамында антиденелер бар культуралық сұйықтық немесе асцит алу;
- антиденелерді оқшаулау.

Сарысулар

Нақты иммундық сарысуларда микроорганизмдердің белгілі бір түрлеріне антиденелер болады.

Сарысу препараттары келесі мақсаттарда қолданылады:

- емдеу үшін, өйткені ағзаға антиденелер енгізу микробтар мен олардың токсиндерін тез залалсыздандыруды қамтамасыз етеді;
- алдын алу үшін, науқаспен немесе жұқтырған материалмен байланыста болған адамның иммунитетін тез қалыптастыру;

- микроорганизмнің түрін (түрін) анықтауға мүмкіндік беретін Науқастан оқшауланған микроорганизм.

Сарысуды адам ағзасына енгізу пассивті иммунитетті тудырады.

Жануарларды токсидтармен немесе микробтық токсиндермен иммундау арқылы алынған антитоксикалық сарысулар және бактериялар мен эндотоксиндермен жануарларды бірнеше рет иммундау кезінде Үй жануарларына қарсы микробқа қарсы сарысулар бар.

Науқастың ағзасындағы экзотоксиндерді тез бейтараптандыратын ең тиімді антитоксикалық сарысулар. Олар дифтерия, скарлатина, сіреспе, ботулизм, газ гангрены және стафилококктардан туындаған ауруларды емдеу үшін қолданылады. Микробқа қарсы сарысулар аз тиімді, сондықтан олар аз қолданылады.

Алу

Емдік және профилактикалық гетерологиялық сарысулар есектер мен жылқыларды иммундау арқылы алынады, өйткені бұл жануарлар басқаларға қарағанда реактивті және антиденелердің көп шығуын қамтамасыз етеді. Сонымен қатар, жылқы ақуызы анафилоксиген болып табылады.

Жануарлардың уытқа қарсы сарысуларын алу үшін басында анатоксинмен, ал базистік иммунитетті қалыптастырғаннан кейін - токсиннің ұлғайған дозаларымен иммунизациялайды. Бактерияға қарсы сарысулар жануарларға өлтірілген немесе тірі микробтарды енгізу арқылы алынады. Плазма жануарлардың қанынан шығарылады, содан кейін одан Сарысу фибрин алынады.

Бұл жануарлардан қан алу антиденелердің максималды мөлшері кезеңінде жасалады, бірақ бұл үшін антиденелердің титрі сияқты көрсеткіш бойынша қанды үнемі бақылау қажет.

Бактерияға қарсы және вирусқа қарсы сарысулар тестіленбейді және клиникалық көрсеткіштер бойынша миллилитрмен енгізіледі. Олардың дозасын анықтау кезінде аурудың ауырлығы, күні және науқастың жасы ескеріледі.

Жоғарыда сипатталған әдіспен алынған сарысулық препараттар салыстырмалы түрде төмен белсенділікпен және қоспалардың едәуір мөлшерімен сипатталады.

Сарысуларды жасанды қоректік ортада өсірілетін Жануарлар жасушаларынан да алуға болады. Алайда, бұл жағдайда басты проблема олардың генетикалық тұрақсыздығына, генетикалық өрнектердің сәйкес келмеуіне және қартаюуына байланысты жануарлардың жасушаларының тұрақты өсуін қамтамасыз ету болып табылады.

Көбінесе жұқпалы ауруларды емдеу және алдын-алу үшін сау донорлардың, ауру адамдардың гомологиялық сарысулары немесе плацентарлы қан препараттары қолданылады.

Уыттылықты төмендету, аллергиялық әсерді және иммуноглобулиндердің концентрациясын азайту мақсатында сарысулар балласты ақуыздардан босатылады.

Сонымен қатар, 0° С температурада алкоголь-су қоспаларын қолдана отырып, фракциялау, ультрадыбыстық, электрофорез, ферментативті гидролиз әдістері қолданылады.

Антиденелердің жоғары титрлері бар сарысуы ақуыздарының тазартылған және концентрацияланған гамма-глобулин фракциясының препараттары иммуноглобулиндер деп аталады, ал іс жүзінде гамма - глобулиндер деп аталады. Адамның гамма-глобулинін өндірудің заманауи технологиясы гепатит вирустарының толық жойылуына кепілдік береді.

Қорытынды

Қолданыстағы дәстүрлі вакциналар, оларды кеңінен қолданудың айқын оң әсеріне қарамастан, бірқатар кемшіліктерге ие.

Оларға мыналар жатады: жағымсыз биологиялық белсенді заттардың болуыпрепараттардағы балласт компоненттерін,антигендердің иммунологиялық қасиеттері төмен.

Сонымен қатар, иммунитетті тудырмайтын аурулар бар, оларға қарсы вакциналар мүлдем жоқ және оларды классикалық принциптер негізінде құру мүмкін емес. Мұның бәрі бұрыннан бар вакциналарды жетілдіруді және вакциналардың түбегейлі жаңа түрлерін жасауды қажет етеді.

Осы саладағы ең перспективалы бағыттардың бірі гендік инженерия әдістері негізінде вакциналық препараттарды алу болып табылады.

Гендік инженерия мен биотехнологияның соңғы жетістігі құрамында нуклеин қышқылдарының гибриді молекулалары бар рекомбинантты вирусқа қарсы вакциналар жасау болды. Бұл вакциналардың бірқатар артықшылықтары бар.

Олар балласт компоненттерінің болмауымен (немесе айтарлықтай төмендеуімен), толық зиянсыздығымен, вакциналардың өнеркәсіптік өндірісінің арзандауымен байланысты төмен құнымен сипатталады. Вакцинацияланған жануардың жасушаларында көрсетілген ақуыз ана тіліне жақын конформацияға ие және жоғары антигендік белсенділікке ие.

Осылайша, рекомбинантты вирусқа қарсы вакциналар вакциналардың соңғы буыны болып табылады. Олардың айқын артықшылығы вакциналардың бұл түрін халық пен ауылшаруашылық жануарларын вакцинациялау үшін медицинада және ветеринарияда кеңінен қолдануға әкеледі.

Рекомбинантты цитокиндердің дәрілік түрлерін әзірлеудегі инновациялық иммунобиотехнологиялар

Цитокиндер-бұл жүйке және эндокриндік реттеумен қатар, ең алдымен қоздырғыштарды енгізу және тіндердің тұтастығын бұзу кезінде гомеостазды сақтаумен байланысты организмнің негізгі функцияларын реттеудің жаңа тәуелсіз жүйесі.

Соңғы үш онжылдықта көптеген цитокиндердің гендері клондалып, Табиғи молекулалардың биологиялық қасиеттерін толығымен қайталайтын рекомбинантты аналогтар алынды. Цитокиндік терапияның болашағы иммунобиотехнологияның соңғы жетістіктерін қолдану арқылы алынған гендік-инженерлік препараттармен байланысты.

Цитокиндер-бұл жүйке және эндокриндік реттеумен қатар, ең алдымен қоздырғыштарды енгізу және тіндердің тұтастығын бұзу кезінде гомеостазды сақтаумен байланысты организмнің негізгі функцияларын реттеудің жаңа тәуелсіз жүйесі.

Соңғы үш онжылдықта көптеген цитокиндердің гендері клондалып, Табиғи молекулалардың биологиялық қасиеттерін толығымен қайталайтын рекомбинантты аналогтар алынды. Цитокиндік терапияның болашағы иммунобиотехнологияның соңғы жетістіктерін қолдану арқылы алынған гендік-инженерлік препараттармен байланысты.

4. Иллюстрациялық материал: презентация.

5. Әдебиет: 1-қосымшада ұсынылған.

6. Бақылау сұрақтары:

1. Дәрілік заттарға антиденелер (гормондарды, антибиотиктерді, аллергендерді тестілеу). Иммунобиотехнология туралы түсінік.
2. Вакциналарды, сарысуларды, диагностикумдарды, резистогендерді және биосенсорларды өндіру. Вакциналар. Олардың практикалық медицина үшін маңызы. Гибридомдық биотехнология.
3. Препараттардың сапасын бағалау.

№ 9 ДӘРІС

1. Тақырыбы: Өнеркәсіптік ферменттік препараттар. Оларды алу технологиясы. Антибиотиктер туралы түсінік, жіктелуі. Антибиотиктер Биосинтезінің процесі табиғи биополимер- полисахаридтердің негізгі көздері.

2. Мақсаты: білім алушыларды өнеркәсіптік ферменттер, олардың қасиеттері, қолданылу аясы. Алу технологиясы. Антибиотиктердің сапасына қойылатын заманауи халықаралық талаптар. Табиғи биополимер–полисахаридтердің өндіру болашағымен таныстыру.

3. Дәріс тезистері:

Жоспары:

1. Антибиотиктердің жалпы сипаттамасы
2. Микроорганизмдер - антибиотиктер өндірушілер.
3. Антибиотиктерді алу ерекшеліктері.
4. Пенициллин өндірісінің технологиялық схемасы
5. Микроорганизмдерді стероидты гормондар, простагландиндер синтезінде қолдану.

Антибиотиктердің жалпы сипаттамасы

"Антибиотик" терминін 1942 жылы Зельман Абрахам Ваксман микроорганизмдер түзетін және микробқа қарсы әсері бар заттарды белгілеу үшін ұсынған. Антибиотиктердің дамуы мен өндірісі XIX ғасырдың соңында белсенді түрде басталды. Өнеркәсіптік өндіріске алғашқы антибиотик салварсан болды (1910).

Антибиотиктер-бұл микроорганизмдер синтездейтін және тірі жасушалардың өсуін өлтіруге немесе басуға қабілетті жоғары тиімді биологиялық белсенді заттар тобы.

Қазіргі уақытта антибиотиктерді микроорганизмдерден немесе басқа табиғи көздерден алынған химиотерапиялық заттар, сондай-ақ олардың жартылай синтетикалық аналогтары мен туындылары деп түсінеді, олар ауру қоздырғыштарын науқастың денесінде селективті түрде басады және (немесе) қатерлі ісіктердің дамуын кешіктіреді.

"Антибиотик" терминін 1942 жылы Зельман Абрахам Ваксман микроорганизмдер түзетін және микробқа қарсы әсері бар заттарды белгілеу үшін ұсынған. Антибиотиктердің дамуы мен өндірісі XIX ғасырдың соңында белсенді түрде басталды. Өнеркәсіптік өндіріске алғашқы антибиотик салварсан болды (1910).

Антибиотиктер-бұл микроорганизмдер синтездейтін және тірі жасушалардың өсуін өлтіруге немесе басуға қабілетті жоғары тиімді биологиялық белсенді заттар тобы.

Қазіргі уақытта антибиотиктерді микроорганизмдерден немесе басқа табиғи көздерден алынған химиотерапиялық заттар, сондай-ақ олардың жартылай синтетикалық аналогтары мен туындылары деп түсінеді, олар ауру қоздырғыштарын науқастың денесінде селективті түрде басады және (немесе) қатерлі ісіктердің дамуын кешіктіреді.

Антибиотиктер м/о үшін " стресстік жағдайларды жеңудің құралы " болып табылады. Топырақ м/о антибиотиктері тек күрес құралы ғана емес, сонымен қатар олар төмен молекулалық "эффекторлар" м/о; олардың көмегімен м/о қолайсыз жағдайларда метаболизмін өзгертеді (мысалы, спораның пайда болуы).

Әрбір антибиотик - бұл бастапқы метаболиттердің антибиотикалық құрылымға айналуының белгілі бір ферментативті реакцияларының ұзақ тізбегінің соңғы өнімі.

Антибиотиктердің жіктелуі

Бактериялық жасушаға әсер ету сипаты бойынша антибиотиктерді үш топқа бөлуге болады:

- бактериостатикалық (бактериялар тірі, бірақ көбейе алмайды),
- бактерицидтер (бактериялар өледі, бірақ қоршаған ортада физикалық түрде болады),

- бактериолитикалық (бактериялар өліп, бактериялық жасуша қабырғалары бұзылады).

Антибиотиктердің жіктелуі

Биологиялық әсер ету механизміне сәйкес антибиотиктер бөлінеді:

1. Бактериялық қабырға синтезін тежейтін антибиотиктер (пенициллиндер, цефалоспориндер, бацитрацин, ванкомицин).
2. Цитоплазмалық мембрананың жұмысын бұзатын антибиотиктер (полипептидтер, полиендер, грамицидин).
3. Рибосомалық қосалқы бөлшектерді бұзатын және ақуыз синтезін тежейтін антибиотиктер (тетрациклиндер, хлормицетиндер, аминогликозидтер, макролидтер).
4. Нуклеин қышқылдарының синтезін таңдамалы түрде басатын антибиотиктер:
 - РНҚ синтезінің тежегіштері (актиномицин, гризеофульвин, канамицин, неомицин, новобиоцин және т. б.);
 - ДНҚ синтезінің ингибиторлары (брунеомицин, саркомицин).

Химиялық сипатына байланысты антибиотиктер жіктеледі:

- лактамдық (пенициллиндер, цефалоспориндер);
- тетрациклиндер (тетрацилин, морфоцилин, метацилин);
- макролидтер (эритромицин);
- аминогликозидтер (гентамицин);
- гликопептидтер (ванкомицин);
- амфениколдар (левомицетин);
- линкосамидтер (линкомицин);
- полиен (зеңге қарсы-нистатин);
- ісікке қарсы (блеомицин) және т. б.

Антибиотиктерді штамм-продуценттер бойынша жіктеу:

Өндіруші ағзаларға байланысты антибиотиктерді келесі топтарға бөлуге болады:

1. Бактериялар түзетін: * бактериялар *Bacillus* тектес: *грамицидиндер, полимиксиндер және б.*; • бактериялар *Pseudomonas* тектес: *мунироцин, пиоцианин, антифунгин және б.*; • бактериялардың басқа тектері (*Micrococcus, Streptococcus, Escherichia, Proteus*): *низин, колиформин және т.б.*
2. *Streptomyces* текті бактериялармен түзілетін: *стрептомицин, тетрацилин, новобиоцин и др.*
3. Жетілмеген саңырауқұлақтардан түзілген: пеницилин, гризеофульвин және т. б.
4. Базилио және аскомицет класының саңырауқұлақтарынан түзілген: термофиллин, лезитин, хетомин және т. б.
5. Төмен өсімдіктерден құратын лишайниктер, балдыр: уснин қышқылы және т. б.
6. Жоғары өсімдіктер түзетін: алицин, рафанин және т. б.
7. Жануарлар организмдерінде түзілетін: лизоцим, интерферон, круцин және т.

Антибиотиктерді өндірушілер

Антибиотиктерді өндіруші ретінде микроорганизмдер, зең саңырауқұлақтары, актиномицеттер, жоғары өсімдіктер мен жануарлар тіндері қолданылады.

Бір түрдің микроорганизмдері әртүрлі сипаттағы антибиотиктерді синтездей алады және керісінше, бірдей антибиотик әртүрлі таксономиялық топтардың микроорганизмдерін шығара алады.

Эубактериялардың ішінде көбінесе өндірушілер - *Bacillus* және *Pseudomonas* (шамамен 400-600), бактерияларды антибиотиктердің көпшілігі полипептидтер.

Микроорганизмдер-антибиотиктер өндірушілер.

Актиномицеттер - бұл көп жасушалы бактериялар. Актиномицеттерде ядро жоқ (ядроның орнына бір ДНҚ жабық жіп бар), яғни актиномицеттер – прокариоттар, митохондрия жоқ, күрделі даму циклі бар.

Барлығы 12 мың табиғи антибиотик бар, оның ішінде 9 мың антибиотик актиномицеттер өндіреді.

Актиномицеттер антибиотиктердің келесі топтарын шығарады: (барлық белгілі 50% - дан кем емес),

-канамицин - *Actinomyces kanamycetus*

-неомицин - *Actinomyces iracie*

-окситетрациклин – *Actinomyces ninesus*

- линкомицин – *Streptomyces linconiensis*

Табиғи левомицетин (хлорамфеникол) өндіріледі

Streptomyces venezuelae.

Рифамицин - *Streptomyces mediterranei*, рифамицин негізінде рифампицин алынды.

Бета лактамды антибиотиктер шығаратын мицелиалды саңырауқұлақтар.

мицелиалды саңырауқұлақтар антибиотиктерді шығарады (шамамен 10 %) :

Пенициллиндер-*Penicillium chrysogenum*, *P. notatum* цефалоспориндер *Serphalosporium Acremonium chrysogenum*-мицелиалды саңырауқұлақтар шығаратын бета - лактамды антибиотиктердің белгілі өкілдері.

Антибиотик құрылымында жасуша қабырғасының пептидогликандарының синтезін тежейтін қабілеті бар бета-лактамы сақина бар. Антибиотиктер грам (-) бактериялардан туындаған инфекцияларды емдеуде қолданылады.

Фторхинолондар - синтетикалық антибиотиктер. - Өрісі кең спектрлі антимикробтық әсер. Кейбір фторхинолондарда Бактерияға қарсы ғана емес , сонымен қатар ісікке қарсы белсенділігі де бар.

Жануарлардан алынатын антибиотиктер.

Бекіре балықтарынан бөлінген Экмолин, эритроциттерден – эритрин, микробқа қарсы және вирусқа қарсы әсері бар лизоцим және интерферон.

Жоғары өсімдіктер шығаратын антибиотиктер - фитонцидтер.

Бұл сарымсақ аллицини– Allium sativum, иманин шайқурайдан, сальван шалфейден, рафанин шалғамнан (редиса) - *Raphanus sativum*, фазеолин бұршақтан - *Phaseolus vulgaris* және басқалар.

Ауыл шаруашылығы үшін антибиотиктердің маңызы :

1.Антибиотиктер жануарлар мен құстарды емдеу үшін қолданылады;

2.Азық антибиотиктері жануарлар мен құстарды тамақтандыру үшін қолданылады.

3.Антибиотиктер өсімдік ауруларымен күресу үшін өсімдік шаруашылығында қолданылады, антибиотиктер гербицидтер, инсектицидтер ретінде қолданылады және химиялық заттарға қарағанда бірқатар артықшылықтарға ие.

4.Антибиотиктер тамақ өнеркәсібінде тағамды консервілеу, жаңа ет, сүт, балық және т. б. сақтау үшін қолданылады.

Өсімдіктердің әртүрлі ауруларымен күресу үшін қолданылатын антибиотиктердің көп санынан стрептомицин, гризеофульфин, циклогексамид және басқаларын қолданғанда үлкен әсер байқалады.

Антибиотиктер мал шаруашылығында ауылшаруашылық жануарларының, құстардың және Аралардың ауруларына қарсы дәрі ретінде кеңінен қолданылады.

Ең көп таралған антибиотиктердің қатарына паразиттердің, соның ішінде нематодтардың дамуын басу үшін қолданылатын авермектиндерді атап өтуге болады; құс кокцидозын емдеуге арналған монензин; дизентерияны емдеуге арналған линкомицин; күркетауық тырысқағын емдеуге арналған новобиоцин.

Тамақ өнеркәсібінде антибиотиктерді қолдану

Консерві өнеркәсібінде антибиотиктерді қолдану туралы алғашқы ақпарат 1943

жылдан басталады. Мұндай антибиотиктерге субтилиин, низин және т. б. жатады.

Сонымен, көкөністерді сақтау үшін субтилинді қолдану ұсынылады, оның әсерінен кластридиальды және термофильді бактериялардың өлімі байқалады.

Низин - сүт қышқылы бактериялары түзетін антибиотик тек көкөністерді (қызанақ, жасыл бұршақ, гүлді қырыққабат) ғана емес, сонымен қатар балық, сүт, ірімшік және т. б. консервілеу үшін қолданылады.

Антибиотик адам ағзасына уытты әсер етпестен бірқатар термофильді спора түзетін бактериялардың дамуын тежейді.

Антибиотиктерді алу әдістері:

Химиялық синтез. Бұл әдіспен негізгі синтетикалық антибиотиктер алынады.

2. **Биосинтез** (микроорганизмді - продуцентті тікелей ферменттеу). Антибиотиктерді алу үшін антибиотиктің ең көп мөлшерін құрайтын микроорганизмдердің штамдары қолданылады.

3. **Мутациялық биосинтез** (мутасинтез). Антибиотиктердің биосинтезі антибиотиктердің синтезіне әкелетін реакциялар тізбегінде белгілі бір байланыс жоқ немесе Блокталған мутанттарды қолдану арқылы.

Бұғатталған мутанттар қажетті антибиотик түзе алмайды. Екіншілік метаболизм ферменттерінің төмен субстраттық ерекшелігін қолдана отырып және антибиотиктердің прекурсорларының аналогтарын енгізе отырып, соңғысы мутасинтез процесінде антибиотиктің аналогтарына ауысады.

рДНК - антибиотиктерді жасаудағы биотехнология

4. рДНК-биотехнологиялар-антибиотик продуценттерінің белсенділігі жоғары штамдарын жасау.

рДНК көмегімен минималды жанама әсерлері бар белгілі бір микроорганизмдерге күшті әсер ететін ерекше құрылымы бар жаңа антибиотиктер алынады.

Екінші метаболиттердің биосинтезі

Қайталама метаболиттер продуценттерінің микроорганизмдерінің даму процесі екі фазалық сипатқа ие:

дамудың бірінші кезеңі (тропафаза немесе теңгерімді өсу фазасы) антибиотик өндірушінің культуралық биомассаның тез жинақталуымен сипатталады. Осы кезеңде антибиотик биосинтезі болмайды немесе аз мөлшерде жүзеге асырылады. Бұл фаза тез, ал қоректік орта арзан болуы керек.

Екінші фаза (идиофаза немесе теңгерімсіз өсу фазасы) - идиофаза кезінде биомассаның өсуі баяулайды және культуралық сұйықтықта антибиотиктің тез жиналуы байқалады.

Антибиотиктердің өнеркәсіптік биотехнологиялық өндірісінің схемасы

1. өнеркәсіптік өндіріс үшін жарамды тиісті антибиотик өндіруші **штамм алу**;

2. **қоректік ортаны дайындау** : антибиотиктерді алу технологиясында қатты қоректік орталар қолданылады-агаризацияланған немесе борпылдақ субстраттар (тары, арпа, бидай кебегі және т.б.) және сұйық қоректік орталар.

3. **Егу материалын дайындау** (өндіруші-мутанттар→ тербелетін колба→ бірінші инокулятор (10 л)→ екінші инокулятор (100–500 л)→ ферментер).

4. **Ферментациялау**: антибиотиктерді алу үшін беттік және терең өсіру (культивациялау) әдістері қолданылады.

Ашыту кезінде культура стерильді қыздырылған ауамен үздіксіз аэрацияланады. Ашыту процесі қатаң стерильді терең аэробты мерзімді культурада жүзеге асырылады, айқын екі фазалы.

Ортаның температурасы, рН және басқа да бірқатар параметрлер антибиотик өндірісінің регламентіне сәйкес автоматты түрде реттеледі. Антибиотиктер асептикалық

жағдайда мерзімді әсер ететін терең аэробты ашыту арқылы алынады. Ашыту кезеңі 7-10 күнге созылады.

5. Антибиотиктердің бөліп алу.

Егер антибиотик жасушаларда болса, өңдеудің бірінші кезеңінде биомассаны культуралық сұйықтықтан (сүзу немесе центрифугалау арқылы) бөліп алады;

жасушалар жойылғаннан кейін антибиотикті экстракциялап, еритін фазаға ауыстырылады.

Содан кейін бұл ерітінді мен культуралық орта (егер антибиотик жасушалардан ортаға шығарылса) дайын өнімді алу үшін экстракция, бөлу, тазарту және концентрациялаудың әртүрлі әдістеріне ұшырайды.

Антибиотиктерді тазалау. қамту кезеңдері: тұндыру, сорбциялау, кептіру. Содан кейін препарат стерильділікке кепілдік беретін шарттарды сақтай отырып, стерильді құтыларға оралады.

7. Дайын өнімді алу: Дайын өнім биологиялық және фармакологиялық бақылаудан өтеді. **Биологиялық бақылау препараттың стерильділік дәрежесін анықтайды.**

Фармакологиялық бақылау кезінде препараттың уыттылығына, пирогендігіне, токсикогенділігіне және т. б. жан-жақты сынақтар жүргізіледі., *препараттың микробқа қарсы спектрін, қанның лейкоциттеріне әсерін бағалайды, антибиотиктің ең жоғары дозасын, тәжірибелік жануарлардың толық және 50% өлімін тудыратын дозаларды анықтайды.*

Антибиотик затының дәрілік препаратының дайын препараты тұтынушыға биологиялық белсенділігі мен шығарылған күні көрсетіле отырып түседі.

Қоректік орта

Әрбір өндіруші үшін белгілі бір талаптарға сай болуы керек оңтайлы орта жасалады:

- антибиотиктің максималды шығуын қамтамасыз ету;
- салыстырмалы түрде арзан компоненттерден тұрады;
- жақсы сүзу қабілетіне ие болу;
- антибиотиктерді оқшаулау және тазарту үшін ең үнемді әдістерді қолдануды қамтамасыз ету.

Келесі қоректік орталар қолданылады:

- етпептонды**, құрамында ет сығындысы мен пептонмен бірге натрий хлориді, калий фосфаты, кейде глюкоза немесе сахароза бар; әдетте зертханалық тәжірибеде қолданылады;
- глюкоза мен пептоны бар картопты орта**, зертханада актиномицеттер мен бактериялардың көптеген түрлерін өсіру үшін жиі қолданылады;
- жүгері сығындысы, соя ұны, барда және басқа заттар бар орта**, олардың құрамына аммоний сульфаты, кальций карбонаты, фосфаттар, глюкоза, сахароза, лактоза немесе басқа да көмірсулар және басқа да қосылыстар кіреді; қоршаған орта өнеркәсіпте сәтті қолданылады, өйткені олар арзан және антибиотиктердің жоғары шығымдылығы бар микроорганизмдердің жақсы дамуын қамтамасыз етеді.

Сапрофитті бактериялардың көпшілігі рН шамамен 7,0 және 30-37 °С температурада бай табиғи ортада (ет-пептонды агар, картоп агары, сусын агары және т. б.) жақсы дамиды.

Дәл осындай жағдайларда актиномицеттер мен кейбір саңырауқұлақтар дамиды, бірақ олар бактерияларға қарағанда олар үшін аз қолайлы.

Стерилизациядан кейінгі ортаның рН мәні 6,8–7,1 шегінде белгіленеді.

Мицелиалды саңырауқұлақтар рН мәні біршама төмен (4,5–5,0) ортада жақсырақ дамиды, онда көптеген бактериялар мен актиномицеттер нашар өседі.

Өнеркәсіптік жағдайда қоректік ортаны зарарсыздандыру нәтижесінде қол жеткізіледі:

- орта ферменттерде тікелей 120-130 оС дейін қызатын және белгілі бір уақыт ішінде ортаның шағын көлемі үшін кезеңдік әдіс;
- дайындалған орта стерилдеу бағанына берілетін, ол арқылы өткір бу өтетін едәуір көлемге арналған үздіксіз әдіс.

Қажетті температураға дейін қыздырылған орта белгілі бір уақыт сақталатын арнайы құрылғыға түседі.

Минералды тамақтану көздері - фосфор, күкірт және басқа макро - және микроэлементтер.

Антибиотиктерді ортадағы фосфор концентрациясына қатысты үш топқа бөлуге болады:

- жоғары сезімтал продуценттер, олар үшін ортадағы фосфордың оңтайлы концентрациясы 0,01% - дан кем (нистатин, тетрациклиндер, флоримицин, Ванкомицин продуценттері);

- фосфордың оңтайлы концентрациясы 0,010–0,015% құрайтын орташа сезімталдық продуценттері (стрептомицин, эритромицин, циклосерин, неомицин продуценттері);

–фосфордың оңтайлы концентрациясы 0,018-0,020% құрайтын сезімтал емес продуценттер (новобиоцин, грамицидин, олеандомицин продуценттері).

Қоршаған ортаның рН әсері. Антибиотиктерді синтездейтін көптеген бактериялық организмдер рН-да шамамен 7,0-де жақсы дамиды, дегенмен кейбіреулері, мысалы, низин шығаратын сүт қышқылы стрептококктары рН = 5,5÷6,0 болатын ортада жақсы дамиды. Актиномицеттердің көпшілігі ортаның рН бастапқы мәндерінде 6,7–ден 7,8-ге дейін жақсы дамиды; көп жағдайда РН 4,0-4,5-тен төмен болған кезде актиномицеттердің өміршеңдігі басылады.

Температура. Көптеген бактериялық организмдер үшін температураның оңтайлы дамуы 30-37 °С аралығында болады. С грамицидинін өндіруші үшін даму және биосинтез үшін оңтайлы температура 40 °С-қа тең.

Актиномицеттер әдетте 26-30°С температурада өсіріледі, дегенмен стрептомицеттердің кейбір түрлері Төмен (0-ден 18 °С-қа дейін) және жоғары (55-60 °С) температурада дами алады.

Мицелиалды саңырауқұлақтардың көпшілігі үшін оңтайлы температура 25-28 °С құрайды.

Аэрация. Зерттелген антибиотик өндірушілердің көпшілігі аэробтар. Көптеген антибиотиктердің биосинтезі үшін (пенициллин, стрептомицин және т.б.) олардың максималды жинақталуы бірдей ауа көлемі 1 минут ішінде ортаның белгілі бір көлемінен өтетін бірлікке тең аэрация дәрежесінде жүреді.

Өнеркәсіптік жағдайда антибиотик өндірушісінің даму процесінде ағзаның оттегіне деген қажеттілігі даму сатысына, культуралық сұйықтықтың тұтқырлығына және басқа факторларға байланысты өзгереді.

Белгілі бір кезеңдерде өндірушінің оттегі ашығуымен байланысты жағдайлар туындауы мүмкін. Мұндай жағдайларда қосымша шаралар қабылдау керек, мысалы, сутегі пероксидін қосу арқылы тотықтырғыш концентрациясының жоғарылауы.

Пенициллин алудың технологиялық процесі

Инокулятты дайындау

Тұқым дайындау келесі кезеңдерді қамтиды:

1) сыйымдылығы аз аппараттарда (инокуляторларда)1-ші генерациядағы егу мицелиясын өсіру;

2) сыйымдылығы үлкен аппараттарда 2-ші генерациядағы егу мицелиясын өсіру.

Антибиотик алудың негізгі биотехнологиялық кезеңдері: 1-антибиотиктерді лайықты еріткіштермен экстракциялау, бөлу және тазарту; 2-шикізатты арнайы ортада буландыру және кристалдау; 3-Прокаин гидрохлориді ерітіндісінде фракциялау; 4-Дайын пенициллинді лиофильді және тозаңдатып кептіру

Егу материалын өсіру ортасының бірінің құрамы.

Заттар	%
Жүгері сығындысы 2 (құрғақ салмаққа)	
Глюкоза	2
Лактоза	0,5
Аммоний нитраты	0,125
Бір алмастырылған калий фосфорқышқылды	0,2
Магний сульфаты	0,025
Натрий сульфаты	0,05
Бор	0,5

Ашыту (ферментациялау) процесі

Өнеркәсіпте терең ашыту әдісі қолданылады, онда микроорганизм мәдениеті қоректік ортада өсіп, оның бүкіл көлемін толтырады.

Ізашар - бұл алынған өнімнің молекуласына тікелей енетін заттар.

Бензилпенициллиннің ізашары фенилсірке қышқылы (Фукс) немесе оның туындылары - фенил ацетамид (ФЭА), фенилэтиламин, фенилацетилглицин және басқа заттар болып табылады.

Феноксиметилпенициллиннің ізашары - феноксиацет қышқылы (ФОК).

Ашытудың аяқталғанын көрсететін негізгі көрсеткіштер-культуралық сұйықтықтағы көмірсулардың толық жоғалуы және антибиотик биосинтезінің тоқтатылуы.

Өндіріс жағдайында ашыту процесі $26 \pm 10^{\circ}\text{C}$ температурада жүзеге асырылады және әдетте 120-125 сағатқа созылады.

Сүзу

Әдетте мицелийді культуралық сұйықтықтан бөлу үшін үздіксіз жұмыс істейтін вакуум-барабан сүзгілері қолданылады. Бұл жағдайда сүзу ұзақтығы 2 - 3 есе артады, фильтраттың шығысы күрт төмендейді, ал фильтраттың өзі өте мөлдір емес болады.

Сүзу кезінде пенициллиннің бұзылуына жол бермейтін жағдайларды мұқият сақтау керек - нативті ерітіндіні $4-6^{\circ}\text{C}$ дейін салқындату және сүзгіні, коммуникацияларды және жинақтарды антисептиктермен, мысалы, хлораминмен жүйелі түрде (әр жүктеуден кейін) өңдеу.

Сондай-ақ, сүзгіні өткір бумен жүйелі түрде зарарсыздандыру керек.

Бөлу және тазалау

Пенициллиндер мен эритромицинге арналған экстракция және реэкстракция процестері

Ион алмасу және адсорбциялық хроматография - аминогликозидтер үшін

Тетрациклиндер - тұндыру, органикалық еріткіштермен экстракция және ион алмасу хроматографиясы әдістері.

сублимациялық немесе шашырата кептіру

Гормондар - (басқа грек. ὁρμόω-қоздыру, қоздыру)—ішкі секреция бездері аз мөлшерде шығаратын, қан арқылы мақсатты тіндерге жеткізілетін органикалық табиғаттың биологиялық белсенді заттары, олар белгілі бір рецепторлармен байланысады және метаболизмге немесе физиологиялық функцияларға реттеуші әсер етеді.

Қазіргі уақытта гормондарды жіктеудің ең көп таралған нұсқалары анатомиялық

(гормон шығарылатын эндокриндік без бойынша) және химиялық (гормон молекулаларының құрылымының жалпы белгілері бойынша) жіктеу болып табылады.

Биотехнологияда гормондардың химиялық жіктелуі ең қолайлы болып саналады:

Ақуыз және пептидті гормондар (инсулин, глюкогон, соматотропин, кортикотропин және б.).

Стероидты гормондар (гестагендер, кортикостероидтар, андрогендер, эстрогендер).

Поликанықпаған (Полиен) май қышқылдарының туындылары (простагландер, тромбоксандар және лейкотриендер).

Инсулин: құрылымы, алу, стандарттау

Құрылымы және әсер ету механизмі

Инсулин (лат. *insula* – остров) -пептидтік гормон ұйқы безінің Лангерганс аралдарының бета-жасушаларында түзіледі.

Молекулалық салмағы: 5807. Инсулин екі полипептидтік тізбектен тұрады: А тізбегі 21 амин қышқылының қалдықтарынан тұрады және В тізбегі 30 амин қышқылының қалдықтарынан тұрады.

Бұл екі тізбек инсулиннің кеңістіктік құрылымын қамтамасыз ететін екі дисульфидті s-S байланысымен байланысады, сонымен қатар тізбекте бір дисульфидті байланыс бар. Ұйқы безінде инсулин синтезі кезінде алдымен проинсулин деп аталатын инсулиннің ізашары пайда болады.

Проинсулин 35 амин қышқылының қалдықтарынан тұратын А-тізбектен, В-тізбектен және С-пептидтен тұрады. С-пептид карбоксипептидаза және трипсин әсерінен бөлініп шығады, соның нәтижесінде проинсулин белсенді инсулинге өтеді.

Бета жасушаларының жойылуына байланысты инсулин секрециясының бұзылуы-инсулиннің абсолютті жеткіліксіздігі – 1 типті қант диабеті патогенезінің негізгі буыны. Инсулиннің тіндерге әсер етуінің бұзылуы-салыстырмалы инсулин жеткіліксіздігі-2 типті қант диабетінің дамуында маңызды орын алады.

Рекомбинантты адам инсулині, инъекцияға арналған ерітінді 100 МЕ/мл(Актрапид НМ, Хумилин реттегіш, Инсуман рапид, Белрапид, Генсулин Р).

Инсулин қысқа әсер етеді.

Протамин-адам инсулині, инъекцияға арналған суспензия 100 МЕ/ мл(Биосулин Н, Гансулин Н, Инсуман Базал ГТ, Инсуран НПХ, Протафан НМ).

Ұзақ әсер ететін Инсулин.

әсерінің ұзақтығы-24 сағатқа дейін.

Адамның рекомбинантты инсулинінің биотехнологиялық өндірісі

Ірі қара малдың ұйқы безінен алынған Инсулин адам инсулинінен 3 амин қышқылының қалдықтарына, ал шошқа безінен алынған инсулин тек бір амин қышқылының қалдықтарына ерекшеленеді, ол яғни адам инсулиніне жақын.

Дегенмен, құрылымы бойынша адам ақуыздарынан ерекшеленетін ақуыздарды енгізу кезінде, тіпті осындай шамалы өзгерістерде де аллергиялық реакциялар пайда болуы мүмкін.

Мұндай инсулин, бөгде ақуыз ретінде, қанда түзілетін антиденелермен инактивацияланады.

Сонымен қатар, 1 килограмм инсулин алу үшін 35 мың бас шошқа қажет (егер инсулинге жылдық қажеттілік 1 тонна дәрілік зат екені белгілі болса). Екінші жағынан, биосинтетикалық жолмен рекомбинантты *Escherichia coli* микроорганизмін қолдана отырып, 25 кубтық ферментерада биосинтез жүргізу арқылы бірдей мөлшерде инсулин алуға болады.

Рекомбинантты инсулин алу схемасы(фирма «Eli Lilly», США):

1. этап. Химиялық синтез арқылы А және В тізбектерінің түзілуін кодтайтын нуклеотидтер тізбегі құрылды, яғни синтетикалық гендер жасалды. Бұл қажетті гендерді алу кезеңі.

2. этап. Синтетикалық гендердің әрқайсысы плазмидтерге енгізіледі (А тізбегін синтездейтін ген бір плазмидке, В тізбегін синтездейтін ген басқа плазмидке енгізіледі). Бұл рекДНК құрылысының кезеңі.

3. этап. Бета галактозидаза ферментінің түзілуін кодтайтын ген енгізіледі. Бұл ген плазмидтердің тез репликациясына қол жеткізу үшін әр плазмидаға қосылады (репликация процесінің қарқындылығы). Бұл кезең сонымен қатар рекДНК құрылысына қатысты.

4. этап. Плазмидтерді *Escherichia coli* жасушасына енгізеді-*E. coli* және өндірушінің екі культурасы алынады, бір культура а тізбегін, екінші в тізбегін синтездейді. Бұл кезең генетикалық трансформацияға жатады. Содан кейін рекомбинантты бактерияларды анықтауға байланысты молекулалық іріктеу жүргізіледі.

5.этап. Екі культура ферментер ішіне орналастырылған. Сәрсенбіде галактоза қосылады, ол бета галактозидаза ферментінің түзілуін тудырады. Бұл жағдайда плазмидтер белсенді түрде көбейтіліп, плазмидтердің көптеген көшірмелерін құрайды, сондықтан А және тізбекте синтездейтін көптеген гендер бар.

6. этап. Сепарация жолымен, центрифугалау жүргізіледі. Жасушалар ультрадыбыспен лизиске түседі, бета галактозидазамен байланысқан А және тізбекте шығарылады. Бета галактозидазадан А және В тізбегін бөліп алу үшін бромцианмен өңделеді.

Содан кейін А және В тізбектерін одан әрі тазарту және бөлу жүзеге асырылады. Тазарту тұздау және бірнеше рет қайта кристалдану арқылы жүзеге асырылады, монопикалық және көп компонентті инсулиндерді алу үшін гель-хроматографиямен, ион алмасу хроматографиясымен және сәйкесінше молекулалық Елек әдісімен қосымша тазартуға болады.

7.этап. Дисульфидті байланыстарды қалыптастыру үшін цистеин қалдықтарын тотықтырады, нәтижесінде тізбек байланысып, адамның рекомбинантты инсулині алынады.

20 ғасырдың 30-жылдарының ортасында швед ғалымы Эйлер (V. Euler) простагландиндер (PG) деп атаған простатадан (простата) алынған биологиялық белсенді заттарды тапты.

Кейінірек простагландиндер барлық дерлік органдар мен тіндерде пайда болатындығы анықталды.

1962 жылы простагландиндердің химиялық құрылымы шешілді.

Простагландиндер лейкотриендер мен тромбоксандармен бірге эйкозаноидтар тобын құрайды

Эйкозаноидтардың функциялары

Эйкозаноидтар тегіс бұлшықеттердің тонусын реттейді, қан қысымына, бронхтардың, ішектің, жатырдың күйіне әсер етеді.

Бүйрек арқылы су мен натрий секрециясын реттейді. Қанның ұюына әсер етеді. Асқазанның шырышты қабығының күйін реттейді. Эйкозаноидтардың жеткіліксіз секрециясы асқазан жарасына әкеледі.

Тіндердің зақымдануы және инфекция (ауырсыну, ісіну, безгегі) кезінде қабыну процесінің қалыптасуына қатысады.

Эйкозаноидтардың шамадан тыс секрециясы бронх демікпесі және басқа аллергиялық реакциялар, сондай-ақ тромбоздар сияқты аурулардың дамуына әкеледі.

Простагландиндер дегеніміз не? Простагландиндер-20 көміртегі атомынан тұратын қанықпаған май қышқылдарының туындылары болып табылатын биологиялық белсенді заттар. Простагландин молекуласында бес мүшелі цикл және екі бүйір тізбек болады. Әдетте 15-ші позицияда оларда гидроксил тобы болады.

Простагландиндердің жіктелуі

Циклдің құрылымына және бүйірлік тізбектердің сипатына байланысты простагландиндер бірнеше түрге бөлінеді, олар әріптермен белгіленеді: А, В, С, D, Е, F, H, I, J. Ішінде простагландиндер 1 - ші, 2-ші және 3-ші серияларға бөлінеді, бұл бүйірдегі Қос байланыстардың санына байланысты

Эйкозаноидтар-арахидон қышқылының туындылары. Арахидон қышқылы-маңызды май қышқылы, ол омега-6-қанықпаған май қышқылдарының класына жатады. Адам ағзасында аз мөлшерде өндіріледі.

Арахидон қышқылы майлы тағамдарда кездеседі. Сіз қызыл ет, үй немесе жабайы құс еті, жұмыртқа, жаңғақтар және басқалардан арахидон қышқылын ала аласыз

Субстрат көздері

Полиен қышқылдары ағзаға тамақпен бірге енеді немесе 18 көміртегі атомы бар маңызды май қышқылдарынан (линол және линолен қышқылдары) түзіледі (w-6 ряд)

Линол қышқылы

18:2 (9,12) 18:3 20:3 20:4

Линолен қышқылы

(w-3 ряд)

18:3 (9,12,15) 18:4 20:4 20:5

Простагландиндерді синтездеу үшін ферменттер жиынтығы қажет

Алғашқы sp^2 интермедиатын алу Екі ферментативті белсенділігі бар мембраналық фермент простагландинмен (PGH₂)-синтезамен (циклооксигеназа) қамтамасыз етеді: циклооксигеназа және пероксидаза

Әрі қарай түрлендірулер тиісті изомеразалармен жүзеге асырылады, олардың жиынтығы әртүрлі тіндерде әр түрлі болады

Циклооксигеназа

Циклооксигеназа (ЦОГ; простагландин G/H синтаза, КФ 1.14.99.1) синтездің алғашқы 2 сатысын простагландиндер катализдейді.

Екі ақуыз бөлімшесінен тұрады, олардың әрқайсысында әр түрлі ферментативті белсенділігі бар екі белсенді орталық бар.

Арахидон қышқылына 4 оттегі атомының қосылуын және бес мүшелі сақинаның пайда болуын қамтамасыз етеді (тұрақсыз PGG₂ түзілуі). Содан кейін PG 2 гидропероксидті гидроксил тобына (пероксидаза) 15 көміртегі атомында қалпына келтіреді және тұрақты PGH₂ түзеді.

Эндоплазмалық ретикулумда орналасқан, әр суббірлікте үш Домен бар: эпидермистің өсу факторы домені (34-72), мембраналық домен (73-116) және екі белсенді орталығы бар каталитикалық домен

Лейкотриендер

Лейкотриендердің тән ерекшелігі-циклдік құрылымның болмауы және үш конъюгативті байланыстың болуы (үшеуі-ен).

А, В, С, D және Е лейкотриендерінің түрлері бөлінеді, Қос байланыстардың санына байланысты олар 3, 4 және 5 серияларына бөлінеді.

Эйкозаноидтардың жасушааралық синтезі

Кейбір жасушаларда биологиялық белсенді простагландиндер мен лейкотриендерді өндіруге қажетті ферменттердің толық жиынтығы бар.

Көбінесе простагландиндердің биосинтезі жасушааралық өзара әрекеттесудің және

химиялық реактивті интермедиаттардың, PGH2 және A4 лейкотриенінің жасушалар арасындағы тасымалдануының нәтижесі болып табылады.

Бұл процесс эйкозаноидтардың жасушааралық биосинтезі деп аталады.

Простагландиндердің жасушааралық синтезі

1. Арахидон қышқылының өзгеруі бір типтегі жасушада (донор жасушасы) жүзеге асырылады, содан кейін интермедиат екінші жасушаға (акцептор жасушасы) биологиялық белсенді медиаторға толық айналу үшін беріледі.

2. Тасымалдау май қышқылдарын байланыстыратын ақуызды (FABP) жүзеге асырады.

4. Иллюстрациялық материал: презентация.

5. Әдебиет: 1-қосымшада ұсынылған.

6. Бақылау сұрақтары:

1. Өнеркәсіптік ферменттер, олардың қасиеттері, олардың қолданылу аясы. Алу технологиясы.
2. Антибиотиктер туралы түсінік, жіктелуі. Антибиотиктер биосинтезінің процесі және оны жетілдіру (гендік инженерия мен ферментативті қайта құруды пайдалану).
3. Табиғи биополимер-полисахаридтердің өндіру болашағы.

№ 10 ДӘРІС

1. Тақырыбы: Тіндердің культурасынан алынған препараттардың биотехнологиясы. Тотипотенттілік теориясының негізгі ережелері. Өсімдік жасушаларын өсіру әдістері. Каллус туралы түсінік. Ризосекреция ұғымы. Ішек нормофлорасын түзетуге арналған фаг препараттары мен дәрілік препараттар

2. Мақсаты: білім алушыларды тіндердің культурасынан алынған препараттардың биотехнологиясымен таныстыру.

3. Дәріс тезистері:

Жоспары:

1. Каллус мәдениетін алу туралы қысқаша тарихи анықтама. Дәрілік заттарды алу кезінде өсімдік жасушалары мен тіндерінің культурасын алуда биотехнологияны пайдалануды дамыту мүмкіндіктері;
2. Өсімдіктердің оқшауланған жасушалары мен тіндерін өсіру ерекшеліктері. Каллус мәдениетін анықтау (каллус алу, қоректік орта ерекшеліктері, биомассаны алу кезеңдері, каллус және суспензия дақылдарының артықшылықтары);
3. Қайталама метаболиттердің жинақталуының ұлғаю факторлары (қоректік орта, өсімдіктердің өсуін реттегіштердің мәні – ауксиндер, цитокининдер, прекурсорлардың жасушалардың өсуіне әсері, технологиялық параметрлерді оңтайландыру – температура, рН, суспензиялық дақылдарда араластыру). Өсімдік жасушаларын өсірудің технологиялық режимі.
4. Оқшауланған жасушалар мен тіндерді өсіру әдістері

Өсімдік жасушалары мен тіндерінің культуралары. Өсімдік жасушалары мен тіндерін өсіру процесіне әсер ететін жағдайлар мен факторлар. Өсімдіктердің микрোকлональды көбеюі.

Жасушалар, тіндер және өсімдіктер ағзалары культурасы, асептикалық жағдайларда жасанды қоректік орталарда өсірілетін өсімдіктер бөлігін білдіреді және келесілерді қамтиды: гель тәрізді (қатты) қоректік ортадағы каллус дақылдары, сұйық қоректік ортадағы жасушалардың суспензиялық культуралары, протопласт культурасы, өсімдіктердің оқшауланған мүшелері.

Экологиялық проблемаларды шешумен қатар өсімдік тектес заттарды алуда биотехнологиялық бағыттың перспективалық дамуының негізі болып табылады:

Климаттық, маусымдық және географиялық жағдайлардың әсерінен тәуелсіздік, елдің экономикалық айналымындағы топырақ алқаптарын азайту (басқа қажеттіліктер үшін босату) (топырақтың сарқылуынан немесе қосымша экономикалық шығындардан аулақ болу), өсімдікке тән белгілі заттарды алу (мысалы, никотин, кодеин, хинин, диосгенин және т. б.) жаңа өнімдерді, заттарды синтездеу, соңғы өнімді биотрансформациялау үшін жасуша культурасын қолдану.

Оқшауланған дақылдарды өсірудің өнеркәсіптік әдісі қысқа мерзімде 30-45 күн ішінде құнды дәрілік шикізаттың едәуір мөлшерін алуға мүмкіндік береді.

Өсімдік жасушаларының культуралары негізінде ДЗ алудың биотехнологиялық әдісі каллус тінін немесе каллус культурасын алу процесінен басталады.

Каллус культурасын алғаш рет 1902 жылы Хаберланд алған.

Каллус культурасы жасанды қоректік ортада өсетін жасушалар қауымдастығынан тұрады.

Тотипотенттілік - бұл кез-келген жасушаның қайталама метаболиттердің пайда болуы үшін қажет генетикалық және физиологиялық потенциалымен (немесе табиғи мүмкіндіктерімен) алдын-ала анықталған толыққанды өсімдік қалыптастыру мүмкіндігі.

Екінші метаболиттердің өнім шығуындағы тұрақтылық екі параметрмен байланысты:

жасушалардың саралануымен,
өсіру сатысымен

Мысалы, *Atropa Belladonna* сараланған тамырлы каллустары тропан алкалоидтарын синтездейді, ал бөлінбеген каллустар енді оларды синтездеуге қабілетті емес. Бірақ екінші жағынан, *Rauwolfia serpentina* метаболиттердің жеткілікті үлкен шығымдылығы бар бөлінбеген жасушалармен хиолин алкалоидтарын синтездеуге қабілетті. Осыдан жасушалардың морфологиялық мамандануы биологиялық белсенді заттардың негізгі шарты емес деп қорытынды жасауға болады, яғни тікелей байланыс жоқ.

Өсімдіктердің оқшауланған жасушалары мен тіндерін өсіру ерекшеліктері.

Жасуша *in vitro* - бұл морфофизиологиялық, сараланған құрылымдық тірі жүйе, оның негізгі компоненттері жасуша қабырғалары, ядро, протопласт, вакуоль жүйесі.

Жасушаның бөлінуінің негізгі әдісіне келетін болсақ, бұл **4 фазаға** бөлінетін митоз:

1. Профаза - хромосомалардың құрылымдық элементтері құрылады, ядро қабығы жоғалады

2. Метафаза – хромосомалардың орналасуы өзгереді, олар метафаза тақтасы түрінде орналасады, олардан хромосомалар есептеледі және морфологиялық сипатталады

3. Анафаза – хромосомалардың жасушаның қарама-қарсы полюстеріне бөлінуі және екі бірдей хромосомалардың жиынтығы

4. Телофаза – полюстерде жиналған хромосомалар тобы.

Каллус алу технологиясы

Каллус дақылдарын алу үшін қажетті қолайлы биологиялық күйде (жас, сау) өсімдік тіндерінің кесілген кішкене бөліктерін (2-4 мм) ұсынатын таңдалған имплантат.

Бұл өсімдік материалы мұқият жуылады, натрий гипохлоритімен, 96% этаномен немесе 0,1% сулемамен зарарсыздандырылады, содан кейін тазартылған сумен мұқият жуылады және синтетикалық агаризацияланған қоректік ортаға орналастырылады. Ыдыстар мақта-дәке тампонымен жабылады.

Әрине, антисептиктердің қатаң ережелерін сақтау қажет (олар тек қораптарда жұмыс істейді). Каллустың пайда болуы және тіндердің өсуі үшін тамырлар белгілі бір режимді қатаң сақтайтын қараңғы бөлмеге ауыстырылады. Бұл температура мен ылғалдылыққа қатысты.

Көптеген дақылдар үшін бұл параметрлер белгілі: температура +24-26 0С, ылғалдылық 65-70%. 2-3 аптадан кейін жара бетінде бастапқы каллус пайда болады.

Екінші реттік метаболитизм өнімдерінің өсуі мен синтезін қамтамасыз ету мәселесінде биотехнологияның түпкі мақсатымен анықталатын өсіру ортасының ингредиенттерін таңдау өте маңызды.

Бұл: 1. биомассаның қалыптасуы

2. екіншілік өнімдерді синтездеу.

Биомассаны алу технологиясы:

Жабдықты дайындау

Қоректік ортаны дайындау

Қоректік ортаны зарарсыздандыру

Қоректік ортаға тінді егу

Биомассаны өсіру

Шикі биомассаны алып, кептіру.

2-кезеңнің ерекшеліктеріне келетін болсақ, қоршаған орта компоненттерін 6 топқа бөлуге болады, бұл оны дайындауды көрсетеді:

1. макроэлементтер

2. микроэлементтер
3. Темір көздері
4. Органикалық қоспалар – витаминдер
5. Көміртегі көздері
6. Органикалық қоспалар – өсімдіктердің өсуін реттегіштер– ауксиндер и цитокининдер.

Өсіру сұйық және қатты қоректік ортада жүзеге асырылады.

Қайталама метаболиттердің жинақталуының ұлғаю факторлары

Бірінші фактор. Қоректік ортаның міндетті компоненттері фитохормондар болуы керек. Қайталама метаболизм өнімдерінің өсуі мен синтезін реттеуші ретінде ауксиндер (индолилacet қышқылы (ИУК), нафтилацет қышқылы (НУК) және 2,4 дихлорфеноксисірке қышқылы (2,4 Д)

цитокинин-6-бензиламинопурин (БАП), N-изоптин және 6-фурфуриламинопурин (кинетин)

Екінші фактор. Қайталама метаболиттерді синтездеу үшін метаболизмнің белгілі бір ферментативті жолдарын ынталандыратын белгілі ізашарларды қоректік ортаға енгізу өте маңызды. Мысалы, белгілі фенилаланинді жасуша өсіру ортасына енгізу диосгениннің шығуын 100% арттырады.

Үшінші фактор. Өсімдік тіндері мен in vitro жасушаларының өсуі мен дамуына физикалық факторлар үлкен әсер етеді: жарық, температура, аэрация, ылғалдылық. Оқшауланған дақылдардың көпшілігі қараңғыда өсіріледі.

Жарықтандыру үшін жарық ағынының қарқындылығы 1000-1500 люкс болатын флуоресцентті лампалар жиі қолданылады. Көптеген дақылдардың сәтті өсуі үшін оңтайлы температура 25-27 °С; олардың морфогенезін индукциялау үшін төмен температура қажет (18-25 °С). Культура өсетін бөлмедегі ылғалдылық 60-70% болуы керек.

Төртінші фактор. Женьшень мысалында өндірістің рентабельділігі "сақалды тамырларды" алу технологиясында басым бола бастады, онда жасушалардың өсуі мен жинақталу жағдайларына сәйкес дифференциацияның жоғарылауымен субпопуляциялар пайда болады – бұл биоактивті заттар үшін ең өнімді жасушалар.

Өсімдік шикізатын алу технологиясындағы каллус дақылдарының артықшылықтары:

биомасса мен қайталама метаболизм өнімдерінің сенімділігі мен тұрақтылығы иммобилизация және одан кейінгі биотрансформация үшін каллус жүйесін пайдалану мүмкіндігі

Кемшілігі: қол еңбегін қолдану қажеттілігі

Төмен өсу қарқыны бар иммобилизацияланған жасушалар метаболиттердің қарқынды дамуына қабілетті.

Иммобилизацияның негізгі шарттарының бірі:

- метаболиттің қоректік ортаға бөлінуі - қоректік ортадан метаболитті еркін алу. (мысалы, мұндай жасушаларға алкалоидтар шығаратын жасушалар жатады)

Иммобилизация әдістері

жасушалар кальций алгинатына енеді

- жасушалар агарозды шарларға салынған

жасушалар нейлоннан, ұнтақты металдан, полиуретаннан жасалған үш өлшемді торлы құрылымдарға салынған. (атап айтқанда, мұндай жүйелер Digitalis lanata және т. б. үшін қолданылады.

Иммобилизацияланған жасушалардың суспензия дақылдарымен салыстырғанда қандай пайдасы бар? Бұл:* бірнеше рет қолдану* биомассаның метаболизм өнімдерінен

нақты бөлінуі* өндіру сатысында өсіру ұзақтығын арттыру* қайталама метаболиттердің көп мөлшерін алу.

Биотрансформация - бұл өсімдік жасушасында локализацияланған және химиялық қосылыстардан тыс функционалды топтарды өзгертуге қабілетті ферменттерді қолданатын әдіс. Бұл әдіс белгілі бір химиялық құрылымның биологиялық белсенділігін арттыру және бір немесе бірнеше тізбекті байланысқан ферменттерді қосу арқылы белгілі бір химиялық реакциялар сериясын жүргізу үшін қолданылады. Мысал ретінде Дигитоксинді *Digitalis lanata* жасушаларымен дигоксинге айналдыру.

Digitalis lanata жасушаларының бөлінбеген культуралары жүрек гликозидтерін өздері түзбейді, бірақ қоректік ортаға қосылған субстраттардың биотрансформация реакциясын жүзеге асыра алады. Дигитоксиннің дигоксинге биотрансформациясы *Digitalis lanata* жасушаларында орналасқан фермент катализдейтін 12-гидроксилдену реакциясы арқылы жүреді.

Оқшауланған жасушалар мен тіндерді өсіру әдістері

1. *Қатты фазалық өсіру әдісі. Каллус культурасы*
2. *Терең суспензиялық культивациялау*
3. *Протопласт культурасы*
4. *Микроклональды көбею (өсімдік мүшелерінің культурасы)*

Қатты фазалық өсіру әдісі. Каллус культурасы

Бұл өсіру әдісінде гель түзетін компоненті бар қатты қоректік орталар қолданылады, көбінесе агар-агар өсімдік тектес табиғи субстрат ретінде қолданылады.

Мұндай ортада тығыз гель пайда болады, ал каллус жасушалары оның бетінде болады. Қатты фазалық өсіру әдісі көбінесе зертханалық жағдайда оқшауланған өсімдік дақылдарын алғашқы алу үшін, дақылдарды ББЗ ықтимал өндірушілері ретінде алдын-ала бағалау үшін, сондай-ақ тұқым өсіру үшін қолданылады.

4-6 апта ішінде қоршаған орта таусылады, бұл қайта егу қажеттілігін анықтайды. Әйтпесе, тіндер өлуі мүмкін.

2. Терең суспензиялық культивациялау

Сұйық қоректік ортаға егу үшін тұқымдарды жасушалар суспензиясы түрінде алу керек. Ірі агрегаттарды бөлу үшін қайта егу алдында жасуша массасы нейлон немесе металл електер арқылы сүзіледі. 100 мл ортаға қайта егу кезінде 2-3 г жаңа каллус тіні қолданылады.

Зертханалық жағдайда сұйық қоректік ортада тіндерді өсіру үшін аз мөлшерде қоректік ортасы бар сыйымдылығы 100-500 мл колбалар қолданылады. Жасуша суспензиясы бар ыдыстар айналу жиілігі 100-120 айн/мин тербелістерге орналастырылады. мұндай жағдайда тіндердің аэрациясы қамтамасыз етіледі және жасуша агрегаттарының өсіп келе жатқан массасы жеке фрагменттерге бөлінеді.

Өнеркәсіптік жағдайда өсімдік жасушаларының ерекшелігін ескеретін құрылымдық ерекшеліктері бар әртүрлі дизайндағы ферментерлерде (биореакторларда) үздіксіз өсіру әдісі қолданылады. Әдісі негізделген қолдау арасындағы теңгерімді ортаны сұйылту және жою бөлігінде суспензия.

Ферментерлерде терең өсірудің бірқатар артықшылықтары бар, бірақ қатты фазалық статикалық әдіске қарағанда:

барлық қажетті параметрлер автоматты түрде сақталады: температура, ортаның рН, аэрация дәрежесі, араластырғыштың жылдамдығы және т. б.;

культуралық ортада қоректенудің негізгі элементтерін ұстауды тұрақты бақылау;

культуралық жүйе мезгіл-мезгіл жаңа өсіру ортасымен толықтырылады;

инфекцияның және дақылдардың өлімінің алдын алу үшін микробиологиялық бақылау үнемі жүргізіледі;

жасушалардың өсуі мен бөліну белсенділігін бақылау;
ББЗ құрылуын бақылау.

3. Протопласт культурасы

Протопласт-бұл қабығы жоқ жасуша. Мұндай "жалаңаш" жасуша жаңа қабықты қалпына келтіруге, бөлуге, жасуша агрегаттарын құруға қабілетті, олардан жаңа қасиеттері бар жасуша культурасын, содан кейін жаңа қалпына келтіретін өсімдік алынады.

Жасуша қабырғасының болмауы геномды қалпына келтірумен байланысты әртүрлі генетикалық манипуляцияларды жеңілдетеді, сонымен қатар протопластардың бірігуі нәтижесінде гибридті жасушалардың популяциясын алуға мүмкіндік береді.

Жасуша қабығын бұзудың екі әдісі бар - механикалық және ферментативті. Соңғысы жасушалар үшін аз жарақат алады және жиі қолданылады.

Протопласттардың бірігуі нәтижесінде жаңа жасушалардың екі түрі пайда болады:

бір ата-ананың жасушаларынан тұратын гомокариондар (гомокариоцидтер);
екі ата-ананың жасушаларынан тұратын гетерокариондар (гетерокариоцидтер).

Гетерокариондар үлкен қызығушылық тудырады, олар біріктірілгеннен кейін микроскопиялық түрде таңдалады. Таңдау үшін бастапқы протопластар түрлі түсті флуоресцентті бояғыштармен боялған.

Егер жапырақ мезофиллінің протопластары (жасыл) және оқшауланған жасуша культуралары (түссіз) біріктірілсе, онда хлорофилсіз және хлорофилл бар аймақтардан тұратын гетерокариондар алынады, бұл алдын-ала бояусыз таңдауға мүмкіндік береді.

Протопласт алу үшін өсімдік материалы (мысалы, жапырақ мезофилі жасушаларының суспензиясы немесе оқшауланған жасуша культурасының суспензиясы) пектиназ және целлюлаз препараттарымен немесе ферменттердің күрделі қоспаларымен өңделеді.

Бүкіл өсімдік жасушаларының суспензиясын алу үшін IN vitro өсіретін стерильді өсімдіктердің жапырақтарын қолданған жөн, өйткені "жалаңаш" протопласттарды алу кезінде де стерильділікті сақтау қажет.

Жасуша қабырғалары бұзылғаннан кейін протопласт суспензиясы жасушалар мен тіндердің қалдықтарынан сүзу арқылы тазартылады, ферменттер қоспасы центрифугалау арқылы алынады, содан кейін культуралық ортада жуылады. Тазартудан кейін протопластар қоректік (культуральды) ортада қалпына келтіріледі.

Оқшауланған протопластар физиологиялық, цитологиялық, фитопатологиялық және басқа тәжірибелерде, сондай-ақ гендік-инженерлік манипуляцияларда модельдік жүйелер ретінде кеңінен қолданылады.

4. Микрклональды көбею (өсімдік мүшелерінің культурасы)

Өсімдіктерді жаппай көбейту және отырғызу материалдарын, соның ішінде дәрілік өсімдіктерді жақсарту үшін жасушалар мен тіндердің дақылдары өсімдік шаруашылығында кеңінен қолданылады.

Микрклональды көбею деп аталатын бұл әдіс бір меристемадан көптеген жаңа өсімдіктерді, соның ішінде in vitro культурасында алуға (қалпына келтіруге) мүмкіндік береді.

Микрклональды көбеюдің міндетті шарты алынған өсімдік материалының сәйкестігі бастапқы аналық өсімдік.

Клондалған материалдың максималды генетикалық тұрақтылығын қамтамасыз ету үшін бастапқы эксплант ретінде жас, сәл сараланған тіндер қолданылады, атап айтқанда жас сабақтар мен тамырлардың ұштары, аксиларлы бүршіктер, эмбриондар, жас көшеттердің бөліктері және басқа меристематикалық тіндер.

Меристематикалық тіндерден алынған жасуша культуралары вируссыз клондар алуға мүмкіндік береді. Өсімдіктің әртүрлі бөліктерінде вирустардың таралуы біркелкі емес, ал меристема әдетте олардан айырылады.

Жасуша дақылдарын қолданудың артықшылықтары:

- бастапқы шикізаттың, әсіресе плантациялық өсіруге келмейтін жойылып бара жатқан бағалы түрлердің тапшылығы мәселесі шешілуде;
- гербицидтерден, пестицидтерден, ауыр металдардан және т. б. толығымен босатылған фитомассаны алуға болады; тиісті мақсатты өсімдікпен синтезделмеген жаңа заттарды алу мүмкіндігі бар;
- мақсатты өнімдердің биосинтезін өсіру жағдайлары, қоректік орта құрамы және басқа әдістер арқылы басқаруға болады;
- синтезделмеген немесе өте қымбат кейбір биологиялық белсенді заттардың өндірісін индустрияландыру және арзандату мүмкіндігі бар.

4. Иллюстрациялық материал: презентация.

5. Әдебиет: 1-қосымшада ұсынылған.

6. Бақылау сұрақтары:

1. Тотипотенттілік теориясының негізгі ережелері.
2. Өсімдік жасушаларын өсіру әдістері. Каллус туралы түсінік. Ризосекреция ұғымы.
3. Тіндердің культурасын оқшаулау үшін бастапқы өсімдіктерді таңдау ережелері.
4. Дәрілік препараттарды өсімдік шикізатын дәстүрлі экстракциялаудан биотехнологиялық әдіспен ұлпа культурасынан өндірудің артықшылықтары.

Қосымша 1

Әдебиет:

Электрондық ресурстар, соның ішінде, бірақ онымен шектелмейді: мәліметтер базасы, анимациялық симуляторлар, кәсіби блогтар, веб-сайттар, басқа электронды анықтамалық материалдар (мысалы: видео, аудио, дайджест)	Электронды ресурстар: УМКД размещен на образовательном портале ukma.kz 1. Электронная библиотека ЮКМА - https://e-lib.skma.edu.kz/genres 2. Республиканская межвузовская электронная библиотека (РМЭБ) - http://rmebrk.kz/ 3. Цифровая библиотека «Aknurpress» - https://www.aknurpress.kz/ 4. Электронная библиотека «Эпиграф» - http://www.elib.kz/ 5. Эпиграф - портал мультимедийных учебников https://mbook.kz/ru/index/ 6. ЭБС IPR SMART https://www.iprbookshop.ru/auth 7. информационно-правовая система «Заң» - https://zan.kz/ru 8. Cochrane Library - https://www.cochranelibrary.com/
Электрондық оқулықтар	1. Биофармация және дәрілік препараттарды биофармацевтік зерттеу: оқу құралы / Б. А. Сағындықова, Р. М. Анарбаева. - Электрон. текстовые дан. (2,211 КБ). - Қарағанды : Medet Group, 2021. - 172 б. эл. опт. диск (CD-ROM) 2. Фармацевтическая биотехнология: Учебное пособие Н.К. Жакирова - Алматы: Эверо, 2020. https://www.elib.kz/ru/search/read_book/318/ 3. Биотехнология өндірісіндегі технологиялық сызба нұсқа. 4. Есимова А.М., 2020 https://aknurpress.kz/login 5. Биологиялық препараттар өндірісінің технологиясы. 6. Есимова А.М., Кедельбаев Б.Ш., 2020 Есимова А.М /ЦБ Aknurpress / https://www.aknurpress.kz/reader/web/2668 7. Фармацевтикалық биотехнология микробиология негіздерімен: Оқу - әдістемелік құрал (дәрістер жинағы) /Торланова Б.О., Касимбекова М.Д. - Шымкент : ОҚМА, 2022. - 108 б. 8. Биотехнология – Алматы: Эверо, 2020. – 396 бет. Жатқанбаев Ж.Ж./ 9. Эпиграф https://www.elib.kz/ru/search/read_book/344/ 10. Биотехнология , 2012 Әлмағамбетов Қ.Х. Эпиграф 11. https://www.aknurpress.kz/reader/web/1058
Арнайы бағдарламалар	IBM SPSS Statistics: https://www.ibm.com/ru-ru/products/spssstatistics
Журналдар (электронды журналдар)	1. Научный информационно-аналитический журнал «Фармация Казахстана» http://pharmkaz.kz/glavnaya/ob-izdanii/ 2. Научно-практический рецензируемый журнал «Фармация и фармакология» https://www.pharmpharm.ru/jour/index 3. Научно-практический журнал «Фармация» https://pharmacijajournal.ru/ Ежемесячный научно-технический и производственный журнал «Химико-фармацевтический журнал» http://chem.folium.ru/index.php/chem/about 5. Журналы (электронные журналы): «Фармация», «Химико-фармацевтический журнал», «Фармация Казахстана» и др. 4. http://aknurpress.kz/login промо код SDN-28 База данных Скопус https://www.scopus.com/home.uri База данных Springer https://link.springer.com/ -
Әдебиет Қазақ тілінде: негізгі:	1. Биофармация және дәрілік препараттарды биофармацевтік зерттеу: оқу құралы / Б. А. Сағындықова, Р. М. Анарбаева. - Қарағанды, 2021. – 2. Микроорганизмдер биотехнологиясы: оқу құралы /А.М.Есимова, М.Д.Касимбекова. - Қарағанды: Medet Group, 2019. - 420 б. 3. Жатқанбаев Ж.Ж. Биотехнология – Алматы: Эверо, 2020. – 396 бет. Жатқанбаев Ж.Ж. 4. Биотехнология : оқу құралы / Қ. Х. Әлмағамбетов [және т.б.].-Алматы: ЭСПИ, 2021. - 316 бет.
Орыс тілінде:	1. Орехов, С. Н. Фармацевтическая биотехнология. Руководство к практическим занятиям: учебное пособие /С.Н.Орехов. - 2-е изд.,перераб. и доп.; М.: ГЭОТАР - Медиа, 2015. - 432 с 2. Жакирова Н.К. Фармацевтическая биотехнология: Учебное пособие /Н.К. Жакирова — Алматы: Эверо, 2020. 3. Жакирова, Н. К. Фармацевтическая биотехнология: учебное пособие / Н. К. Жакирова. - Алматы : ЭСПИ, 2021.

ОҢТҮСТІК-ҚАЗАҚСТАН MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ		SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Дәрілер технологиясы кафедрасы «Фармацевтикалық биотехнология» пәні бойынша дәріс кешені	044-43/ - (2023-2024) Стр. 68 из 19	

- 272 бет.

Қосымша:

1. Фармацевтическая система качества и надлежащие фармацевтические практики : учебное пособие / Т.А.Арыстанова, Ж.М.Арыстанов. - Караганда : Medet Group, 2021. - 150 с.
2. Фармацевтическая биотехнология: рук. к практическим занятиям: учеб. пособие / С.Н.Орехов; под ред. В.А.Быкова, А.В.Катлинского М-во образования и науки РФ. - Рек. ГОУ ВПО Первый Московский гос. мед. ун-т им. И.М.Сеченова. - М.: ГЭОТАР - Медиа, 2013. - 384 с.
3. Биотехнология өндірісіндегі технологиялық сызба нұсқа: оқу құралы / А.М.Есимова. - Қарағанды: Medet Group, 2020. - 176 б.
4. Қазақстан Республикасының Мемлекеттік фармакопеясы. Т. 1. – Алматы: «Жібек жолы» баспа үйі, 2015. – 720 бет.
5. Қазақстан Республикасының Мемлекеттік фармакопеясы. Т. 3. – Алматы: «Жібек жолы» баспа үйі, 2014. – 864 бет.