**Кіріспе**

**1.** Медициналық жəне ветеринарлық биотехнологияның объектілері – микроорганизмдер, вирустар, жануарлар ұлпалары мен клеткалары.

**2.** Инсулин.Денсаулық практикасы үшін инсулин алудың тәсілдері. Гендік инженерлік адам инсулиніне кең қөлемде өмір сүрудің концептуальды жолдары

**3.** Антибиотиктер.Антибиотиктердің жаңа түрлерін жасау. Пенициллин алудың технологиялық схемасы

**4.** Адам жəне жануарлардың жұқпалы ауруларына қарсы интерферондар мен интерлейкиндердің дəрілік формаларын даярлау жəне жасау.

**5.** Ортопоксвирустарға қарсы вакциналар  адам жəне жануарлар патогендері. АИВ жəне В гепатиті вирустарына қарсы тірі   вакцина:

**6.**Иммунологияның негізгі қағидалары. Иммунобиотехнология.

**7.** Антиденелердің құрылысы мен қызметі.  Гибридомдар, олардың қасиеттері жəне алу жолдары. Моноклональды антиденелер.

**Қолданылған  әдебиеттер**

**Кіріспе**

Қазіргі заманғы медицина мен ветеринарияның арсеналында адам жəне жануарлардың ауруларына қарсы нəтижелі емдік қасиеті бар көптеген заттар белгілі.

Биохимия, генетика, молекулалық биология, иммунология, микробиология жəне вирусология сияқты биологиялық ғылымдардың қарқынды дамуына байланысты адам жəне жануарлардың бұрын қиын жолмен жазылатын ауруларының терапиясы үшін пайдаланылатын жаңа фармацевтік жəне ветеринарлық препараттарды өндіруді жүйелі түрде өсіру мақсатында медициналық жəне ветеринарлық биотехнологияның мүмкіндіктері кеңеюде.

Осы жөнінде инфекцияға, қатерлі ісік жəне басқа да ауруларға қарсы адам организмінің қорғаныштық күштерінің деңгейін бақылайтын табиғи қосылыстар зерттелуде. Дамыған мемлекеттерде антибиотиктер, инсулин, интерферондар жəне интерлейкиндер, вакциналар мен моноклональды антиденелерді өндіру тұрақты жолға қойылған. Қазақстанда медициналық жəне ветеринарлық биотехнологияның даму тенденциясы нығаю үстінде.

Ветеринария және медицина саласында ғылыми-техникалық прогрестің өзекті бағытының қазіргі заманғы жағдайын зерттей отырып медициналық және ветеринарлық биотехнологияның әдістерінің көмегімен диагностикалық және дәрілік  препараттрады жасаудың медико-биологиялық және ветеринарлық биологиялқ тәсілдерінің стратегиясын, антибиотиктер, антиденелер, вакциналар сияқты қазіргі дәрілік заттардың өндірістік деңгейді өндірілуінің негізін көрсету.

Биотехнологиялық әдістерімен алынатын дәрі-дәрмектердің сапасын және идентификациясын бақылау әдістерінің фундаменталды негіздерін, генетикалық инженерия және инженерлік энзимологияның   әдістері  арқылы өндірісті жетілдіру негіздері;

  - биотехнологиялық дәрілік заттарды дайындау дағдылары мен  тәжірибе жүргізгенде жүзеге асыруды, шикізаттың,  қоректік орталар, жартылай өнімдер мен соңғы өнімдердің сапасын бағалау жөнініде қалыптастыру;

- биотехнологиялық өндірістің сәйкестігін, өдірісте қолданылатын биообъект продуценттер және соңғы өнімдерінің экологиялық қауіпсіздік талаптарына сәйкестігін дұрыс бағалау қабілетін, сонымен бірге дәрілік препараттар ретінде  рекомбинантты белоктардың сапасын бағалау кезінде дұрыс  бағдарды қалыптастыру.

Гендік  инженерия,  микроорганизмдер  биотехнологиясы, биохимия, генетика, молекулалық биология, иммунология, микробиология  жəне  вирусология  пәндерінен  алатын  білімдерін  игеруі  үшін  қажет жәнеде «медициналық және ветеринарлық биотехнология» пәні дәрітанудың әртүрлі сұрақтарды, оның ішінде өсімдік, жануар және минерал тектес табиғи шикізат материалдарды дәрілік препараттарға өңдеу, дәрілік заттардың синтезін, дәріханалық және өнеркәсіптік жағдайларда дәрілерді дайындау, дайындалған дәрілер мен дәрілік препараттарға жан-жақты анализ жүргізу, сонымен бірге фармацевтикалық өндірістің биотехнологиясын ұйымдастыру сұрақтарын қарастырады.

Медициналық жəне ветеринарлық биотехнологияның əдістерінің көмегімен диагностикалық жəне дəрілік препараттарды жасаудың медико-биологиялық  жəне ветеринарлық-биологиялық тəсілдерінің стратегиясын;    практикалық денсаулықты сақтау жəне ветеринарияда пайдаланылатын,олардың ішінде гормондар, интерферондар, интерлейкиндер, антибиотиктер,антиденелер, вакциналар сияқты қазіргі дəрілік заттардың өндірістік деңгейдегі өндірілуінің  негізін  алу қажет.

**1.** **Медициналық жəне ветеринарлық биотехнологияның объектілері микроорганизмдер, вирустар, жануарлар ұлпалары мен клеткалары.**

1. **Биотехнология және медицина.**
2. **Биотехнологиялық әдістерімен дәрілік, профилактикалық және диагностикалық препараттарды алу.**
3. **Биообъектілер дәрілік, профилактикалық және диагностикалық препараттардың өндіріс заттары ретінде.**
4. **Биообъектілердің  классификациясы.**

Қазіргі кезде  ipi масштабты биотехнологиялық өндірістер бар.

Оқу   құралының   берілген   тарауында   микробиологиялық   өндіріс технологиясына және де оларды бақылау,  қаркындату   және басқару әдістеріне негізгі көңіл берілген.

Микробиологиялық   өндірістің    технологиялық   процестері  келесі сатылардан тұрады:

- егінді материалды дайындау,

- қоректік орталарды дайындау және залалсыздандыру,

- микроорганизмдерді дақылдау (микроб синтезі),

- кажетті  (соңғы, құнды) өнімді бөліп алу,

- препараттардың     тауарлы    өнімдерін    алу    (кептіру,    ұнтақтау, стандарттау және қаптау).

Клеткалық және гендік инженерия өндірістерін  пайдалану арқылы клетканы генетикалық өзгерту және оның  негізінде  өсімдікті  алу.

Клеткалық және гендік инженерия негізінде клеткаға геномды, бip том  немесе жеке генді енгізу үшін келесi әдістемелік  мәселелерді ескеру керек:

Генді  бөліп  алу (геномнан бөліп  алу, синтез т.б.);

өciмдiк протопластарына кажетті гендерді енгізу үшін векторларды кұру;

генетикалық материалды нуклеаза ферментінің әсерінен қорғау; өсімдіктерден функциональды активті протопластарды бөліп алу.  
Өсімдіктер биотехнологиясының әдістемелері түпкілікті дерлік рекомбинантты ДНК технологиясының ашылу арқасында езгерді. Гендік инженерия көмегімен вирустарға, гербицидтерге тұрақты, жемістердің жетілу уақыты өзгерген, гүлдерінің түсі өзгерген, тұкымдарының тағамдық құндылығы жоғарылаған және т.б. трансгенді өсімдіктер aлуғa мүмкіндік туды.

Зертханалық жағдайда өсірілген  трансгенді қойлар, сиырлар, шошқалар,қояндар бөтен түрлі генетикалық матерлиалмен детерминацияланған әртүрлі биологиялық белсенді қосылыстар алдымен ақуыздар (интерлекин,интерферон, эритропоэтил, моноклональды антиденелер, қан ұю факторы және т.б.) және сүтпен (сүт безі-«биореактор») түзіледі

Сонымен қатар американдық зерттеушілердің мәліметтері бойынша (Pursel және т.б 1980) трансгенді шошқаларға трансфицерленген геннің өсу гормоны сонымен өсудің тездетілуі, жемнің қолданылу тиімділігінің жоғарылауы және денесіндегі май құрамын төмендету, кейін жануарларда асқазан жарасы және ақсау пайда болады, кейде глюкоза метаболизмнің  бұзылысы болады.

Сондықтан салаы биотехнология тарихында әр биологиялық обьектісімен бөлек көрсетілген-микробты, өсімдік және жануар жасушасы салалы емес биотехнологияда рекомбинантты ДНК технологиясымен шектелуі қосылады. Түрлендірілген микроорганизмдер трансгенді өсімдіктер мен жануарлар-бұл биологиялық ғылымның, сонымен қатар биотехнологияның әрі қарай дамуы.

Медицинада қолданылатын қазіргі заманның биотехнологиясының зерттеулеріндегі бағана жасушаларының биологиялық обьектісінің маңыздылығы төмен емес. Бұл жасушалар адам және жануар ағзасында ұзақ уақыт бойы өзін-өзі қолдай алу қабілеті бар. Олар ағзаның кез-келген жерінде қажет, ерте жаңа жоғары жетілдірілген жасушалар керек болса, себебі олар пролиферациялар қабілеті қатайтады.

Бұл   мәселені   шешуде,   түзпін   ретінде   ортада   изобелоктарды   көп        мөлшерде түзетін ipi клеткаларды  бұған ашытқылар қолайлы  таңдап алған  жөн.   Штамм- түзгінтерді таңдап алғаннан  кейін, өте қатаң бақыланатын     жағдайда     барлық     қажетті     бақылаушы     өлшегіш аспаптармен жабдықталған ферменттерде егінді  материалдарды бірден көптен жинауға кіріседі.

Гендік инженерия немесе шет елден  әдебиеттерден терминология бойынша «ДНҚ-ның  рекомбинантты молекулаларымен жұмыс істеу» -XX ғасырдың 70-жылдарында, молекулярлық биологияның  дүниеге келуімен қалыптасуының нәтижесінде пайда болған жаңа экспериментальды ғылым.

Бұның негізгі мәні  *-*ДНК молекуласының  қатаң тэртіпте белгілі 6ip бөлімшесінің  фрагменттенуі және ДНҚ-ның  жаңа рекомбинантты молекуласының *in vitro*жағдайында фрагменттердің бір-бірімен қосылуы. Фрагменттердің бөлімшелері қалай болса солай қыстырылып, полинуклеотидтердің  ішіне  енуі мумкін, өйткені клеткалар ферменті оны есептеудің тек басы мен аяғында берілетін  сигналдары арқылы хабардар болса, сигналдардың  берілу аралықтарында, нуклеотидтердін бірізділіген  бейхабар болады.

Гендік инженерияны.әдістерін  қолдану үшін, хроммен жақсы видел ген кожайын — Вектор қажет. Вектор — белгілі микроорганизмде дербес репликацияланушылық қабілеті бар, сонымен 6ipre оған белгілі  ДНҚ-ның  енуіне кедергі  келтірмейтін, ДНҚ-ның  шағын  молекуласы. Бұндай қабілет бактериофагтар мен плазмидтерде байқалады.  
Екінші  шарт - микроорганизмдерге векторлық және рекомбинантты молекулаларды енгізудің  тиімді тәсілі  болуы керек. Өнеркәсіпте гендік инженерия әдістері нәтижесінде,  микробтық синтез көмегімен медицинада қолданылатын адамдар ақуызын және ветеринарияда кажетті  ауыл шаруашылық малдарының ақуыздарын өндіруге мүмкіндік туды.  
Мысалы, белгілі бір аурулармен сырқаттанған организмге тиісті белоктарды интерферон, полипептидтік  гормондарды, иммунномодуляторларды енгізу қажет. Бұндай белоктар органдарда және ұлпаларда өте аз мөлшерде кездеседі, ал олардың кейбіреулерінде дәлме-дәл ерекшелік касиеттердің болатынын қатаң ескеруді талап етеді. Оларды тек донорлық  қандардан немесе еліктер материалдарынан алуға болады. Бұндай белоктарды микробтық синтез жолымен алу үшін, тиімді технологиялық жағдайларда, өнеркәсіпте қолданылатын микроорганизмдерге бөгде гендерді  енгізу  тәсілдерін  жақсылап игеру және осындай микроорганизмдердің  тиімді қасиетін одан әpi жетілдіріп  процесті жеделдетуте тигізетін әсерін  арттыру қажет.

Қажетті белокты түзуші микроорганизмдер штамдарын табу процесі бірнеше кезеңдерден тұрады:

1. Алынатын белоктың  құрылымдық генін белгілеп  алу немесе құрастыру.

Егерде белоктың аминқышқылдық бірізділігінің құрылымы белгілі болса, онда оның  генетикалық  қодын біле отырып, мұндай генді синтездеуге болады. Мысалы, осылай проинсулин, интерферон, самостатин және т.б. сол сияқты белоктардың оннан астамының, гендері синтезделген болатын. Микроорганизмдер клеткасы мұндай жағдайда мРНК-ның өз қызметін  тиісті дәрежеде дұрыс атқаруына қолқабыс көрсете алмайды. Интерферондар ДНҚ нуклеотидінің  бірізділігінің кодталмайтын бөлімшесі, ол көптеген жоғары сатыдағы организмдер гендерінде кездеседі.

Құрылымдық гендерді алудың, ең. тиімді жолы, оларды кері транскрипция жолымен синтездеу. Бірақ бұл мРНК-ны таза түрінде оқшаулап алумен байланысты атқарылатын болғандықтан көптеген қиындық келтіреді.

2. Микроорганизмдерге бөгде гендерді өндіру /экспрессиялау/.

Бактериялар немесе ашытқы клеткалары өздерінің  жекеменшік  реттеуші механизмдері көмегімен, кұрылымды геннің  ішіне енген бөгде гендерді экспрессиялай алады. Қажетті өнім химерлі белоктар құрамында болғандықтан және оларды бөлуде, ажыратуда, көптеген сатылы реакцияларды қайталауга байланысты, мұндай айла-әрекеттің  пайдасы мардымсыз.

Қазіргі  кезде белгілі талапқа сай, өнімдерді көп мөлшерде алудың басқада тәсілдері іздестірілуде.

3. Рецепиент немесе қожайын - клеткаларды таңдап алу.

Бөтен мРНҚ тұрақтылығын және бөтен геннің экспрессиясының өнімі болып есептелетін, белоктардың протеолитикалық төмендеуін азайту үшін, қажетті жағдайлармен қамтамасыз ету рецепиент. клеткаларды таңдап алуда негізгі  көрсетілген  болып саналады. Рибонуклеазалар гендеріне тапшы клеткаларында, кейбір эукариоттық гендердің экспрессиясы *E.coli*клеткасында арта түсетінін  анықталды. *E.coli*клеткасында бөгде белоктардың синтезделуін, протеолизді тоқтатып тастайтын мутациялар қолайлы әсер етеді.

4. Жасалынған штамдардың  тұрақтылығы.

Микроорганизмдердің бөгде белоктарды ендіру кабілеті плазмидтердің генетикалық материалдарының  құрылымдарының қайта өзгерісін  құрылуының, әсеріне байланысты болуы мумкін. Бұл уакиға белгілі 6ip жиілікпен жүреді. Бұнда құрылымдық қайта өзгеру клетканың плазмидті жоғалтуына қараганда 100-1000 реттей сирек кездеседі.   Вектор ретінде колданылатын плазмидалар

Микроорганизмнің  белгілі 6ip антибиотикке төзімділігіне жауапты, гендердің  қожайыны болып саналатыны белгілі. Сондықтан, плазмидтің жоғалуын тоқтату үшін, ферментацияны осы антибиотик бар ортада ғана, яғни популяцияда плазмидалары жоқ штамдардың  жиналуын кедергі  келтіру мақсатында жүргізеді.

3000 әртүрлі белоктар қоспасынан бастапқы препараты болып, және дайын өнімде қоспа болмайтындай етіп тазалау өте күрделі процесс.

Биохимиялық         инженерия       микроб         биомассасының айналымдарының барлық, экономикалық және техникалық аспектілерінің  мәселелері кіретін  жаңа пән. Оның кұрамына биохимиялық процестерді өткізудің  техникалық, қарқындатуы мен дамуы, құрал-жабдықтардың модернизациясы, биотехнологиялық қондырғыларды жоспарлау, жобалау, құрастыру және баскару кіреді.

 «Өндірістік микробиология және гендік инженерия жетісіктері»   жинағының кіріспесінде айтылғандай, бактериялар, ашытқылар мен саңырақұлақтар - молекулалық деңгейде жұмыс icтeyге керемет бейімделген машина    - дегенге байланысты биотехнологияның инженерлі мәселелеріне үлкен қызығушылық тууда. Олар бip peт іске қосылғаннан кейін тек керекті өнім  ғана емес, сонымен 6ipre өздерінің, көшірмелерін алуға, дәстүрлі микробиологиялық, технологияларға қайта түзуге әсер ететін жаңа гендік инженерия әдістерін  құруға, микроорганизмдердің  өнімділігіне  тікелей бақылау жасауға мүмкіндік береді. Бірақ  генетикалық, инженерия мүмкіншіліктерінің  бәрін  көрсету үшін зертханалық шыны ыдыстардағы әдістерді  өндірістегі  темір реакторларға ауыстыру керек.

**2. Инсулин. Денсаулық практикасы үшін инсулин алудың тәсілдері. Гендік инженерлік адам инсулиніне кең қөлемде өмір сүрудің концептуальды жолдары**

1. **Инсулин. Алу көздері. Түрлік арнайылығы (спецификалығы).**
2. **Иммуногенді қоспалар. Инсулин өндіретін жасушалар имплантацияның болашағы.**
3. **Гендік-инженерлік адам инсули-нін кең көлемде өндірудің концептуалды жолдары: штамм-продуцентті өсіру;  инсулинді тазарту; инсулинді идентификациялау; инсулиннің дайын дәрілік түрлерін  өндіру; инсулиннің фармакологиялық және уыттылық қасиеттерін зерттеу.**

Инсулин – ақуыз гармон, ол ұйқы безі мен қандағы қант мөлшерін қадағалап отырады. Инсулин дәрілері қант диабетін емдеу үшін қолданылады. Бұл гармон бета жасушаларында синтезделеді, сонымен қатар бұл гармон өз алдына жасушаға бөлінеді, оны  «Ларгенганс» аралы деп атайды. Инсулин (лат.- арал) «аралды» гармонынан құрылған.

Инсулин бірінші рет 1921 ж. Ұйқы безінен алынған, онымен Ф. Бантингом және Ч. Бэстон Канадада айналысқан. Осы ғылыми жаңалығы үшін Батинг пен Маклад 1923 ж. Физиология мен Медицинадағы жаңалығына байланысты Нобель сыйлығына ие болды.

Инсулин – бұл өте тұрақта гармон, ол өзінің әрекетін толық сақтайды. әрине, сақтау мерзіміне дейін пайдалану керек. Егер инсулинді тоңазытқышта сақтау мүмкіндігіңіз болмаса, оны ең салқын жерде ұстауыңызға болады. Ең бастысы инсулинді жоғары немесе төмен температурада және күн сәулесінен сақтау керек. Инсулинді мұздатқышта ұстауға болмайды.

Инсулиннің флаконын пайдалануды бастағаннан соң оны тоңазытқышқа салудың қажеті жоқ. Егер сіз климаты ыстық ауданда тұрсаңыз, ашылған флаконды 6 апта өткеннен кейін қолданбаңыз.

* НовоПен 3 Пенфилл картриджіндегі шприц – ручканы бөлме температурасында сақтауға болады;
* Инсулинді күн сәулесі түспейтін жерде ұстау керек. Күн сәулесі инсулинді ерітіп, оның түсі сары – қоңыр түске өзгертеді;
* Инсулинді ешқашан мұздатқышта сақтауға болмайды. Қатып қалған инсулинді пайдалануға болмайды;
* Инсулинді өте ыстық жерде ұстауға болмайды;
* Автомобильдегі жүрістен инсулин шайқалып, оның бетінде ақ көбіктер пайда болса, оны пайдалануға болмайды.

Инсулинді егу тәртібі әр уақытта әр түрлі болуы мүмкін, мысалы, жалпы жай егу, стандартты тәртібі интенсивті терапия, өте ауыр емдеу процесіне қатысады, қандағы глюкозаны үнемі қадағалап отыруы керек.

Тәулігіне бір рет егілетін инсулин.

1 типтегі қант диабетін емдеу кезінде пайдаланады. Бірақ бұл тәртіп қант диабетінің 2 типінен ауыратын ауруларға да қолданады.

Тәулігіне 2 рет егілетін инсулин.

Көбінесе қант диабетінің 1 типімен ауыратын ауруларға қолданады. Көптеген аурулар тәулік мөлшерін өз ыңғайына қарай бөліп алады. Мәселен, үштен екі мөлшерін азаңғы ас алдында егілсе, ал қалған үштен бірі мөлшері – кешкі ас алдында егуі керек.

Құрылысы:

Инсулин молекуласы екі амин қышқылдық цептерден тұрады: А – 21 амин қышқылынан тұрады; В – шынжыры 30-н тұрады.

Шынжырлар цептер бір – бірімен екі дисульфидті түрде қосылып тұр. Ал үшінші дисульфид бір – бірінен алшақ тұрған аминқышқылының А-шынжырын байланыстырады. Байланысқан шынжырлар уақыт өте алшақтанып, айнала глобус тәрізді құрылыс түзеді, осындай молекула конфигурациясы гармонның биологиялық активтілігін артады.

Инсулинді егуге, оны қан құрамына тез қосылуына және оның адамға әсер ету ұзақтығына байланысты оларды бірнеше түрге бөлеміз.

Инсулин аналогының ультрақысқа әсері.

Берілген жаңа дәрі- инсулин терапия ғылымынағы соңғы жетістік. Адам инсулинінің құрылысын шамалы өзгерту арқылы инсулиндік аналог алынуда, оның әсері мен қауіпсіздігі тең, тіптен кейбір әсері адам инсулинінен де жоғары, сонымен қатар, инсулиндік аналог қолданылуға ыңғайлы, көмегі де тез болады.

Ультрақысқа жер беретін  инсулиндік аналогтың бірі – НовоРапид, 10-20 минут ішінде әсер етеді. Сондықтан берілген дәріні ас ішер алдында немесе астан соң еккен дұрыс. Берілген дәрі орташа ұзақтығы инсулиндермен сай келеді. НовоРапид дәрісін қант диабетін емдеуге және аурудық өмір сүру сапасын жақсарту үшін қолданылады.

Қысқа әсер етуші инсулин.

Бұл көзге көрінбейтін тез басталып және қысқа уақытқа созылатын әсері бар инсулин. Мұндай инсулинге мысалы, Актрапид, ол қанға қосылғаннан кейін 30 мин соң қандағы қантты төмендетеді. Сондықтан бұл дәріні ас ішер алдында 30 мин бұрын егу қажет.

**3. Антибиотиктер. Антибиотиктердің жаңа түрлерін жасау. Пенициллин алудың технологиялық схемасы**

1. **Антибиотиктердің жіктелуі.**
2. **Жаңа кезеңнің антибиотиктерін жасау. Жаңа штам-продуценттерді іздестіру; белгілі антибиотиктердің химиялық модификациясы.**
3. **Табиғи антибиотиктердің химиялық трансформациясы – жартылай синтездіқ препараттар.**
4. **Антибиотиктерді алудың технологиялық схемасы**
5. **Антибиотиктердің жаңа түрлерін  іздеудің негізгі жолдары**
6. **Антибиотиктерге резистенттіліктің проблемалары.**

Антибиотиктер дегеніміз – биологиялық қоспалар. Олар тірі клеткалардан алынады жән аз мөлшерде байытылғанның өзінде оған сезімтал микроорганизмдерді толық жойып жібере алады немесе өрбуін бәсеңдетеді. Олар тек микроорганизмдер мен өсімдіктерден ғана емес, аңдардың клеткаларынан да алынады. Антибиотиктердің өсімдіктерден алынғанын – фитонциттер деп атайды. Оларға сарымсақтан алынатын хлорепин, томатин, сативин және пияздан бөлінетін апиндер жатады.

Қазіргі кезде микробтардан көптеген антибиотиктер алынады. Солардың кейбір маңыздыларына тоқталып өтелік.

**Пениципллин –**пенициллум зең саңырауқұлақтарынан алынатын антибиотик. Оған стрептококтар, стафилококтар және пневмококтар жатады. Таяқша тәрізді бактериялар шар тәрізді түрлеріне қарағанда пенициллинге төзімді болады. Пенициллин микробтар жасушасына өте шапшаң енеді. Пенициллин әсер еткен микробтардың сыртқы пішіндері өзгереді, өніп-өсу қабілеті жойылады, қоректенуі баяулап қалады.

Антибиотик әсерінен жасуша қабығының құралуы бүлінеді, протоплазма ыдырап, жасуша өледі. Пенициллин тіршілік ортасында шамадан тыс көп жиналса, оның биологиялық активтігі кеміп кетеді. Пенициллин медицинада кеңінен қолданылады. Қазіргі кезде пенициллиннен әсері күштірек оның бірнеше түрлері алынады. Олар пенициллиназа ферментіне аса төзімді метициллин, қышқыл ортада көп уақытқа дейін ыдырамай сақталатын оксациллин антибиотиктері.

Медициналық және мал дәрігерлік практикада антибиотиктердің басым көпшілігі актиномицеттерден алынады. Актиномицеттердің жалпы бейнесі 28-суретте көрсетілген.

**Стрептомицин –**актиномицеттің бір түрінен алынатын антибиотик. Оның көптеген микроорганизмдерді, соның ішінде өкпе ауруы таяқшасының тіршілігін жоятын қасиеті бар. Пенициллинге қарағанда ол жасушаға нашар сіңеді. Дегенмен ол жасушадағы тотығу процесін шапшаң тоқтатады.

Стрептомицин тұз және күкірт қышқыл тұздары түрінде өндіріледі. Медицинада бұл антибиотиктің аса тиімді екені толық дәлелденді.

**Грамицидин –**спора түзетін топырақта тіршілік ететін Бациллус бревис микробынан алынады. 1942 жылы одан «С»грамицидин антибиотигі алынады. Ол стафилококтарға, стрептококтарға, пневмококтарға жойқын әсер етеді. Сонымен қатар актиномицеттердің әр тобынан алынған, окситетрациклин деген антибиотиктер де медицинада кеңінен қолданылады. Тетрациклиннің азғана концентрациясы белок синтезін, ал жоғары концентрациясы нуклеин қышқылдарының түзілуін тежейді.

Антибиотиктер әрқайсысы жеке микробтарға ғана әсер етеді. Бактерияларға қарсы антибиотиктер ауру қоздырғыш саңырауқұлақтарға әсер ете алмайды. Бірақ мұндай ішінен тиімді деп танылғандары гризеофульвин мен нистатин.

**Гризеофульвин –**зең саңырауқұлақтарының кейбіреуінен бөліп алынған антибиотик. Көптеген тері, шаш ауруларын емдеуге кеңінен қолданылады. Ашытқылар қоздыратын кандидамикоз ауруына бұл препарат қолданылмайды.

**Нистатин –**кандидамикоз ауруына қарсы қолданылғанда жақсы нәтиже беретін антибиотик. Бірқатар микроорганизмдер антибиотиктерді үзбей қолданғанда оған төзімділік көрсетеді. Кейбір антибиотиктер мұндай жағдайда микробтардың өзіне жем болады. Мұндай кезде антибиотиктер мен химиялық дәрі-дәрмектерді қосып қолданса жақсы нәтиже алуға болады. Кейбір микробтар антибиотиктерді бүлдіретін ферменттер түзеді.

Микробтарға жойқын әсер ететін заттарға лизоцим жатады. Оның өзі аздап сілті реакциялы белок. Әсіресе ауру қоздырғыш микробтарға – сіреспе вибриондары мен сібір жарасын қоздырушыларды қырып жіберетін қасиеті бар. Лизоцим сілекейде, көз жасында қан сарсуында, лецкоциттерде, сүтте, тауық белогында, балық уылдырығында кездеседі.

**Фитонцидтер -**өсімдіктер тіршілігі барысында түзіледі де, бактериялар мен саңырауқұлақтарға жойқын әсер етеді. Өсімдіктердің бұл қасиетін алғаш рет 1930 жылдары Б.Т.Токин ашқан болатын.

Фитонцидтерді шапшаң бұзылатын өнімдерді сақтау мақсатында қолдану кеңінен сыналуда. Сондай-ақ антибиотиктерді де тамақ өнеркәсібінде қолдану қолға алынады. Оларды балық, құс өнімдерін, ашытқы өндіру заводтарында зиянды микробтарға қарсы қолданады. Антибиотиктердің ішінде хлортетрациклин, пеницил мен низин, тағы басқалары тиімді болатыны анықталды. Антибиотиктерді тамақ өнеркәсібінде пайдалану экономикалық жағынан көп пайда келтіре алады.

Алдын антибиотиктерді олардың продуценттері – бактериялар, актиномицеттер, саңырау құлақтар бойынша жіктеген, топтастырған.

Биологиялық әсер  етулері бойынша антибиотиктер бактерияларға қарсы, фунгициттерге  (саңырауқұлақтануға) қарсы және қатерлі ісікке қарсы болып бәлінеді. Бактерияларға қарсыларына: пенициллин, эритромицин, олеандомицин, карбомицин және басқа да оң (+) грамм бактерияларын егетін. Сол сияқты теріс (-) грамды бактериялар езетін тетрациклин, неомицин, стрптомицин, полимиксин, грамицитин және басқалар; туберкулезге қарсы әсер ететін стрептомицин, биомицин, циклосерин және де басқа антибиотиктер жатады. Саңырауқұлақтануға қарсы антибиотиктер  тобына жататын нистатин, гризеосульфин, леворин, кандицитин және “В” мфотерициндер  кіреді.  Қатерлі ісік ауруларына қарсы антибитиктер болып актиномицин және “С” митомицині есептеледі.

Химиялық құрылысы бойынша антибиотиктер (М.М.Шемянин және А.С.Хохлов бойынша) мынадай топтарға бәлінді.

 1. Алифатикалық антибиотиктер – нистатин, миностатин, фунгицитин. Нистетинді (С16 Н15NO18  және 19) Streptomyces tungicidicus. Str. naursei    етеді. Ол ашытқыға және саңырауқұлаққа ықпал етеді, бірақ бактерияларға әсер етпеиді.

**2.** Аликцикликалық антибиотиктер – тетрациклин – стафилакокқа, стептакокқа, салмонеллға және басқаларға әсер  етеді. Оның продуценті – Str.vividofac          Тетрацилинді хлортетрацилинді хлорсыздандыру арқылы да алуға болады. Егер  ттрациклин молекуласының “В” шеңберінің көміртегісінің жоғарғы атомында он тобы болатын болса, онда бұл құрамды (сол секілді кең танымал антибиотикалық затты да ) окситеттрациклин деп атайды. Оның продуценті – Str. rimosus және басқа егінділер.

Егер тетрациклин молекуласы “Д” шеңбері көміртегісі жоғарғы атомында хлор атомы болатын болса, ондай жағдайда бұл зат хлор тетрациклин немсе биомицин деп аталады. Ол тек медецинада ғана емес стимулятор ретінде үй жануарларын бақылауға да пайдаланады.

**3.** Антибиотиктер - хинодар (мысалы Aspergillus –тің көптеген түрлерімен продуцент ететін фумигатин) стафилакоктарға, стептококтарға,Vibrio choleras-тарға және басқаларға әсер етеді.

**4.** Құрамында азот бар гетероципиндік антибиотиктер – пенициппин және оның туындылары Penicillium potatum және әсіресе             P. chrycodenum  дерлин процудент етімді. Ал -Salmonella, Pseudomonas, Staphylococcus, Candida albicans, Mycobacterium Tuberculosis, Streptococcus faecalis, Vibrio және басқа да оң (+) грамды бактерияларға әсер  етеді.

**5.**Стрептомициндер және осы тектес антибиотиктер. Стрептомицинді Streptomyces griceus немесе Actinomyces Streptomycini (совет ғалымдарының жіктеулері бойынша) продуцент етеді. Ол теріс (-)грамды бактерияларға сол сияқты кейбір оң (+) грамды бактерияларға әсер етеді.

**6.**Құрамында оттегі бар гетерациклиндік антибиотиктер- гризеофульвин және басқаларға әсер етеді.

**7.** Антибиотиктер- полипиптидтер- грамицидин, полимиксин және басқалар. Құрылысы бойынша олар L және D – аминоқышқылдары қалдықтараының циклопептидтері болып саналады. Полипексинді Bacillus polymyxa, B. Aerosporus-тер продуцент етеді.

Қазіргі кезде өте көп әр түрлі антибиотиктер шығарылады. Мысал ретінде төменде пенициллин мен азықтандыратын биомициндерді алу технологиялары жетілді.

Пенициллин - өндірістік жолмен бірінші рет шығарыла бастаған микроб тектес антибиотик еді. Ең алдын оны үстір өсіру әдісімен алатын. Оны алу технологиясы тіптен анайы еді, себебі продуцентті колбада немесе шыны ыдыста өсіретін. Арнайы жағдайда алынатындығына қарамастан, оған сұраныстың жоғары болуы себепті, оны өндіру көлемі өсе түсті. Продуцентті егу үшін керек десең сүр өнімдерін құятын шөлмектер де пайдаланылатын, себебі ол ыдыстарды жуатын және өңдейтін машина пар болушы еді. Әрбір шөлмекте тиісті желдету жағдайын қамтамасыз ететін 1-4 см қоректік орта қабаты орналастырылатын. Ол ыдыстарды арнайы кәрзеңкелерге салып, залалсыздандырып, салқындататын. Құрғақ спораларды немесе олрдың сулы суспенияларын шөлмектергеерекше бүріккіштермен немесе пипеткалар көмегімен енгізтін және 5-10 тәулік бойына 24\*С жылулықта фермент етілуге қойылатын.

Қазіргі кезде бүкіл әлемде пенициллинді басқада антибиотиктер  сияқты тереңдетіп егу әдісімен алып келеді.

Пенициллин продуценттері ретінде Penicillium chrysogenum егіндерінің өсіктері (штаммдары) кеңінен пайдаланылады. Penicillium  түрлері споралар (конидийлер) тудырады. Мицелиялардың дамуында әр түрлі фазалар көрініс береді. Мицелияның бастапқы ортаңғы өрбу барысында клеткаларда майлар жиылып, қорланады. Кейіннен олардың сандары азая түсіп, рибонуклеополифосфат түйіршіктері бар вакуольдер пайда болады, одан соң аутолиз басталады. Пенициллин қоспалары үдей түсуі үлкен мөлшердегі мицелия биомассасы бар болған. Глюкоза мен сүт қышқылын бейтарап жағдайға жақын ортадажәне рН жағдайында толық пайдаланған жағдайда басталады.

Пенициллинді зерттегенде, оның қышқылдық гидролизі құрамында әр қашанда В-диметилцистан орын алатындығына көз жеткіземіз. Қоректік орта заттарына C14,N15,S32 белгіленген атомдарын енгізу арқылы пенициллиннің биосинтез механизмі зерттелген болатын.

Бензилпенициллиндік қыщқыл L-цистиннен фенилуксус қышқылынан және диметил пировиниградтың қышқылдарынан жинақталады деп саналады. Пенициллинді алу үшін алдын спораларды көбейтіп өсіреді. Олардың құрамына 0,5% масса, 0,5% пептон, 0,4% ас тұзы, 0,01% бір рет араластырылған калий фосфаты және 0,005% магний сульфаты кіретін агарланған ортада өсіреді. Спораларды 25-27\*С жылу ортасында 4-5 тәулік бойына өсіреді.

Өндірісте спораларды мицелийдің шыны флакондарда тары ортасында өсіру арқылы алады. Құрғатылған споралық мантериалды бөлме жылуы жағдайының өзінде де сақтауға долады. Алынған споралық материаоды инокуляторлады егу үшін пайдаланылады.

Егу ферменттерінде мицелий 12-18 сғат өсіріледі, 15-20 %-дық егін сұйығы көлемін негізгі ферментацияның басталуы үшін пайдаланады. Мицелий мен пенициллин биосинтезін өсіру үшін қоректік ортаны, әдетте жүгері экстрактысынан, лактозадан, глюкозадан, минерал заттарынан және антибиотикке жол салушы – кейбір фенил сірке су қышқыл дәрі-дәрмектерінен дайындалады.

Пеницилиннің негізгі ферментациясы үшін өндірісте пайдаланылатын кейбір қоректік орталардың құрамдары төмендегі кестеде келтірілген.

**Пенициллин алу үшін фермептациялық орталар құрамдарының кестесі**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Компонент | жүгері |  | майлылығы |
| Кукурузді экстракт | 2,0-3,0 | - | 2,0-3,0 |
| Жаңғақ және күнбағыс | - | 2,0-4,0 | - |
| Лактоза | 5,0 | 5,0 | 1,0 |
| Глюкоза | 1,5 | 1,5 | 1,5 |
| Өсімдік майы | 0,5-0,1 | 0,5-0,1 | 2,5-3,5 |
| Аммони нитраты | 0,4 | 0,4 | 0,4 |
| Натрий сульфаты | 0,05 | 0,05 | 0,05 |
| Калий фосфаты | 0,4 | 0,4 | 0,4 |
| Магний сульфаты | 0,025 | 0,025 | 0,025 |
| Натрий тиосульфаты | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| Бор | 0,5-1,0 | 0,5-1,0 | 0,5-1,0 |
| Пенициллин | 0,3-0,4 | 0,3-0,4 | 0,3-0,4 |

Ортаның әсер етуін тұрақтандыру үшін бор пайдаланады. Ферментациялауды 22-26\*С жылуда 5,0 – 7,5-ке дейін рН ортасы шекарасында, үдемелі желдету ортасында жүргізеді. 4 тәулік барысында пенициллин мөлшері өзінің шегіне жетеді. Сондықтан да ферментацмя тоқтатылады. Мицелий құрылуының, пенициллин биосинтезінің және ортадан лактозды пайдалану динамикасы мицелиді сүзу арқылы бөледі. Оны мал шаруашылығында белоктар мен витаминдердің қайнар көзі ретінде қолдануға болады, ал егінді сұйықтығынан пенициллин бөлігі алынады. Мицелийді бөліп алғаннан кейін фильтратта 3-6 % құрғақ заттар қалады, олардың 30-40 %-ын пенициллин құрайды. Одан басқада онда 50-200 мг /100 гр, ал кейде 100гр ерітіндіде 700 мл-ға дейін белок болып, лар пенициллин бөлуін өте қиындатады. Белок қоспаларын әр түрлі алдын-ала өңдеу әдістерін пйдаланып аластайды, мысалы көпвалентті металл тұздарымен тұндыру (Al, Fe, Zn) танинмен коагуляциялау немесе рН 5,5-6,0 ортасында жоғары температура (65-70\*С) арқылы аластау. Бұл процесстерде пенициллин жағыны 5-15 %-ды құрайды.Бұдан кейін пенициллинді сумен араласпайтын органикалық ерітінділермен (бутил ацетат немесе амил ацетатпен) экстрагирайиядан өткізеді. Бұл кезеңде рН ортасын 1,9-2,0 аралығында ұстау қажет. Экстракция нәтижесінде алынатын зат тазалығы 4-6 есе өседі. Одан кейін пенициллинді бутилацетаттың экстрактын бикарбонат натрий ерітіндісі  6,6-7,2 рН ортасы көмегімен суда ерітіп, құрғақ заттарды құрамы 5-7 % және активтілігі 30000-50000 мл ерітінді алынады. Пенициллинді тазарту үшін оны тағы да органикалық ерітіндімен экстракциядан өткізеді. Экстракция жасағанда фазалар арақатынасы 1:0,5 – 1:1, ал экстракт активтілігі 50000-70000 млн болуы керек. Пенициллин шығуы оның егінді сұйығы мөлшерінің шамамен 86%-ын құрайды.

Кейінгі кезде пенициллинді экстракциядан өткізу және химиялық тазарту үзіліссіз схема бойынша жүргізіледі. Пенициллинді және басқада антибиотиктерді медицинада пайдалану үшін, активті заттарды бөліп шығаруға және тазартуға аса көңіл бөліну қажет. Антибиотиктерді алудың басқа микробиологиялық биосинтез саласынан өзгешелігі, оның егінді сұйығындағы активті заттарының құрамдарының өте аз мөлшерде болатындығына байланысты келеді. Сондықтанда оларды химиялық тәсілдермен бөлу күрделене түседі, одан да басқа, бұл заттардың жоғары дәрежеде және кепілді түрде таза бөлу қажеттігі туындайды.

Антибиотиктердің активтілігін анықтауда микробиологиялық әдістемелер кең қолданылады. Залалсыздандарылған Петри табақшасына 21 мг агарланған ортаны құйып, оның мүмкіндігін береді. Агар үстіне 4 мг басқа құрамдағы агарланған ортаны осы антибиотикке әсерлі тест – дақылмен бірге құяды. Бұл агарланған ортада қатайғаннан кейін, оның бетіне ұзындығы 10 мм, жуандығы 6 м м  4 залалсыздандырылған цилиндргн тіке орналастырады және оларды белгілі мөлшерде байытылған стандартты антибиотик ерітіндісімен зерттелгелі отырған ерітіндімен толтырады. Дайындалған Петри шыны табақшаны 37\*С температурада термостатқа орнатады. 11-18 сағаттан кейін дақылдық тест өсіп шықпаған цилидр зонасының диаметрін анықтайды. Пенииллинді активтілігін тексергенде әдетте культура ретінде (штаммы 209-р н/е 9144) алтын түсті стафилакокк (Staphilococcus aureus)        пайдаланылады.

**4. Адам жəне жануарлардың жұқпалы ауруларына қарсы интерферондар мен интерлейкиндердің дəрілік формаларын даярлау жəне жасау.**

1. **Интерферон. Классификациясы. a, b, g - интерферондар.**
2. **Онко-логиялық және вирусты аурулар-дағы интерферондар.**
3. **Интерферондардың түр арнайылығы.**
4. **Алудың  шектелген жағдайлары.**

Вирусты инфекцияға тұрақты фактор Ұлттық институты Лондонда медициналық  зертеулерден жануарлар жасушасы  вирусқа қарсы  ұшырап  ортаға фактор бөледі, вирусты  инфекцияға тұрақты жас жасушаға беруге қабілетті: ол жасушада вирустың көбейюіне қарсы болады және бұл қабілеттіліктің күшіне  интерферон деп аталған.

Дәстүрлі оларды адамның қанынан алады. 1980ж. япондық бір компаниясы лимфобластоидты интерферонды  лимфобластоидты  жасушадан алу өндірісін іске қосты. Швецияда лимф аумақты  көлемі 2000л ферменттерде өсірді. Алынған интерферонды  моноклоналды антителаның көмегімен тазартылады. Интерферондар – бұл  инфекцияға қарсы қорғаныстың бірінші сызығы. Теориялық және қолданбалы түрде интерферондарды зерттеулер төңкеріс әкелетіндей жаңалықтар болып табылады. Интерферон гені векторлы ДНК-ға тұрғызылды және бактериальды қалыптастырғыш элементтер қосылады, олар оның бактериальды жасушада транскрипция мен трансляцияны прогламмалау қазметін атқарады.

Барлық интерферондар (α-И басқа) гликопротеиндер: олар глобулярлы ақуыз типтес болады, сондықтан α-спираль құрылысының үлесіне 40-тан 75% дейін сәйкес келеді. α-И екі дисульфидті байланыс байқалады. Интерферондар–146-166 аминқышқылдар қалдықтарынан тұратын төмеңгі молекулярлы ақуыздар; түрі айқын көрінеді. Адамда интерферондардың ішінде жақсы зерттегендерге α-интерферондарын жатқызуға болады: оларды кодирлеуші гендер саны алынады. Интерферон өндіру үшін – ішек таяқшасынан басқа Methylomanus, Salmonella, Preudomonas т.б. грам-теріс бактериялар пайдаланылады.

Қазіргі уақытта интерферондар гендері ашытқыларда және глюкозилирлеуді жүзеге асыруға қабілетті, жоғарға эукариоттар жасушаларында клонирленген болатын.

1981 жылы АҚШ алғаш рет адамның  лейкоцитарлы интерферонын синтездеу үшін құрастырылған Saccharomyces cerevisi  ол ашытқы жасушалары генетика жүзінде құралған қолданған болатын. LeIF генінің  алынған тиімді экспрессиясы және бактериялардың ашытқы жасушалары  алмастырылуы интерферон өндірісін 10 есеге көбейтуге мүмкіндік береді.

Зерттеудің үлкен мөлшері 166 амин қышқылынан тұратын МЛЧ кодтайтын химиялық жолмен синтездеуге арналған болатын. Осыған сәйкес, берілген ген 514 нп, тұратын болғандықтан, ең ірі ген болып шықты. Ол 1982 жылы ірі ағылшын ғалымымен синтезделді.1984 жылы Россияда 600н.п өлшеміндегі α-интерферон гені толық синтезделген болатын.(М:Н:Колосова басшылығындағы бейорганикалық химия институты).

«Генентек» компаниясы  γ- интерферонның синтезін бактериялық ашытқы  және маймыл клеткаларында іске асырды: 1 л E.Coli культурасында γ- интерферонның 25000 бірлігі, 1 л ашытқы клеткасының культурасында – 1 млн.бірлігі  және 1 л маймыл клеткасының культурасында иммундық интерферонның 100000 бірлігі синтезделді. Имммундық интерферондарды ген-инженерлік әдіс арқылы синтездеу қатерлі ісік пен лейкоз ауруына қарсы жеңілденеді деген үміт туды.

Алдыменен 1981 ж. Вашингтон университетінің генетиктері Аммерер және Холл «Генентек» зерттеушілерімен бірігіп, лейкоциттік интерферонды генетикалық құрастырылған ашытқы клеткасында синтездеді. Бактериялық клеткамен салыстырғанда ашытқы клеткасында синтезделген интерферонның мөлшері 10 есе көп болды. Бұдан кейін β және  γ- интерферондарды ашытқы клеткаларында синтездеу іске асырды.

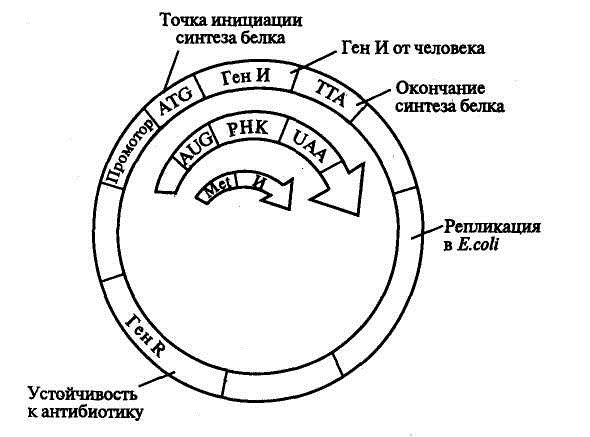
**Интерферонның түрлері және оларды алу жолдары**

Интерферон 1957ж. ашылды. Интерферондардың 3 тобы белгілі:   α-интерферондар   (α-И), вирустардың лейкоциттерге әсері кезінде түзіледі; β-интерферондар (β-И) вирустардың фибробластқа әсері кезінде пайда болады; γ-интерферондары Т-лимфоциттердің бактериальды және вирусты антигендерге әсеріне жауап ретінде немесе жоғарғы беттегі детерминантты лимфоциттерге қарсы анти сарысулармен продуцирленеді. Анығырақ айтсақ, α-интерферон  лейкоциттерде вирустарға қарсы түзіледі; β-интерферон фибробластарға вирустар әсер еткенде түзіледі және имммундық деп аталады; γ-интерферондары Т-лимфоциттерде вирустық немесе бактериялық антигендерге және қатерлі ісіктерге қарсы синтезделеді.

 Лейкоцидтік α-интерферон   алғаш рет 1980 ж. «Биоген» компониясының зерттеушілері Гилберт пен Вейссман және фин ғалымы Кантелл генетикалық құрастырылған ішек таяқшасы бактериясынан алды.

Лейкоциттік интерферонның генін алу үшін Сендай вирусымен жұқтырылған лейкоцит клеткаларынан иРНК фракциясын бөледі. Ревертаза арқылы синтезделген ктДНҚ ұшына олиго – d Г жалғайды, ал рестриктаза Pst 1  арқылы үлкен pBR 322 плазмидасының ұшына олиго dЦ жалғайды. Pst 1  бойынша өтеді. Лейкоциттік α-интерферонның геномында нитрон бөліктері жоқ және деглюкозаланбаған (сахар қалдықтары жоқ). Осыған байланысты α-интерферонның рекомбинанты генінің экспрессиясын E.Coli клеткасында іске асыру қиын емес. Ал, геннің өзін кері-транскрипция арқылы синтездеу өте күрделі, өйткені интерферон иРНҚ-сының мөлшері типті лейкоциттердің өзінде жеткіліксіз. 1982 жылы М.Н.Колосов тобы адамның α-интерферонның синтетикалық генінің синтездеп, оған бактериялық реттеуші элементтерін (промоторды, Lac – оперонның операторын, SD – тізбегін) жалғау арқылы геннің  E.Coli клеткасындағы экспрессиясын бақылады.

АҚШ, Жапония, ГФР, Швейцария, Ресей, Франция мен Англияда E.Coli негізінде алынған ген-инженерлік интерферон барлық түрлерін өндірістік деңгейде шығару үшін қазір оларды соңғы клиникалық тексеруден өткізуде. Интерферон өндіру үшін – ішек таяқшасынан басқа Methylomanus, Salmonella, Preudomonas т.б. грам-теріс бактериялар пайдаланылады. Фибробластық β-интерферон геномында да нитрондар жоқ. Бірақ олар γ-интерферондар сияқты глюкозаланған белок болып саналады. Сондықтан  β және  γ- интерферондарды E.Coli клеткасынан алу азда болса кемшілігі бар. Алайда, бұл кемшіліктерді ген инженериясының әдістерін пайдаланып, жоққа шығаруға болады. Алдыменен 1981 ж. Вашингтон университетінің генетиктері Аммерер және Холл «Генентек» зерттеушілерімен бірігіп, лейкоциттік интерферонды генетикалық құрастырылған ашытқы клеткасында синтездеді. Бактериялық клеткамен салыстырғанда ашытқы клеткасында синтезделген интерферонның мөлшері 10 есе көп болды. Бұдан кейін β және  γ- интерферондарды ашытқы клеткаларында синтездеу іске асты. АҚШ-тың  «Цетус» Биотехнологиялық фирмасы рекомбинантты β-интерферонды сүтқоректілер клеткалар культурасында синтездеу жұмысын іске асыра алды. Мұнда эукариоттық клеткада – глюкозалау өткендіктен интерферонның синтезделуі 300-500 есе көбейді. Адамның  γ- интерферонының гені 12-хромосомада орналасқан және 3 нитрон мен 4 экзоннан құралған.Осыған қарамастан, 1982 ж. Жапон «Сантори» компаниясының зерттеушілері γ- интерферонның рекомбинантты генінің клонын E.Coli клеткасында көбейте алды. Адам интерферондарын алу үшін генді инженерлік технологияны қолдану біршама қиындықтармен қатар жүреді. Біріншіден, әртүлі ақуыздарды кодтайтын мРНК қоспасында кодтайтын интерферон құрамы  өте аз, шамамен барлығы 0,1% .



Сурет 1- E.Coli-дағы адам интерферонының синтезіне рекомбинантты плазмиданың сызба-нұсқасы

Анықталғандай интерферондар алдымен жасушада құрамында белгі ретінде соңында М бар полипептидтік тізбектен тұратын сабақтасқан түрінде синтезделеді, нәтижесінде бүтін биологиялық белсенділікке ие, жетілген интерферон түзіледі. Жетілген ақуыз түзетін белгі беретін пептидті ыдыратуға қабілетті ферменттері бактерия құрамында болмайды. Сондықтан бактериялар жетілген интерферон синтездеу үшін, плазмаға тек оны кодтайтын бөлігіндегі генді енгізіп, геннің бір бөлігін алып тастау керек, өйткені, ол белгі беретін пептидті кодтайды. Берілген процедура келесідей түрде жүзеге асырыладын. Интерферон геннің құрамында Sau 3Al рестриктазамен ыдырайтын 3 бөлігі бар, олардың біреуі белгі беретін бөлігінің қасында орналасады. Геннің осы ферментпен толық емес ыдыратуы геннің үзіндісін бөліп алуға мүмкіндік береді. Ол бірінші, цистеинсіз жетілген интерферонды кодтайтын реттіліктегі нуклеотидтерден құралады. Цистеинді кодтайтын триплет АТG белгі беретін бөлікпен бірге ферментпен ыдырайды. Бүтін геннің полинуклеотидтер реттілігінде тотықсыздану  үшін құрамында берілген триплет. Сондай-ақ оған жалғастырылған ақуыз синтезінің инициация нүктесі – ATG триплеттен тұратын үлкен емес. ДНК үзіндісі химиялық жолмен синтезделген болатын. Бұл үзіндіні жетілген геннің оқшауланған бөлігіне жалғастырылады және жетілген интерферонның бүтін гені орнатылған болатын. Құрастырылған генді плазмаға мынадай түрде енгізеді, яғни, нРНК синтезінің басталуын қамтамасыз ететін ДНК промотор бөлігінің E.coli экстрактілері мынадай плазмадан тұрады, олар қарсы вирустық белсенділікке ие болады.

Генді – инженерлік әдіспен синтезделген интерферон бөлініп алынады, тазартылып оның физико-химиялық қасиеттері, донор қанынан алынған интерферон қасиеттеріне жақын алынған және ұсақ болып шықты. 1л бактериальды суспензияға 5мг интерферонға дейін синтезделуге қабілетті бактериялар алуға мүмкін болады, оның құрамы шамамен 1011 бактериальды жасушалардан тұрады, бұл донордың 1 литр қанынан алынатын интерферон мөлшерінен 5 мың есе артық болады. әртүрлі зертханаларда генді – инженерлік технологияны қолданған кезде әртүрлі  интерферондарды продуцирлейтін бактериалар штамдары алынды: олар α-,β- және γ- типтес болып келеді. Β- және φ- интерферондарын алу үшін E. coli қолданудың кемшіліктеріне – бактерияда эукариоттар ақуыздарының гликозилирленген аппараттарының болмауы, гликозилирленбеген молекулалар синтезіне жол бермейді. Бірақ гликозилирлеудің маңызды белгісіз болса да, гликозилирленбеген β- және γ- интерферондары практика жүзінде толық қарсы вирустық белсенділігін сақтайды және бұл ерекшелік генді-инженерлік препараттарды медицина практикасында қолдануда ұқыптылық пен мұқпияттылықты талап етеді.

Интерфероның барлық түрінен әлемдік өндірісте  жарамдылығы жоғарылауы. И.фиброаумақтағы,( плод) түсіктің ұлпасынан  алынған,  культура жасушасын  демеуге болады. Жалпы жоғарыда айтылған әдістер  интерферонды шығымы төмен  бағасы жоғары препаратың тазалығы  жеткіліксіз деп сипаттаған. Қазіргі жаңа заманымыздағы сатыда  перспективтігі жоғарылау  әдіс  микроорганизмді генетикалық конструирлеу көмегімен   интерферон биосинтезі.

**Интерферонның қолданылуы**

Интерферон ауыр науқасқа қолданылады өткір вирусты гепатитке, склерозға, остеосаркомдарға және кейбір лимфа түріне.Оларды мелан  емдеу үшін, бірқатар өңеш ісігіне, өкпе және миға қабылдайды,интерферонның ерекшелігімен  емдеу  үшін мұндай препаратар қажет, олар адамның жасушасынан  алынады.. Шамамен 20 γ-интерферон α-интерферондарының гетерогенді класына қарағанда не бары бір жеке ақуызбен көрсетілген, ол бір генмен кодирленеді.β-И-на қатысты жағдай анық бола бастады. Адамның β-интерферондарына қатысты тек бір ақуыз бөлінеді, сондай-ақ, β1 – интерфероны оған фибробластардың индукциясынан кейін байқалатын, практика жүзінде барлық қарсы вирустың белсенділік сәйкес келеді. Әртүрлі β-интерферондары кодтайтын гендер қатары геномада бар болатыны ескеріледі. Интерферондардың түрлері анық байқалатынын ескеріп, емдеу үшін арналған қажетті. Мұндай препараттар адам жасушаларынан алынған болатын дәстүрлі түрде оларды адамның қанынан алады. (1л қаннан небары 1мкг интерферон бөліп алуға болады, яғни, шамамен инъекция үшін, 1 рет салады.) Интерферондарды генді-инженерлік технология көмегімен алу саласында жеткен жетістіктерге қарамастан және олардың әртүрлі вирусты ауруларды емдеу үшін қолданылуы, соның ішінде онкологиялық ауруларды емдеу үшін, әлі көптеген сұрақтарды шешуге тура келеді. Қазіргі заман сатыларында интерферондардың барлық гендері идентифицирленген болмайды: α4 генінің жаңа түрлері пайда болды; фибробластты интерферон гендері туралы мәліметтер өте аз (β1генінен басқа) басқа): олардың басқа заттармен әрекеттесеуі  және биосинтез механизмі соңына дейін анықталмады. Интерферондарға байланысты көптеген құбылыстардың ашылуы, бірқатар ауыр ауруларды емдеу үшін жаңа құралдар жасауға себеп болады.

**Интерферонның биологиялық әрекеті**

Интерферон әрекетінің механизмін келесідей негізгі кезеңдермен байланыстыруға болады.

Интерферондар жасушалы рецепторлармен байланысып екі ферменттің синтезін иницирлейді: олар 2,5,- олигоаденилатсинтетаза мен протеинкиназа  түзілуі сәйкес келетін гендердің транскрипциясы инициациясының есебінен жүзеге асады. Олардың вириондарынан тұратын немесе көптеген вирустардың репликация өнімі болып табылатын, екі тізбекті ДНК қатысында екі фермент өзінің белсенділігін көрсетеді. 2,5,- олигоаденилатсинтетаза ферменті 2,5,- олигоаденилаттар (АТР-ден) синтезін катализдейді, олар жасушалы рибонуклеаза  1-ң белсенділігін арттырады: протеинкиназа IF2 трансляция инициациясының факторын фосфорлирлейді (осылайша белсенділігін арттырады). Осы жзағдайлар нәтижесіне ақуыз биосинтезі ингибирленеді және жұққан жасушада вирустардың көбеюін лизис болдырады.( иРНК мен рРНК деградациясы) интерферондар әрекетінің басқа механизмдері де белгілі, мысалы, тРНК инактивациясы, метилирлеу процесінің бұзылуы және басқалар.

**5. Иммунологияның негізгі қағидалары. Иммунобиотехнология.**

1. **Иммунологияның негізгі қағидалары.**
2. **Иммунобиотехнология.**
3. **Вакциналарды жасау.**
4. **Тірі вакциналар. Тірі емес (инактивтелген) вакциналар. Комбинирленген вакциналар.**
5. **Сары сулар.**

Иммунитет дегеніміз зиянды әсерді немесе уды қабылдамау қасиеті. Иммунитет түзуге бүкіл организм қатысады. Мұнда орталық нерв жүйесі басқарушы және бағыттаушы қызмет атқарады.

Табиғи немесе туа пайда болған иммунитет – адам және жануардың белгілі бір түріне тән. Ол тұқым қуалайды. Бұған ірі қараның – жылқының маңқасымен , жылқының , иттің обасымен , адамның иттің , шошқаның обасымен ауырмауы мысал бола алады.

Жасанды иммунитет адамда және жануарларда жұқпалы аурулардың әсерінен пайда болады. Және оны табиғи жағдайда қабылдаған иммунитет деп те атайды. Егер иммунитет организмге түрлі биологиялық препараттарды енгізгенде ( егу , вакцина , сарысу енгізу ) пайда болса , оны жасанды жолмен түзілген иммунитет  деп атайды. Мұнда организмде түзілген иммунитет зиянды микробтың бір  ғана  түріне арналған.

Табиғи пассив иммунитет организмге , оның   әсіресе дүниеге келер кезінде анасының сүтімен немесе  жатыр  арқылы беріледі.

Имуниттет туралы ғылым- иммунология осы заманғы биологияның ең жедел дамып келе жатқан саласы. Иммунологияның жетістіктері молекулалық биология, генетика, биохимия, биофизика, мал және егін шаруашылықтарының барлық салаларына, медицина мен ветеринарияға игілікті ықпал етіп отыр. Тарихи тұрғыдан иммунология инфекциялық патологияның негізінде қалыптасты. Сондықтан ескі немесе классикалық иммунологияны инфекциялық иммунология деп атайды. Ал енді молекулалық биология, генетика, трасплантологиямен байланысты иммунологияны инфекциялық емес, немесе жаңа иммунология деп атап жүр. Иммунитет ⁄ әлует ⁄ латынның *immunitas* ⁄  міндеттен босану⁄  деген сөзінен шыққан. Ол- организмнің генетикалық болмысы үшін бөгде заттардан, оның ішінде зардапты микроптардан, қорғану қабілеті. Иммунитет организмнің ішкі ортасының тұрақтылығын ⁄ гомеостаз ⁄ және оның қызметінің біртұтастығын қамтамассыз ететін микробтан бастап адамға дейінгі бүкіл тіршілік иелеріне тән қасиет. Иммунитеттің қалыптасуына бүкіл организм біртұтас жүйе ретінде қалыптасады. Бұл – тірі табиғаттың ұзақ эволюциялық дамуының, табиғи сұрыптаудың, паразит пен оның иесінің өзгергіштігінің нәтижесі. Жоғары сатыдағы организмдердің арнайы иммунитет оргондары бар. Эволюциялық жолмен үш түрлі: конституциялық, фагоциттік және лимфоидтық иммуногендік жүйелер қалыптасты.

Конституциялық жүйе немесе конституциялық иммунитет иммунитеттің ең ежелгі түрі. Ол күллі тіршілік иелеріне ортақ, ал микробтар мен өсімдіктерде

Иммунитеттің бірден-бір түрі. Фагоциттік жүйе немесе фагоциттік иммуниттет, омыртқасыз жануарларда пайда болды. Ал омыртқалы жануарларда иммунитетің үшінші ең жетілген түрі – лимфоидтық жүйе пайда болды.

Иммунитеттің конституциялық жүйесі. Конституциялық иммунитет жануарлардың әрбір түріне тән қасиет болған соң ертеректе түрлік ⁄ видовой⁄ иммунитет деп аталды. Жанжақты алып қарағанда бұндай иммунитет бір түрге ғана тән емес, әрбір жеке жануардан бастап барлық токсономиялық топтарға, тіптіең жоғарғы токсономиялық бірлік – типке дейін қатысты. Сондықтан конституциялық иммунитетті мынандай топтарға ажыратқан дұрыс.

  1.Таксондар иммунитеті. Ол туа біткен табиғи төзімділікті жануарлардың әрбір түрінен бастап ең жоғарғы токсономиялық топтарына ⁄ отряд, класс, тип, т.б. ⁄ қатысты қарастырады.

2.Түр ішіндегі иммунитет. Бір түрге жататын әртүрлі нәсілдің ⁄адамға қатысты ⁄ немесе тұқымның ⁄малға қатысты, орысша - порода⁄ иммунитеті.

3.Индивидуумның ⁄ жеке жануардың, не адамның ⁄ иммунитеті.

Организмнің иммунологиялық икемділігі

Иммуналогиялық икемділік / иммунологическая реактивность /, иммундік жауап немесе иммунитет реакциялары дегеніміз организмнің өзінікі мен бөтенді ажыратып, генетикалық бөтен антигендік ақпарды өңдеп, оған иммунологиялық жауап реакцияларын беру қабілеті. Бұл иммунологиялық жауап реакциясына жататындар:

-антидене түзу,

-жедел типті сезімталдық,

-баяу типті сезімталдық,

-иммунологиялық жады,

- иммунологиялық толеранттылық,

-идиотип- антидиотип қатынасы.

Иммундік жауаптың себепкері антиген болып табылады. Яғни иммундік жауап антигендік әсерден барып туындайды. Ірі молекулалы / белоктар, полисахаридтер, липидтер / тегі бөтен заттар антиген болып табылады. Олардың антигендік детерминанттары болады. Химиялық құрамы жағынан антигендік детерминанттары 1-4 пептид, немесе 1-4 сахаридтерден тұратын олигопептид немесе олигосахаридке жатады. Тек қана антигендік детерминанттан тұратын қарапайым заттарды гаптен деп атайды. Гаптен антиденемен әсерлеседі, бірақ антидене түзілте алмайды. Егер гаптенге басқа бір күрделі затты / белок, полисахарид/ қосса, ондай қосылысты организмге енгізгенде гаптенге қарсы антидене пайда болады.

Антидене түзу. Антидене / иммуноглобулин/ қорғаныс қызметін атқарып, токсиндер мен вирустарды бейтараптайды, антигенмен қосылған соң комплемент жүйесін іске қосады, микроорганизмдерді тұмшалап, оларды фагоцитозға дайындайды. Антиденелер 5 түрлі иммуноглобулиндерге жатады ( IgG, IgM, IgA, IgD және IgE). Олардың ішіндеIgM молекулалық массасы жағынан ең ірісі және антигендік әсерден кейін бірінші пайда болады. Кейінірек қанда IgG пайда болады, ол ұзағырақ сақталады және оның қорғаныс қабілеті де жоғары. Әртүрлі секреттерде / сүт, уыз, сілекей, ішек сөлі/ негізгі антидене IgA болып табылады. Иммуноглобулиндердің қалған екі түрі: IgD және IgE жануарлар организмінде өте мардымсыз мөлшерде кездеседі және де олар аз зерттелген.

Иммунологиялық жады. Иммунологиялық жады организмнің антигендік әсердің қайталануына гуморльдік және торшалық реакциялар арқылы әдеттегіден әлдеқайда күшті жауап беруі. Екінші, немесе қайталанған жауап анамнездік реакция деп аталады, оның ерекшелігі антиденелердің титрі жылдам артады және ол антиденелер иммуноглобулиндердің IgG класына жатады.

Иммунологиялық жады лимфоидтық жүйедегі өзгеше өзгерістердің нәтижесінде қалыптасатын « жады топшаларының » қызметінен туындайды. Осы заманғы көзқарастар бойынша бұл жады топшалары антиген арқылы күшейтілген  Т  және  В – лимфоциттердің клоны болып табылады. Бұл топшалардың қалыптасуы үшін бастапқыда организмге антигендік елеулі мөлшері қажет. Ал қайталану реакциясын тудыру үшін жады топшаларды іске қосуға антигеннің өте аз дозасы да жеткілікті. Сондықтан жануарларға ревакцинация ⁄ қайталап егу ⁄ кезінде күшті иммундік жауап алу үшін вакцинаның өте аз, шамалы ғанадозасы жеткілікті болады.

Иммунологиялық жадының қалыптасуы үшін белгілі бір уақыт қажет. Антигеннің ерекшеліктеріне және жануардың түріне байланысты бұл мерзім бірнеше күннен бірнеше айға дейін созылады. Ал қалыптасқан жағдай бірнеше ай, кейде жылдар бойы сақталады. Адамның жады Т-лимфоцеттерді тыныштық күйін 15 жылға дейін сақтайды. Сондықтан бұндай торшалар ұзақ жасайтын лимфоциттер деп аталады.

Біздің жүргізген арнаулы зерттеулерімізде үй қоянының сиырдың глобулиніне иммунологиялық жадысы 30 күннен кейін қалыптаса бастайтындығы, ал 50-60 күннен кейін ең жоғарғы деңгейге жететіндігі анықталды.

Адамның, жануардың активті иммунитетін қалыптастыратын препараттарды вакцина деп атайды. Вакцинаны патогенді микроорганизмдерден алады.

Вакцинаны қолданғанда сәйкес қоздырушының жұқтыруын қабылдамайды, керісінше микроорганизмдердің қорғаныс күшін тұрақтандырады. Сондықтан вакцинаны профилактикалық және емдеу мақсатында қолданады.

Алғашқы вакцинаны 1796 жылы жергілікті дәрігер Э.Дженер алған. Ол шешек ауруына қарсы бұзау (vacca- сиыр) шешегінің капсуласынан тұратын егуді  ұсынды. Аз уақыт ішінде вакцина көп елдерге таралды (соңғы кезде тауық эмбриондарында дайындалды) және бүкіл жер шарындағы шешек ауруын жоюда негіз болды. 1958 жылы Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымы әлемдегі шешекті бүкіл халыққа вакцинация жасау арқылы жою туралы шешім қабылдады. Бұл имандылық акциясына жылына вакцинаның 150 млн. мөлшерін өндеуге міндеттелген 20 астам дамыған ел қатысты. Кеңес одағын бүкіл Индияны, Афганистанды вакцинамен қамтамасыз етті. Жұмыс 1967 жылдың қаңтарында басталды. 1980 жылы Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымы бүкіл дүниежүзінде шешек ауруының жойылғандығы туралы хабардар етті.

Вакцинаның ары қарай дамуы Л. Пастердің жұмыстарымен байланысты. Пастер сыртқы орта жағдайының өзгеруі салдарынан микроорганизмдердің вируленттілігінің әлсіреуіне әкеліп соғатынын дәлелдей отырып активті иммунизацияны ашты. Ол құтыруға қарсы тірі вакцинаны ойлап тапты. Пастер 1885 жылы 6 шілдеде құтырған ит тістеген 9 жасар Ж.Мейстерге алғаш құтыруға қарсы вакцинаны жасады.

Микробтардың вируленттілігін әлсіздендіру негізінде А.Сэбин полимиелитке қарсы «тірі вакцинаны» алды. Осы вакцинаны кеңес өкіметінің ғалымдары М.П.Чумаков және А.Смородинцев өндірісте өндеп, медициналық практикаға енгізді. Кеңес еліндегі полимиелитке сезгіштігі жоғары халыққа жаппай вакцинация жасау нәтижесінде 1959-1960 жылдары  ауруының сызығы 33 есеге кеміді, ал1967 жылы толығымен жойылды.

А.А.Смородинцев бастаған вирусологтар ұжымы қызылшаға қарсы (Ленининград-16) «тірі вакцинаны» жасап шығарды. Осы вакцинаны еккен балалар 8 жылдам астам уақытқа қызылшаға қарсы тұрақты иммунитетке ие болады.

Вакцинаның құрамында тірі (әлсіздендірілген) немесе өлі (жансыздандырылған) ауру қоздылғыштар- бактериялар мен вирустар, демек бактерияның экстракттары мен олардың зарарсыздандырылған улары (анатоксиндар) болады. Организмге вакцина жібергенде қорғаныс заттары- антидене мен антитоксиндар пайда болады да, соның нәтижесінде организм белгілі бір уақытта вакцинадағы микроорганизмдер тудыратын инфекциялық ауруларды қабылдамайды. Әр вакцинаның дозалық мөлшері мен оны организмге жіберу әдісі белгіленген. Кейбір жұқпалы ауруларға қарсы вакцинаны екі немесе үш рет жасайды, мысалы, полиомиелит пен көкжөтелге, дифтерия мен сіріспеге қарсы арасына 1,5 ай өткізіп, 3 рет егеді. Уақыт өткенде егудің көмегімен организмге ендірілген иммунитет әлсіреуі мүмкін, сондықтан белгілі бір мерзімнен кейін егуді қайталап отырады.

Қазіргі кезде иммунитеті активтендіретін препарат- вакцина негізгі 4 топқа бөлінеде:

1. тірі вакциналар - әлсіздендірілген немесе тұқым қуалау өзгергіштігіне ұшыраған ауру қоздырғыштар;
2. өлі вакциналар - әртүрлі жолдармен жансыздандырылған ауру қоздырғыштардан алған препараттар;
3. анатоксиндар (токсиндар) - формалинмен өнделген және жоғары температураның әсеріне түскен микоорганизмдер.
4. химиялық вакциналар - микроб клеткаларынан әртүрлі жолдармен алынған компоненттер.

Вакциналардың ішіндегі ең ертесі тірі вакциналар. Ертедегі бақылауды салыстыра отырып иммуногенді қасиет тек тірі емес сонымен қатар өлген микроорганизмдерде  де байқалған, және  олардың заттарында  да жасуша құрамына кіретін және әртүрлі жолдармен экстрагирленген, ерекшеленген антигендер байқалған.

Өлі вакциналар жылу алады немесе микроорганизмдерге басқа физикалық және химиялық әсер ету әдістерін қолданады. Сондықтан қыздырылған, фенолды, фломалинді, спиртті, ацетонды вакциналар болып бөлінеді.

Вакцинаны дайындау өндірісі бірнеше технологиялық сатыларға бөлінеді. Біріншісі микроорганизм биомассасының жиналуы. Бұл өндіріс сатысы биосинтезбен тығыз байланысты. Сонымен бірге микроорганизмдердің инактивтелуі (пайдаланып жатқан әдістерге байланысты ерекшеленеді), концентрлеу, тазалау (зарарсыздау) және лиофилизациялау сияқты өндіріс сатылары  бар.

Вакциналық препараттарды бөлшектеп орау оларды енгізілу тәсіліне байланысты (сұйық- пероральды, таблеткалы немесе дрождалған препараттар, ампуладағы - теріасты  немесе бұлшықетке енгізуге арналған). Дайын вакцинаның зарарсыздығын, микробты массаның қоюлығын, иммуногендігін және басқа да қасиеттеріне бақылау жасайды.

Қазіргі кезде препараттарды активті имунитет болу үшін негізгі үш топқа бөлуге болады.

1. Тірі-әлсіз немесе ауру қоздырғыштың тұқым қуалауынан өзгеруі.
2. Өлі-өлгеннен кейін әр түрлі әдіспен алынған ауру қоздырғыш (фенолды, формолинді, спирті, ацентонды)
3. Анотаксинді-токсин метобализм өнімі микроорганизм продуцентін формалинмен және жоғарғы температурамен өңдеу
4. Химиялық-микроб клеткасын әр түрлі компонентпен химиялық жолмен бөліп алу.

Өндіріс бірнеше сатыдан тұрады:

1. биомассаның жиналу және метобализм өнімі
2. өнімді бөліп алу
3. микроорганизмді иноктивациялау
4. концентрлеу
5. тазалау
6. лиофилизациялау (кептіру)
7. буын түю
8. бақылау (зарарсыздығын, тазалығын, имуногенділігін)

**6. Антиденелердің құрылысы мен қызметі.  Гибридомдар, олардың қасиеттері жəне алу жолдары. Моноклональды антиденелер**.

1. **Гибридомдар, олардың қасиеттері және алу жолдары.**
2. **Моноклональды антиденелер.**
3. **Моноклональды антиденелерді қолдану салалары – медициналық және ветеринарлық диагностика, терапия.**

**4 .Антиденелердің шығу механизмі**

**5. Антиденелердің басты биологиялық қызметі**

**6. Гибридомалардың техникалық алу жолы.**

Антиденелердің шығу механизмін түсіндіретін көптеген теориялар бар. 1989 жылы Эрлих бүйірлік  тізбектер теориясын ұсынды, Л. Поминг және Ф. Гауровиц тікелей матрица теориясы; Н. Ерне (1960) «репрессия – депрессия» гипотезасын жасады, бұл теория клеткаларда кез – келген антигенге қарсы потенциалды антиденелердің генетикалық ақпараты салынғандығы жөнінде айтады. Бірақ ол гендер репрессиялық (тежелген) күйде болады. Антиген арнаулы ферменттің қызметінен босап, белгілі гендерді тежеуден бастады. Осыдан кейін қажетті γ- глобулин типі синтезделеді. Осы кезде клеткалар бөліне бастайды. Бұдан антиген таңдамалы түрде белгілі репрессордың қызметін тежейді деген қорытынды шығаруға болады. (Р.В. Петров, 1976). Көп қолдау тапқан Ф. Бернеттің (1959) клондық – селекцияның теориясы. Бұл теория көп жағынан иммунитет жөніндегі көзқарасқа сәйкес. Клондық – селекциялық теория бойынша бір клон бір антиденені синтездейді. әрбір антиген клетка рецепторлармен өзара әрекеттесіп, оларды жылдам бөлінуге мәжбүр етеді. Митоздың бөліну нәтижесінде клеткалар клоны пайда болып, бір антигенге сәйкес антидене синтездейді.

Антиденелердің басты биологиялық қызметі – олардың антигендермен ерекше жылдам жерлесуінде. Бұл өзара әсерлесу агглютинация, преципитация (лат. «преципитацио» – тұнба түсу), лизис, бейтараптандыру реакциялары арқылы жүреді.

Егер антигенге антидене байланысқан болса, ондай комплексті макрофаг өе тез жұтып жібереді. Оның себебі былай. Антигенмен байланысқан кезде антидене өзінің тұрақты бөлігін формасын өзгертеді (белокпен белок). Антидененің өзгерген формасы макрофаг үшін дәмді тағамның белгісі секілді. Бұл жерде антигенмен бірге антидене де макрофагқа «желі» болып кетеді.

Осылайша антиденелердің макрофагтардың фагоциттік («жегіштік») белсенділігін күшейтуін опсонизация деп атайды. Ал егер антиген клетка түрінде болса, макрофагтың өзі клетка болғандықтан антиденемен байланысқан бөтен антигендік клетканы жұту қиынға түседі. Бұл жерде қан мен лимфа сұйығында болатын комплемент көмекке келеді. Комплемент онға жуық әртүрлі глобулалардан тұрады. Бөтен антигендік клетканы детерминантымен байланысқан антидене де өз формасын өзгертеді. Антидененің осындай формасымен комплементтің белгілі бір глобуласы сәйкес келіп, оңай байланысады. Байланысқан глобуланың формасы комплементтің келесі глобуласын қосып алуға ыңғайлы болып өзгереді. Осылайша бөлек жүрген комплементтің глобулалары бөтен клетканың сыртында бір – бірімен байланысып жиналады. Осы біріккен комплементтің белоктары өте қауіпті – олар бірлесе отырып кез – келген клетканың қабығының детерминанттың бөліктерінде антидене арқылы жалғасқан комплемент ол клетканы жылдам жайып жібереді. Осылай ыдыраған клетканың бөлшектерін ақырында бәрібір макрофаг жейді. Сонымен макрофагқа антигенді тауып оны «жемге» айналдырып беретін антиденелер екен. Тек өлтіргіш Т клетканы ғана алғаш антиденені өзінің қабығына жалғастырып алып, сол арқылы сәйкес келетін детерминанты бар клетканы іздеп тауып, жояды. Бұл кезде Т – клетканың өзі де өледі. Ол өлер алдында макрофагты өзіне шақыратын лимфокиннің ерекше түрін бөледі. Сөйтіп оларда макрофагтың «жемі» болып шыға келеді.

Қорыта айтқанда, макрофаг антигенді бірінші болып анықтап, иммундық жүйенің бүкіл күшін оған қарсы көтеріп, сонан соң өлген молекулалар мен клеткалардың қалдықтарын жеп, организмді тазартады. Яғни макрофаг – 1санитар.

Гибридомалардың техникалық алу жолы. Гибридомаларды белгілі бір антигенмен жиі егеді (иммунизациялайды). Олардың қанында антигибридомалар пайда болады, олардың көк бауырлардың және лимфа түйіндерін алып, клеткаларының үгіндісін дайындайды. Оған ісін клеткалардың цитоплазмасын (ПЛ) қосады. Онда таңдамалы түрде иммуноглобтар және осы синтезге бағынатын синтездік ақпарат өндіріледі. Клеткаларды полиэтилен гликолин көмегімен гибридомаларға құяды. Клеткаларды біршама in vitro (бірнеше күн) арнаулы ГАТ ортада өсіргенде жекелеген АҚК, сонымен бірге АҚК /АҚК клеткалар өседі, себебі олардың ғұмыры таусылады.

Гибридомалардың технология – ісік клеткаларын В – лимфоциттерді қосу негізінде клеткалық будандарды немесе гибридомаларды алу әдісі. Гибридомаларды организмнен тыс жағдайда өсіргенде әрбір будан клеткадан ерекше үлкен моноклондық (бір өркендік) антидене алуға болады.

Сонымен, гибридомалар дегеніміз - өлшеусіз өсе беретін бір өркенді (моноклондық) антиденелерді өндіретін клеткалар өркендері.

Гибридомалар дегеніміз – антизат синтездейтін әдеттегі лимфацит және ісік клеткалардан алынған клеткалық гибрид.

Гибридомды техника тек қана антидене клеткаларының ғана емес, сонымен бірге ата – аналық миоломды линияның полипеп/ді тізбегінен тұратын гибридті мөлшерде алуға мүмкіндік береді.

Алғаш рет гибридомаларды алу мақсатын 1978 жылы Хемартнер in vitro – да иммунналауды қолданды. Гиридомаларды, яғни антиденелерді түзетін заттарды алудың екі әдісі жасалды:

1. Организмнен тыс пульттеу жағдайдарда, бейімделген миеломды алу;
2. Сомалық клеткаларды будандастыру әдісі.

Гибридомды клеткаларды клондау. Клондау тұрақты гибридомды б.а. үшін жүргізіледі. Жаңа түзілген гибридом клетка хромасомалардың жетіспеуіне байланысты деңгейдегі тұрақсыздық тән. Гибридом клеткасын алу үшін мынадай орталар пайдаланылады:

1. Қатыруға арналған ортаны дайындайды
2. Центрифигуралар арқылы шөктіреді
3. Алынған сусынның әрқайсысын 1 мл көлемде 2 мл ампулаға салады

Антидене молекуласы (иммуноглобулин) екі «жеңіл» (I) және екі «ауыр» (Н) ақуыз тізбектерінен тұрады, олар қатаңдатылған белгілі орындарда щзналасқан, дисульфидтік көпірлері мен сутектік байланыстармен жалғастырылады. 4-бөлігінің N-соңы және Ы-тізбектері антиденелерді байланыстыратын сайттар түзеді, антиденелер молекулаларының жеке аймақтары (домендер) әртүрлі қызметтер атқарады. Антиденелерді байланыстыратын сайттар үш аймақтан тұрады, олар антидененің антигендердегі компмментарлығымен анықталады (CDR) және L- тізбектері мен Н-еізбектерінің N-соңында вариабельді (VHжәне V1) аймақтар түзеді. Вариобельден басқа  (VHжәне V1) әр L- тізбек бір константа аймағынан құралады немесе домен (С1), ал әрбір Н-тізбек – үш константа аймағынан немесе доменнен (CH1, CH2 ,CH3,) тұрады. Антиденелерді папаин протеолитикалық ферменттермен өңдеген кезде – үш үзінді түзеді: екеуі ұқсас (Fab), әрқайсысы CH1-VH-H –тізбегінің домені бар дисульфид көпірімен байланысқан, интактілі L-тізбегінен тұрады және біреуі Ғс, ол Сн2– Сн3–Н- тізбегінің домендері бар екі дисульфид қосылыстарының байланысынан тұрады.

Fab- үзіндісі, дәл айтқанда оның N- соңғы бөлігі Fv- үзіндісі деп аталады, ол антидененің интактілі молекуласына тән, антиденені байланыстыратын белсенділікке ие болады.

Антидененің интактілі антиденемен байланысуынан кейін иммунитетке жауап беретін реакциялар жіберіледі.

1. Комплемент жүйесі активтеледі бұл жүйенің компоненттері жасуша мембранасын бұзады, фагоциттерді белсендіреді ( белсенділігін арттырады) және белгілерді генерирлейді, ол жүйенің иммунитетке жауап беретін басқа компоненттерін мобилиздейді.

2. Ғс- аймағындағы антидененің эфекторлы жасушаның Ғс- рецепторымен байланысуы нәтижесінде кезектегі антиденелермен жасушалық цитотоксикалық реакциясы жіберіледі не іске қосылады. Белсендірілген эффекторлы жасуша бөтен жасушаны лизирлеуші заттарды босатады, бөтен жасушамен антидененің Ғаb- аймағындағы молекулалар байланысқан болады.

3. Fab- аймағы ерігіш антиденемен байланысқан соң антидененің Ғс- аймағы фагоциттер рецепторларымен қосылуы мүмкін, олар антидене- антиген комплексін бұзып, басып алады.

Дәрілік заттарды орнына жеткізуді жеңілдету үшін оның әсер етуіне бірнеше тәсілдерді қолданады:

Липосомаларға бекітіледі, олардың липидтік қабықшалары қажетті органдардың жасушаларымен өте ұқсас болады.

Арнайы токсиндер гендерін лимфоциттердің инфильтрлеуші ісіктерінде тұрғызады, олар осы токсиндерді ісіктерде босатады.

Дәрілік заттар молекулаларын моноклональды антиденелерге немесе оларды Fv- үзіндісіне жалғайды, Fv-үзіндісі қатаңдатылған белгілі жасушалардың жоғарғы бетінде орналасқан, ақуыз қатынасы бойынша ұқсас болады, мысалы, ісікті .

Дәрілік заттарды белсенді емес түрде қолданады, ол үшін оларды ферменттер көмегімен белсенді күйге өткізеді. Егер мұндай өзгеріс тек жасушасоғылғыш қасында жүру үшін, ферментті моноклональды антиденеге жалғайды, ол сол жасушаның антиген жоғарғы бетінеұқсас болады.

 Дәрілік заттарды (ДЗ) бүтіндей жеткізу жүйесінің сызба- нұсқалық кескіндемесі, ол моноклональды антиденелерді қолдануға негізделеді (Б. Глику, Дж. Пастернак бойынша):

А – дәрілік заттардың молекуласы моноклональды антиденелерге жалғастырылған:

Б – моноклональды антиденелерге фермент жалғастырылған, ол тек жасуша- соққылайтынға жақын болғандықтан (ДЗ) дәрілік заттардың инертті түрін белсенді түрге айналдырады.

Екі жағдайларда да моноклональды антиденелер бір арнайы ақуызбен жасуша- соққылайтынның жоғарғы бетінде байланысады.

  Моноклоналдык антиденелер технологиясы

Антиденелер немесе иммуноглобулиндер жоғары арнайылы ақуыздар болады, бөтен антигендсрдің организмге енуге жауап ретіндс В-лимфоциттсрмен (плазмоциттер) өндіріледі және тек сол антигендермен өзара байланысуға қабілетті. Антигендер ссебінде инфекцияны қоздырушылар (бактсриялар,  қарапайымдылар, вирустар), инфскцпялық сипатта емес биоорганикалық заттар (бөтен сарысу, өсімдік тозаңшалары, әртурлі ксенобиотиктер, улар, фсрменттер, гормондар, трансплантат жасушалары).

Иммунокомпетенттік жасушалар айыратын бөтен антиген организмге енгенде қанда, көкбауырда, лимфотүйіндерде орналасқан және антидене продуценттерінін, бұрынғы жасу­шалары болатын В-лимфоциттерден плазматикалық жасуша­лар тузіледі (жетілдіріледі) - антидене және иммуноглобулиндсрдің нағыз продуценттсрі (28-сурет).

Антиденелер немесе иммундық сарысулар алудың классикалық технологиясы бөтен антигендерді зсртханалық жануарларға бірнеше рет енгізу болады- гипериммунизация әдісі. Иммунизацияланған жануардың қанының сарысуында 10-14 тәулікте жоғары титрлі антиденелер жиналады. Иммунизацияланған жануардан сарысуды алып, оны бөгде заттардан тазалайды немесе гамма глобулиндік фракция бөлінеді тиісінше иммундық сарысу нсмесе иммундық гаммаглобулиндер (иммуноглобулиндер) алынады.

Гипериммунизация әдісімен алынған антиденелер поликлоналды болады. Оның мәнісі кез келгсн бөтен жасуша (микробтық, жануар немесе өсімдік текті) немесе вирустық бөлшек әртүрлі арнайылы оншақты антигенді дстсрминанттарга ие. Ал организмде әртурлі В-лимфоциттердің 107-108 клондары болады, олардың әрқайсысы нақты антигснге комплсмснтарлы 6ip арнайылы антидене өндіреді. Сондықтан, енетін  антигендер кешеншс В лимфоциттердщ әртурлі клондары әртүрлі арнайылы антидененің тиісті  мөлшepлi санын синтездейді, яғни поликлоналдык, поливалентік сарысу пайда болады.

Поливалентік сарысудан моновалентік алу үшін, оны белгілі антигендермен Кастелани ұсынтан емдеу әдісі бар. Мысалы, гипериммунизацияда антиген ессбінде О, К, Н-антигендері бар микроорганизмдердің инактивацияланған жасушаларын енгізгсн, онда сарысуға тек О мен К антигендерін қосса (олар сарысудан алынып тасталатын антиген антидене кешендері  түзеп, тек тиісті  антиденелермен реакцияға кipiседі), моноваленттік сарысу алынады. Ол тек Н-антигенге қарсы антиденегс ис. Бірақ антидснелсрдің бip тектілігінің деңгейі мұндай сарысудың моноклоналдығы жөнінде  айту қиын.

Антиденелердің моноклоналдығы жөнінде  айтуға болады, егер әуел баста антидене продуценті ссебінде тек 6ip клон, *in vitro*өcipin, көбейту қажет, антигснмсн белсендіріп, онымен сизтезделген антидене бөліп алған дұрыс.Өкінішке орай В-  лимфоцит, *in vitro*басқа да ксз келгсн жетілдіршгсн жасуша сейілді 5-10 пассаждан өтіп, аpы қарай өспей, арнайылығын жоғалтады. Қызметтік белсенді мен ұзак жасауын қалай қамтамасыз ету керек (ұзаққа өсу мен кебеюді *in vitro-*да сақтау).

1950 жылдан биологияда құрамы жағынан бірдсй қоректік ортаны қолданып, *in vitro*жануар жасушаларын, тіндік культураны өcipy тсхнологиясы пайдаланады. Тек жстілдірілген жасушаларды ғана емес, атиптік жасушалар, соның ішінде антидене өндіретін плазмоцитомаларды да өсіреді.

Жануар мен адам жасушасының культуралары жалпы  биология, цитология, генетика, вирусология, иммунология жәнс инфекциялық, патологияның ғылыми мәселелерін шешу үшін қолданады. Ғылыми зерттеулердің  бағыттарының бipeyiне әртүрлі жасушаларды бipiктіpy жатады. Плазматикалық мсмбранамен қоршалған жасуша фрагмснттсрін біріктіру арқылы (ядро, цитоплазма, хромосомалар) жаңа, табиғатта бұрын болмаған гибридтік жасуша жасауға болады.

Антиденелерді алудың классикалық тәсілі (немесе дәстүрлі биотехнология) бсрілген антигенмен зертханалық жануарларды гипериммукизациялау болады. Бірақ,  классикалық, тәсілмен алынған сарысулар елеулі кемшіліктерге ис. Таза антиденелерді алу үшін антигенді тазалау қажет, бұл тапшылық антигендер (гормондар, ферменттер) үшін техникасы күрделі.

**Қолданылған әдебиеттер:**

1.Прищеп Т.П., Чучалин В.С. И др. Основы фармацевтической биотехнологии. –Томск: НЛ СГМУ, 2006.- 350 с.

2.Биотехнология лекарственных средств: уч.пособие/ под ред. Быкова В.А., Данилина М.В. –М.: Медбиоэкономика, 1991.- 303 с.

3.Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках.-М.:Наука, 2004.-525 с.

4.Сассон А. Биотехнология – свершения и надежды.-М.: Мир, 1987.

5.Сазыкин Ю.О., Орехов С.Н., Чакалева И.И. Биотехнология.-  М.: 2006.

6.Бич Г., Бест Д. и др. Биотехнология. Принципы и применение. М.                     Мир, 1988.

7.Бейли Дж., Оллис Д. Основы биохимической инженерии. - М.: Мир,1989

8.Иммунология / под ред. У. Пола. М.: Мир, 1998.

9.Пассет Б.В., Воробьева В.Я. Технология химико-фармацевтических

препаратов и антибиотиков.  -М.: Медицина, 1994.

10.Котов В.Б., Беляева Т.А. Состояние и тенденции развития биотехнологии за рубежом. Биотехнология. Т.30. М.:ВИНИТИ, 1991.

11.Гибридомная технология и применение моноклональных антител в медицине и биотехнологии – Сборник статей. Биотехнология, т.20. М., 1989.

12.Биотехнология: Учебное пособие для вузов в 8 кн. / под ред. Н.С.Егорова,  В.Д.Самуилова. М.: Высшая школа. 1987.