

Тақырып: Инсулин өндірудің дәстүрлі және заманауи әдістері

Жоспар:

- ❑ Қант диабетінің диагностикасы, қант диабетінің түрлері
- ❑ Инсулинді өндірудің дәстүрлі әдісі
- ❑ Заманауи технологиялардың негізінде инсулинді өндіру жолдары

Қант диабетінің диагностикасы (үй жағдайында)

1. Қан мен несеп құрамындағы глюкоза мөлшерін анықтау (экспресс-тест, глюкометр)

- Капилляр қанында глюкоза нормасы (**6,7 ммоль/л**,
глюкоза (75 г/200 мл су) жүктелгеннен кейін (**11 ммоль/л**)
- Несеп құрамында глюкоза анықталса – қан құрамында
глюкоза деңгейі **10 ммоль/л** асқанын көрсетеді.

2. Несеп құрамында ацетон анықталса – **ҚД** **декомпенсирленген** формасын көрсетеді.



Қант диабетінің диагностикасы (зертхана жағдайында)

- Пациентті алдын ала дайындау (3 күн), көмірсулардың мөлшері - 150 г/тәулік
 - Үшінші күні - (8-14 сағ бұрын) тамақтануды сағ 21.00 –де тоқтату
 - Төртінші күні - ашқарақ қан тапсыру, 5 мин ішінде глюкоза ерітіндісін (75 г/200 мл су) ішу, (балалар 1,75 г/кг), екі сағ соң қайта қан тапсыру.
 - Қанды пробиркаға жинау, центрифугалау, қан плазмасын бөліп алу, қатыру, глюкозаны анықтау.
- ✓ **6,1 ммоль/л** - ҚД жоқ,
 - ✓ Қан плазмасында **6,1 ммоль/л-7 ммоль/л** - ҚД ықтимал,
 - ✓ **7 ммоль/л жоғары** – алдын ала диагнозы ҚД, глюкозаға толеранттылықты анықтау.
 - ✓ **7,8 ммоль/л жоғары** (ашқарақ) н/е **15 ммоль/л жоғары** - ҚД

Қант диабетінің диагностикасы (зертхана жағдайында)

➤ Глюкозаға толеранттылықты анықтау

Организмде глюкозаның энергияға айналуының бұзылуы

Уровень сахара натощак	Уровень сахара через 2 часа после нагрузки глюкозой (75 г)	Диагноз
5,5–5,7 ммоль/л (100 мг%)	7,8 ммоль/л (140 мг%)	Отсутствие заболе- вания
7,8 ммоль/л (140 мг%)	7,8–11 ммоль/л (140–200 мг%)	Нарушение толерант- ности к глюкозе
7,8 ммоль/л (140 мг%)	11,1 ммоль/л (200 мг%)	Сахарный диабет

Диабеттің III және IV типтері

Диабеттің III (Maturity-onset diabetes of the young),
Ересектер ауыратын диабет түрімен (**гендердің
мутациясы** салдарынан) жастардың ауруы.

Ұйқы безі қабынғанда, ісіктердің пайда болуы, ота жасату салдарынан орын алады

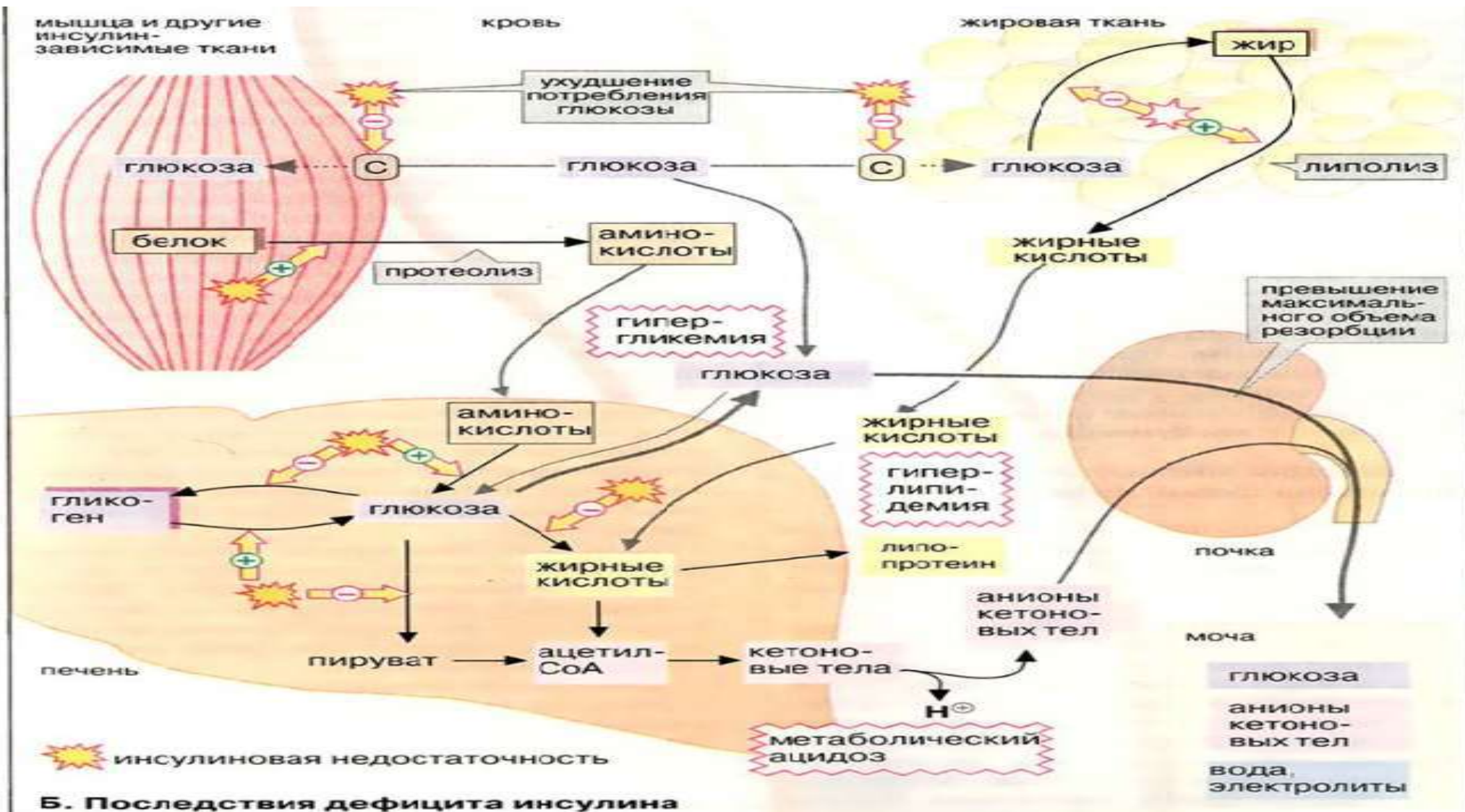
Ми (Альцгеймер) мен көз (глаукома) ұлпаларында глюкоза мен инсулиннің метаболизмі бұзылады.

Диабеттің IV – гестационды, жүкті әйелдер диабеті.



Гены, мутации в которых вызывают диабет

- Ген ядерного фактора гепатоцитов 4α (***HNF4A***; **MODY1**),
- Ген глюкокиназы (***GCK***; **MODY2**),
- Ген ядерного фактора гепатоцитов 1α (***HNF1A***; **MODY3**),
- Ген транскрипционного фактора **PDX1** (***PDX1***; **MODY4**),
- Ген фактора транскрипции **2** (***TCF2***) или ядерный фактор гепатоцитов 1β (***HNF1B***; **MODY5**),
- Ген фактора нейрогенной дифференцировки **1** (***NEUROD1***; **MODY6**),
- Ген Kruppel-подобного фактора **11** (***KLF11***; **MODY7**),
- Ген карбоксил-этер-липазы (***CEL***; **MODY8**),
- Ген **PAX4** (***PAX4***; **MODY9**),
- Ген инсулина (***INS***; **MODY10**),
- В-лимфоцит киназа (***BLK***; **MODY11**),
- АТФ-связывающая кассета, суб-семейство **C** (***CFTR/MRP***), член **8** (***ABCC8***; **MODY12**),
- Ген **KCNJ11** (**MODY13**).





Табиғи шикізат көзінен инсулинді бөліп алу

Ұйқы бездерді (ірі қара мал, шошқа) **экстракциялау**, су, $t - 30^{\circ}\text{C}$



Фильтрация (вакумдық, ленталы, фильтр пресс) немесе **центрифугалау** (сеператорлар) биополимерлерден тазарту



Гормондар ерітінділерін **қоюландыру** - буландыру -20°C



Ультрафильтрация (қоюландыру, төмен молекулалы заттаран тазарту),
буландыру, суыту



Органикалық заттармен (тұздармен тұндыру)



Хроматография (крахмал, сефадекс т.б. иониттер)

800-1000 г ұйқы безі/ 100 г инсулин кристалдары

Табиғи шикізат көзінен инсулинді бөліп алу әдісінің кемшілігі

- Өте аз мөлшерде алынады
- Мал басының жетіспеушілігі
- Адамдарда шошқа мен бұқа инсулиндеріне қарсы антиденелердің түзілуі
- Көз бен бүйрек қызметі бұзылады, қосымша басқа да зиянды әсерлер
- Шикізатты сақтау және тасымалдау қиындығы
- Бөліп алу және тазарту қиындығы

РАЗЛИЧИЯ В СТРОЕНИИ А- И В-ЦЕПЕЙ МОЛЕКУЛ ИНСУЛИНА НЕКОТОРЫХ ВИДОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Вид	Положения аминокислотных остатков			
	А-цепь			В-цепь
	8	9	10	30
Человек	Thr	Ser	Ile	Thr
Свинья	Thr	Ser	Ile	Ala
Корова	Ala	Ser	Val	Ala
Овца	Ala	Gly	Val	Ala
Лошадь	Thr	Gly	Ile*	Ala

➤ **Инсулинді жартылай синтетикалық жолмен алу әдістері**
(Ферменттік-химиялық әдіспен модификациялау)

Трипсин қолданылады.

Шошқа инсулиніндегі

В амин қышқылы тізбегі С-соңындағы **аланинді** адам инсулиніндегі В тізбегіндегі **треанинге** алмастыру.

Октапептидтерді алмастырады. Соңында құрамындағы барлық қорғаныштық топтарды алып тастайды.

Кемшілігі - препарат құны қымбат.

Иммобилденген **потеиназа I** ферменті (*Achromobacter lyticus*) қолданылады.

В тізбегіндегі С шеткі **аланинді** химиялық жолмен **треонинге** алмастырады.

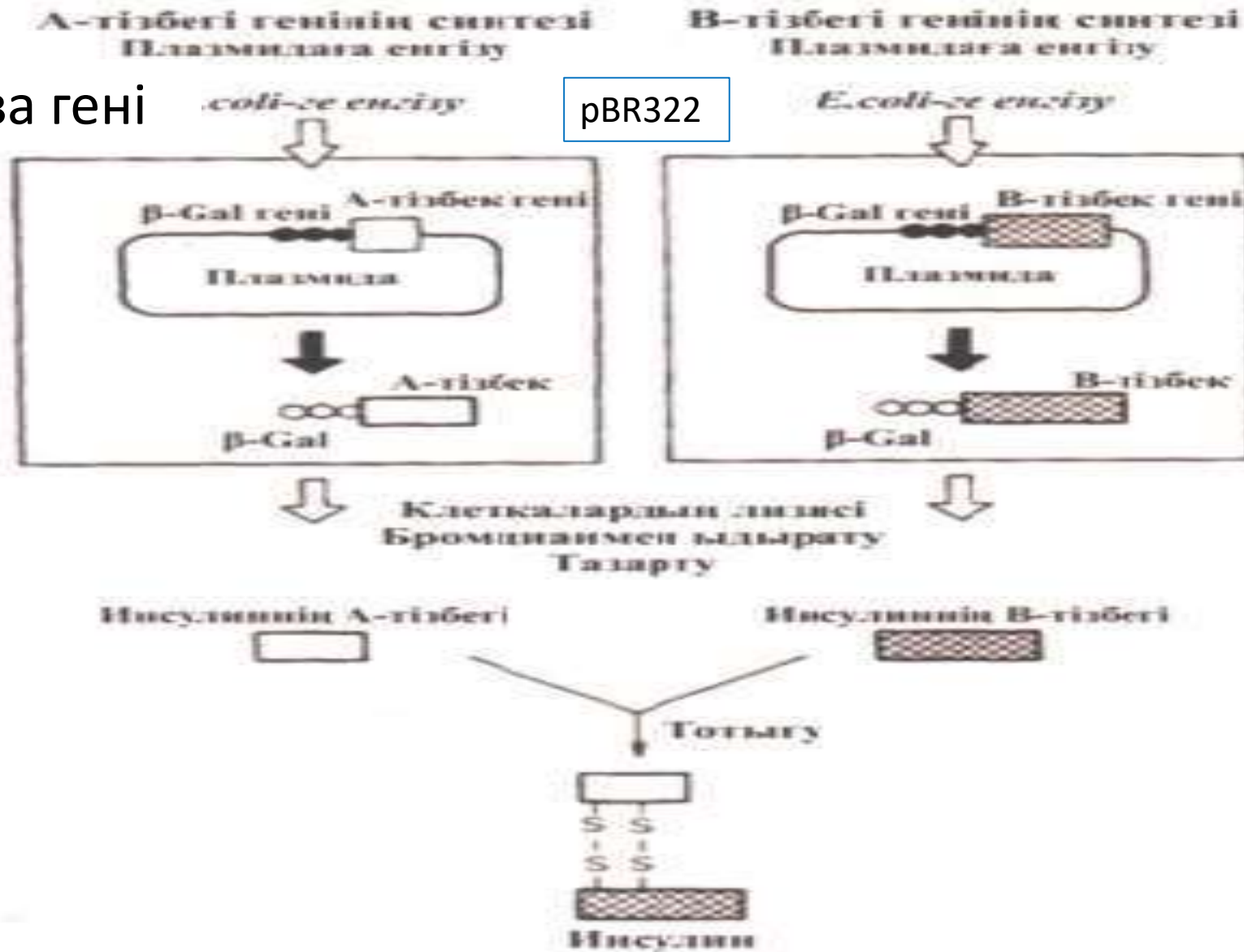
Реакциялық орталыққа

О- трет- бутил тобын қосады.

Гендік-инженериялық әдістері

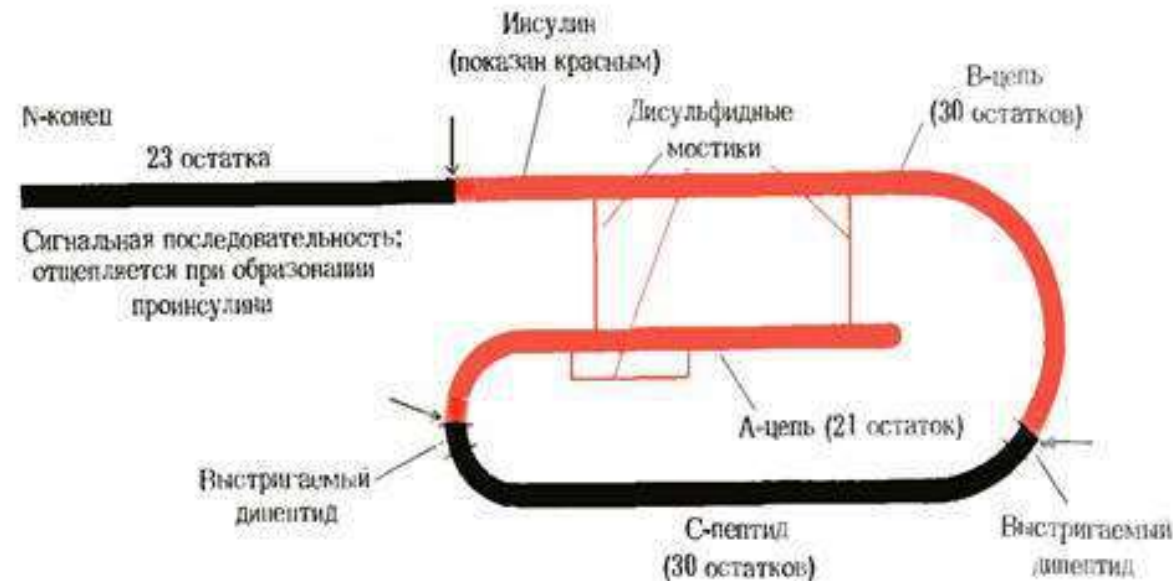
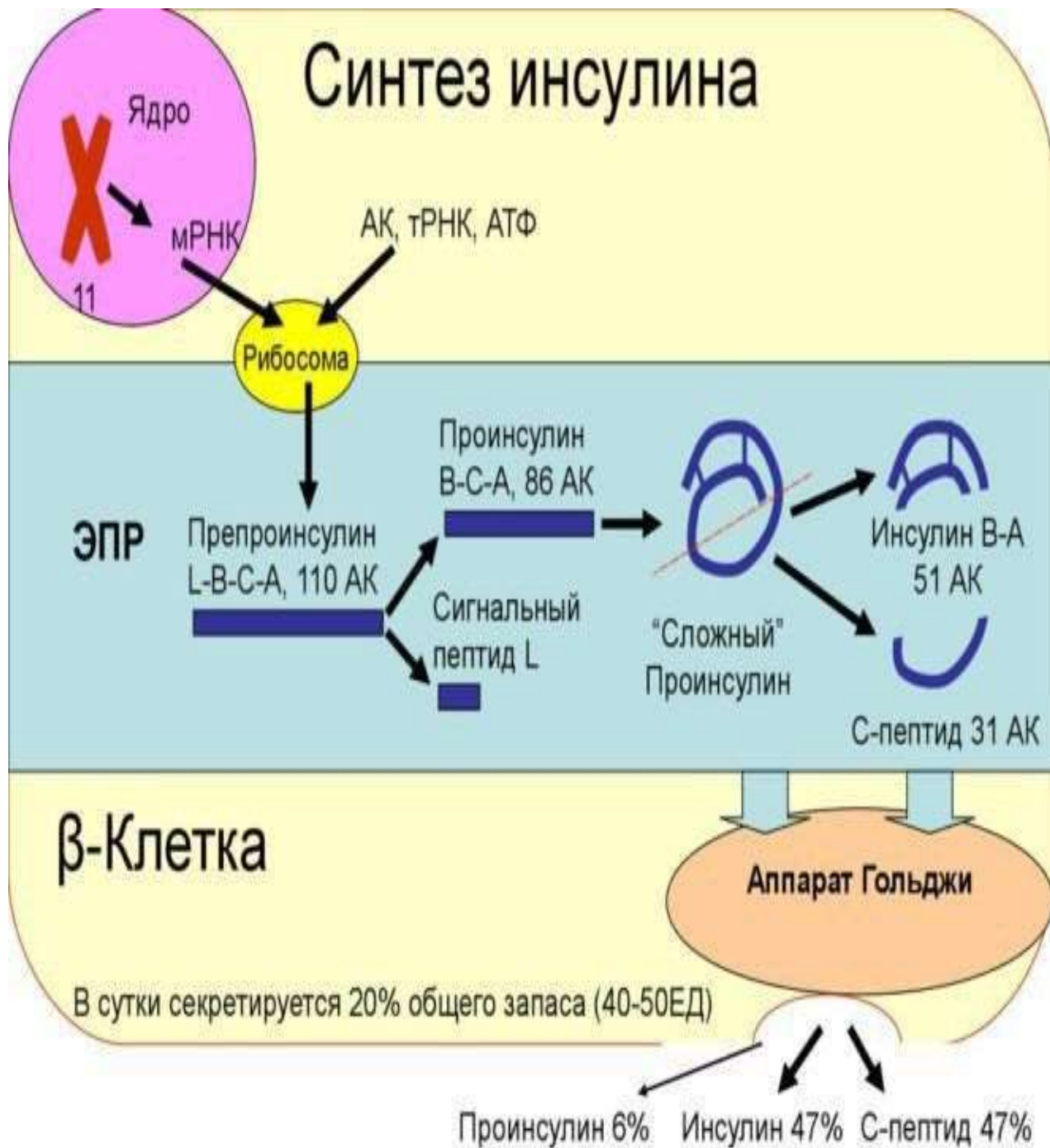
β - галактозидаза гені

Кемшілігі:
Дисульфидті
байланыстардың
болмау,
Продуценттерден
ферментация,
бөлу, тазартудың
екі рет
орындалуы.

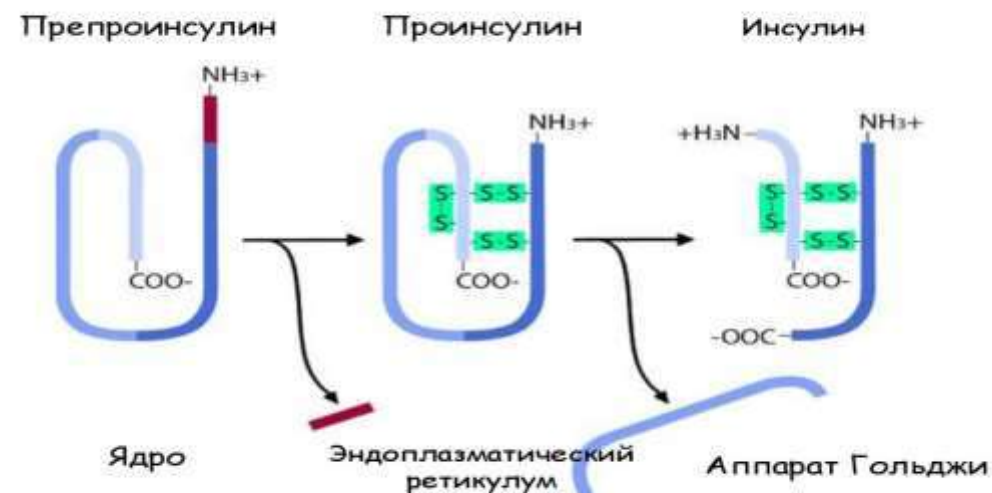


т. Рекombинантты ДНҚ технологиясын пайдаланып инсулин алу

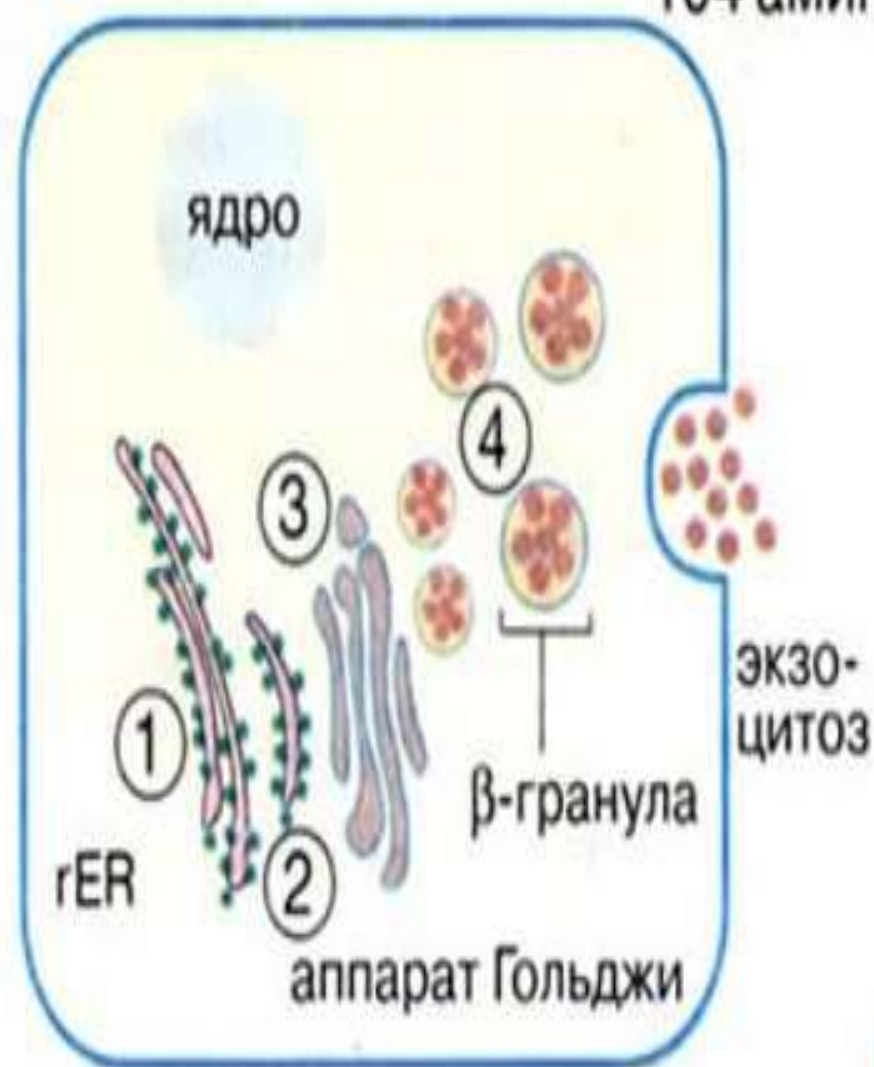
Синтез инсулина



Синтез инсулина



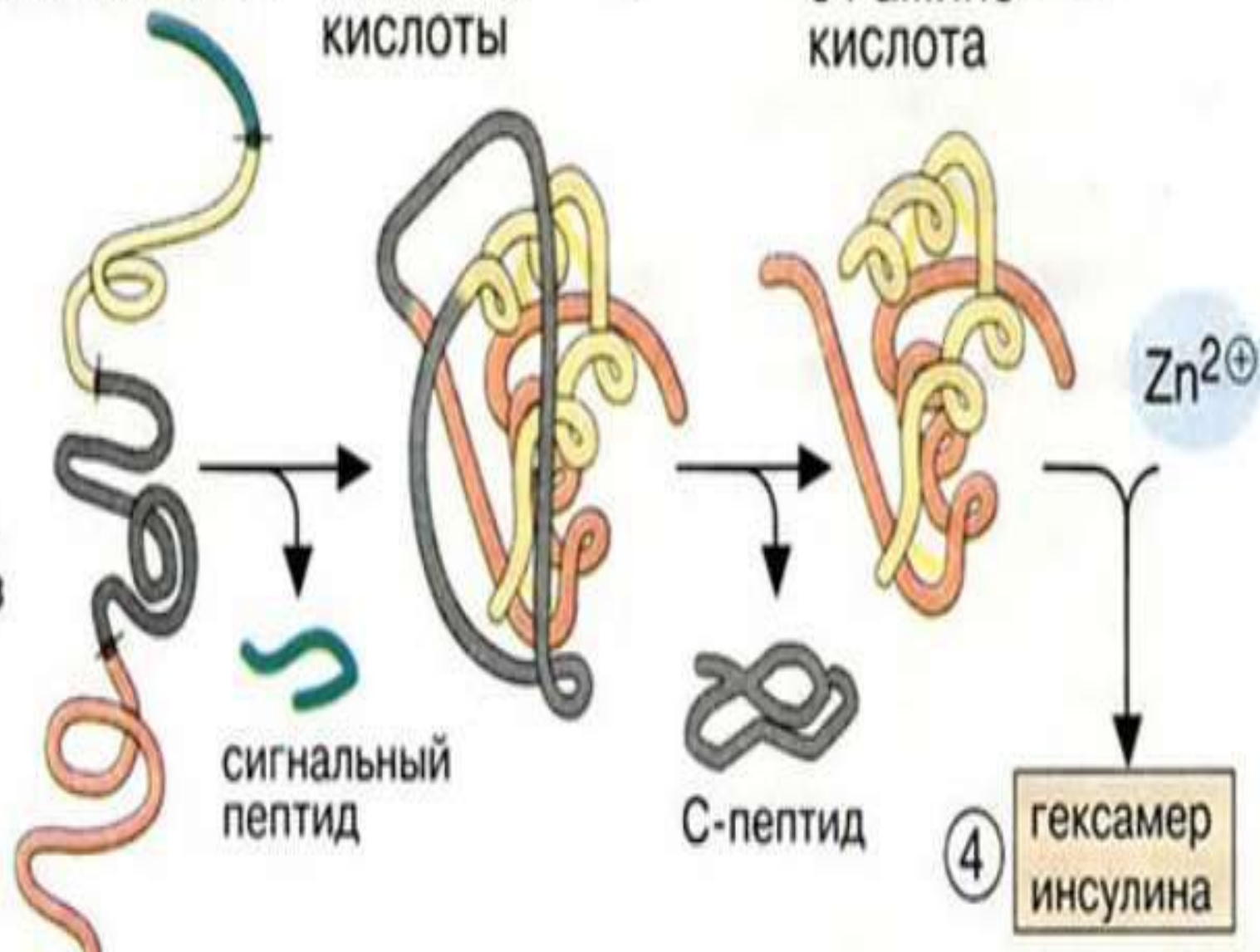
В-клетка



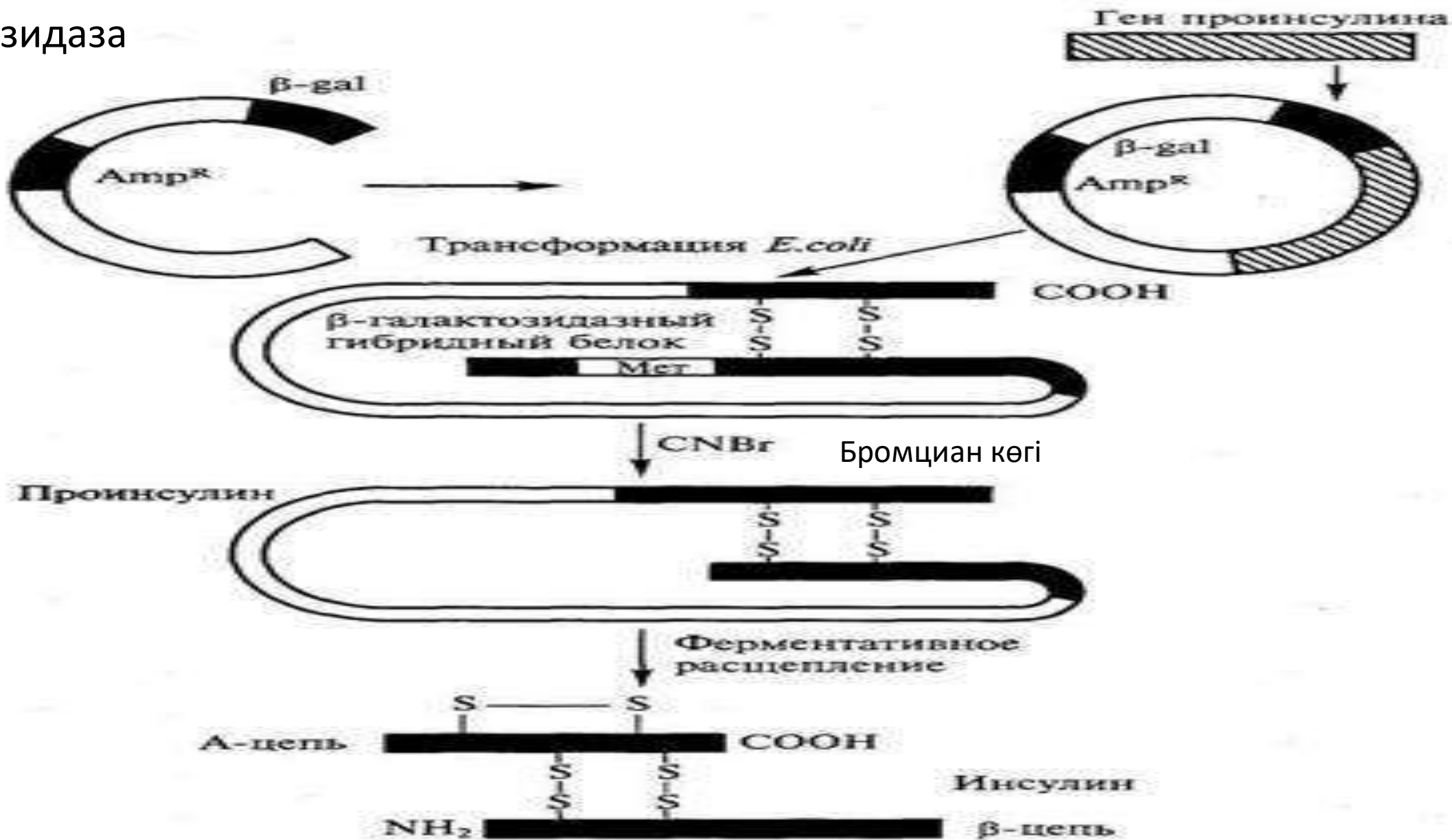
препроинсулин,
104 аминокислоты ①

проинсулин
84 аминокислоты ②

инсулин,
51 аминокислота ③



β - галактозидаза
гені



Инсулинді гендік-инженерлік әдіспен алудың екінші жолы

➤ Гендік-инженериялық әдістің артықшылығы:

- ❑ Адам инсулиніне толық ұқсас,
- ❑ Аллергиялық реакция болмайды,
- ❑ Бактерияны дақылдау ортасында **1000 л / 200 г инсулин** (1600 кг ұйқы безден алынған мөлшерге тең).

➤ Әдіс кемшілігі:

- ❑ Инсулин препараттың құрамында **глико** және **липопротеидтердің** қоспалары болуы мүмкін, бұл қосылыстар **пирогенді** (токсикалық) қасиетке ие болғандықтан оларды мұқият тазарту керек.



Инсулин организмге енгізілу түрі



Инъекция енгізудің кемшілігі:

- ❑ (препараттың қан құрамындағы концентрациясы қажетті мөлшерден жоғары болуы),
- ❑ бауырдың метаболизмге қатыспауы

- перроральді енгізудің кемшілігі

- ❑ Азқазан-ішек трактысының ферменттік жүйелерімен гидролизденіп кетуі,
- ❑ Инсулин молекуласының массасы жоғары белок болғандықтан, ішектің шырышты қабаты арқылы сіңірілуі нашар болады



Инсулиннің таблетка түріндегі жаңа препараттары

➤ Инсулинді модификацияланған гелге иммобииздеу.

❑ Гель инсулинмен химиялық байланысқа түспейтіндіктен, гелден оңай босап шығады.



➤ Полиакриламидті гелге протеолиттік ферменттердің тежегіштері (**овомукоид, Mr-31000 дальтон**) енгізіледі, олар гелмен химиялық жолмен байланысады.

❑ Тежегіштер инсулинді ыдырататын немесе инактивациялайтын ферменттерден қорғап, олардың белсенділігін жояды.

❑ Тежегіштер организмге зиянды әсерін тигізбей жұмсалмаған бөлігі гел қалдықтарымен сыртқа шығалылады.

Қолданылған әдебиет тізімі

1. Бейсембаева Р.Ұ., Карпенюк Т.А., Гончарова А.В., А.Е. Ережепов. – Медициналық биотехнология: оқу құралы. Алматы: Қазақ университеті, 2018. - 345 б.
2. Абдиева Г.Ж. Медициналық микробиология. - Қазақ Университеті, 2016. – 170 б.
3. Н.В. Юнусова, Е.В. Кайгородова, О.В. Кокорев, Р.Р. Салахов М Медицинские биотехнологии с основами молекулярной биологии (избранные лекции): учебное пособие. Томск: Изд-во СибГМУ, 2023. – 143 с.
4. Лутова Л.А., Михайлова Т.В. Генная и клеточная инженерия в биотехнологии высших растений. Изд.Эко-Вектор. 2016. -168 с.
5. Загоскина Н.В., Назаренко Л.В. Основы биотехнологии. М.: Издательство Юрайт, 2018. - 162 с.

Интернет-ресурстар

<http://elibrary.kaznu.kz/ru>, <https://farmstudent.ru/>, <https://www.elibrary.ru/>, <https://www.books-up.ru/>