ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ
БИОТЕХНОЛОГИЯ КАФЕДРАСЫ

«ГМӨ мен органик өнімдерінің қауіпсіздігі» пәні

Дәріс № 9

Гендік инженерлік биопрепараттарды алу

Дәріскер: б.ғ.к., доцент Кирбаева Д.К.

Жоспар

- Кіріспе.

1. Биологиялық белсенді қосылыстарды өндіруші -генетикалық түрлендірілген микроорганизмдер
2. Гендік инженерлік биопрепараттарды алу
3. Жасушалық терапияға арналған препараттар
4. Қолданылу салалары

Қорытынды

Бақылау сұрақтары

Кіріспе

Гендік инженерия — тірі ағзалардың генетикалық аппаратын мақсатты түрде өзгерту арқылы жаңа қасиеттері бар организмдер немесе олардың өнімдерін алу әдістерінің жиынтығы. Гендік инженерия негізінде алынатын **биопрепараттар** қазіргі биотехнологияның ең маңызды жетістіктерінің бірі болып табылады. Олар медицинада, ауыл шаруашылығында және өнеркәсіпте кеңінен қолданылады.

Гендік инженерлік биопрепараттар — бұл генетикалық түрлендірілген микроорганизмдер (бактериялар, ашытқылар, жануарлар немесе өсімдік жасушалары) арқылы синтезделген биологиялық белсенді заттар. Бұл заттар табиғи аналогтарына ұқсас немесе одан да тиімді болуы мүмкін.

Мысалы: Инсулин, интерферон, соматотропин (өсу гормоны), эритропоэтин, моноклоналды антиденелер.

2. Биотехнологияның негізгі бағыттары

1.Медициналық биотехнология (биофармацевтика)

1. Гендік инженерлік биопрепараттар (инсулин, интерферон, эритропоэтин).
2. Вакциналардың жаңа түрлері (мРНҚ-вакциналар, векторлық вакциналар).
3. Генотерапия — тұқым қуалайтын ауруларды емдеу үшін гендерді алмастыру.
4. Жасушалық және тіндік инженерия (жасанды ағзалар, регенеративті медицина).

2.Ауыл шаруашылық биотехнологиясы

1. Генетикалық түрлендірілген дақылдар (жүгері, соя, күріш, мақта).
2. Өнім сапасы мен ауруларға төзімділікті арттыру.
3. Биологиялық тыңайтқыштар және биопестицидтер.
4. Мал шаруашылығында эмбрионды көшіру және клондау технологиялары.

3.Өнеркәсіптік және экологиялық биотехнология

1. Микроорганизмдер арқылы биологиялық отын (биоэтанол, биодизель) өндіру.
2. Биополимерлер мен биоыдырайтын пластиктер жасау.
3. Қалдықтарды өңдеу және ластанған топырақ пен суды биоремедиациялау.

4.Ақпараттық және нанобиотехнология

1. **Биоинформатика** – геномдық және протеомдық деректерді талдау.
2. **CRISPR-Cas9 технологиясы** – геномды дәл түзету әдісі.
3. **Нанобиотехнология** – дәріні мақсатты жасушаға жеткізу жүйелерін жасау.

№	Жетістіктер	Қысқаша сипаттама
1	**Рекомбинантты инсулин (Humulin)**	Гендік инженерия арқылы адам инсулині алғаш рет бактерияларда синтезделді.
2	**CRISPR-Cas9 жүйесі**	Геномды дәл және тиімді түзетуге мүмкіндік береді.
3	**мРНҚ-вакциналар (Pfizer, Moderna)**	COVID-19 індетіне қарсы тез әзірленген және тиімді вакцина түрі.
4	**Органоидтар мен 3D биопринтинг**	Жасушалардан жасанды ағзалар мен тіндер басып шығару технологиясы.
5	**Клондау (Долли қойы, 1996)**	Соматикалық жасушадан алғаш рет сүтқоректі ағзаны көшіру.
6	**Биосенсорлар және биочиптер**	Диагностика мен медицинада ауруларды ерте анықтауға мүмкіндік береді.
7	**Геномды секвенирлеу (Human Genome Project)**	Адам геномының толық картасы жасалды.
8	**Биоэнергетика**	Микроорганизмдер көмегімен жаңартылатын энергия көздерін өндіру.

1. Гендік инженерлік биопрепараттарды алудың жалпы кезеңдері

1-қадам. Қажетті генді анықтау және бөліп алу
•Мақсатты ақуызды (мысалы, инсулин, интерферон, өсу гормоны) кодтайтын ген анықталады.
•Бұл ген донор-организмнен (адам, жануар, бактерия және т.б.) бөлініп алынады.

2-қадам. Генді векторға енгізу (клондау)
•Ген арнайы **векторға** (плазмида, вирус, фаг және т.б.) енгізіледі.
•Вектор — генді тасымалдауға және экспрессиялауға арналған құрал.

3-қадам. Қабылдаушы организмге тасымалдау (трансформация)
•Векторы бар ген **қабылдаушы организмге** (мысалы, *E. coli*, ашытқы немесе сүтқоректі жасушасы) енгізіледі.
•Бұл жасуша енді мақсатты ақуызды синтездей алатын «биофабрика» рөлін атқарады.

4-қадам. Трансгенді жасушаларды өсіру және экспрессия
•Жасушалар арнайы қоректік ортада өсіріледі.
•Олар қажетті ақуызды көп мөлшерде синтездейді.



1. Гендік инженерлік биопрепараттарды алудың жалпы кезеңдері

•**5-қадам. Биопрепаратты бөліп алу және тазалау**

•Өндірілген ақуыз **биохимиялық әдістермен (хроматография, фильтрация)** тазаланады.

•Дайын өнімнің **белсенділігі мен тазалық дәрежесі** тексеріледі.

•**6-қадам. Сынақ және тіркеу**

•Алынған биопрепараттың **қауіпсіздігі мен тиімділігі** зертханалық және клиникалық сынақтарда тексеріледі.

•Реттеуші органдардан **ресми рұқсат пен тіркеу** алынады.

Биологиялық заттар бөлінеді:

- Биотехнологиялық бағыттарда қолданылады;
- иммунологиялық (вакциналар, гетерологиялық иммуноглобулиндер және иммундық сарысулар, диагностикумдар және аллергендер);
- плазмадан алынған препараттар (альбумин, ұю факторлары, адамның иммуноглобулині);
- гендік және жасушалық терапияға арналған препараттарды, сондай-ақ тіндік инженерияға арналған препараттарды қамтитын озық терапия препараттары;
- рекомбинантты емес препараттар (ботулинум токсиндері, ас қорыту ферменттері, урофоллитропин, гепариндер және т.б.).

Гендік терапияға арналған препараттар

Тәсілдері бойынша түрлері:

1.Ген енгізу препараттары (gene addition therapy)

1. Дені сау ген мутант геннің орнына енгізіледі.
2. Мысалы: *Luxturna* – тұқым қуалайтын көз ауруларын (ретинит пигментоза) емдеуге арналған.

2.Генді түзету препараттары (gene editing therapy)

1. CRISPR-Cas9, TALEN немесе ZFN технологиялары арқылы нақты мутациялар түзетіледі.
2. Мысалы: *Exa-cel (Vertex/CRISPR Therapeutics)* – орақ жасушалы анемия мен β-талассемияны емдеуде қолданылады.

3.Антисенстік нуклеотидтер негізіндегі препараттар

1. Дұрыс емес мРНҚ транскрипциясын тежеу арқылы ауруды түзетеді.
2. Мысалы: *Spinraza (Nusinersen)* – жұлын бұлшықет атрофиясын (SMA) емдеу.

4.РНҚ-интерференция негізіндегі препараттар (RNAi therapy)

1. Белгілі бір геннің шамадан тыс белсенділігін басады.
2. Мысалы: *Onpattro (Patisiran)* – тұқым қуалайтын амилоидозды емдеу үшін қолданылады.

5.Векторлық генотерапиялық препараттар

1. Ген вирус-вектор (адено-, лентивирус және т.б.) арқылы жеткізіледі.
2. Мысалы: *Zolgensma* – SMA ауруын бір реттік емдеу үшін қолданылатын ең қымбат препарат.

Гендік инженерлік биопрепараттарды алу

Рекомбинантты ақуызды биотехнологиялық өндіріс:

- Гормондар (инсулин - шамамен 30% құрайды, соматотропин),
- Интерферондар (жасушаның спецификалық емес қорғанысывирустар мен қатерлі ісіктер),
- Вакциналардың жаңа буыны,
- Тіндердің өсуінің пептидтік факторлары.

Гендік инженерлік биопрепараттарға мысалдар

Препарат атауы	Белсенді заты	Қолданылуы
Инсулин (Humulin)	Адам инсулині	Қант диабетін емдеу
Интерферон	Интерферон-α, β, γ	Вирустық аурулар мен ісіктерге қарсы
Эритропоэтин (EPO)	Эритропоэтин гормоны	Анемияны емдеу
Гендік инженерлік вакциналар	HBV, HPV вакциналары	Вирусқа қарсы профилактика
Моноклоналды антиденелер	Rituximab, Trastuzumab	Иммундық және онкологиялық аурулар

Рекомбинантты инсулин алу

1.Адам инсулинін кодтайтын ген бөлінеді.
2.Ген *E. coli* плазмидасына енгізіледі.
3.Бактериялар ферментерде өсіріледі, нәтижесінде рекомбинантты инсулин түзіледі.
4.Протеин тазаланып, фармацевтикалық инсулин түрінде қолданылады (мысалы, Humulin).



Интерферон алу жолы:

1. Қандай интерферон қажет екенін анықтау

•**Типтері:** IFN-α, IFN-β, IFN-γ - әрқайсысының мақсатты қолданылуы (вирустарға қарсы, иммуномодуляция және т.б.) әртүрлі.

•Таңдау терапиялық мақсатқа және клиникалық талаптарға байланысты.

2. Ген таңдау және оптимизация

•Адам(немесе қажетті көздің) интерферон гені таңдалады.

•Көп жағдайда **кодон-оптимизация**, сигналдық пептидтерді қосу/алмастыру, немесе көшірмелі (fusion) белгілерді қосу арқылы экспрессияны және тазалауды жеңілдету қарастырылады.

•Бұл — молекулярлық деңгейдегі дизайн, бірақ нақты синтез/жинақтау параметрлері берілмейді.

3. Вектор және экспрессия жүйесі таңдау (қолданылу ерекшеліктері)

•**Бактериялар (мыс., *E. coli*):** артықшылығы — жылдам, арзан және көп мөлшерде белок береді; кемшілігі — пост-трансляциялық модификациялар болмайды, кейде **инклюзия денелері** түзіледі және ақуызды қайта түзету талап етілуі мүмкін.

•**Ашытқы (мыс., *Pichia pastoris*):** оңтайлы секреторияция мүмкіндігі, кейбір гликозилдеу түрлері болады.

•**Шымырлатылған (mammalian) жасушалар (мыс., CHO, HEK):** адамға жақын пост-трансляциялық модификациялар — терапиялық белоктар үшін жиі қолданылады, бірақ өндірісі қымбат және күрделі.

•**Инсекциялық жүйелер** және басқа жүйелер кей кезде қолданылады — таңдау өнім қасиетіне байланысты.

Интерферон алу жолы:

4. Рекомбинантты конструкция енгізу және экспрессия

•Ген векторға енгізіледі және таңдалған қабылдаушы клеткаға трансфекция/трансформация/интеграция арқылы орналастырылады.

•Содан кейін экспрессия жүйесі белок өндірісіне шығарылып, оптимизацияланады (ферментация/культура жағдайдарының жалпы тактикасы, бірақ параметрлерсіз).

•5. Алдын ала өңдеу — секретия немесе ішкі синтез

•Егер белок секреторлы көрсетілсе — культура медиумына секреттеледі (тазалау жеңілірек).

•Егер ішкі болып қалса — клеткаларды бірқатар өңдеу (қоршаған ортаны бұзу) арқылы алу қажет. (Бұл жерде нақты жасуша бұзудың рецептілері берілмейді.)

6. Тазалау (концептуалды)

•**Басты әдістер:** аффиндік хроматография (мыс., тегпен байланыстырылған ақуыздар үшін), ион алмасу, мөлшер бойынша хроматография, ультрафильтрация/диализ.

•Тазарту шойындары бірнеше стадиядан тұрады: бірінші сатылы төңкеріс, кейін жоғары тазалыққа жеткізу.

•Қолданылады: денатурация/рефолдинг (қажет болса), дегликозилдеу (қажет болса).

Интерферон алу жолы:

7. Модификациялар және формулация

•**PEGylation** (полиэтиленгликольмен модификация) — биожартылай кезеңді ұлғайту үшін.

•Glyco-модификация, fusion-қосылыстар (Fc-domain) — фармакокинетиканы және тұрақтылықты өзгерту үшін.

•Тұрақты, стерильді фармацевтикалық форманы әзірлеу (буферлер, стабилизаторлар, адъюванттар).

8. Қауіпсіздік, тестілеу және сапа бақылау (QC)

•**Биологиялық белсенділік:** in vitro вирустық/антивирустық био-ассайлар немесе иммунологиялық әрекетті тексеру.

•**Идентификация:** SDS-PAGE, Western blot, масс-спектрометрия, N-terminal sequencing.

•**Тазаулық:** HPLC, аналитикалық хроматография.

•**Эндотоксин мөлшері, стерильдік, пирогендік тестілеу.**

•**Иммуногенділік және қауіпсіздік тестілері** — доклиникалық және клиникалық зерттеулерде міндетті.

9. GMP және реттеушілік талаптар

•Терапиялық интерферон өндірісі **GMP -** талаптарына сай болуы тиіс: құжаттау, валидация, тазалық, персонал, жабдық, трассировка.

•Клиникалық және нарыққа шығару үшін тиісті реттеуші органдардың (мысалы, FDA, EMA немесе ұлттық органдар) талаптары орындалуы керек.

10. Қолдану және клиникалық талаптар

•Дәрілік нысан (инъекция, респираторлы, т.б.), дозалау, қауіпсіздік профилі клиникалық сынақтар арқылы анықталады.

•Биологиялық аналогтар немесе биосимилярлар шығарғанда қосымша салыстыру тесттері қажет.

3. Жасушалық терапияға арналған препараттар

Негізгі түрлері:

1.Гемопоэтикалық бағаналы жасуша терапиясы (HSCT)

1. Қан аурулары мен қатерлі ісіктерде сүйек кемігін қалпына келтіру үшін қолданылады.
2. Мысалы: *Stemirac* – жұлын жарақаттарында нейрорегенерацияны ынталандырады.

2.Мезенхималық бағаналы жасушалар негізіндегі препараттар (MSC therapy)

1. Сүйек, бұлшықет, шеміршек және дәнекер тіндердің қалпына келуін қамтамасыз етеді.
2. Мысалы: *Cartistem* – тізе шеміршегін қалпына келтіретін биопрепарат.

3.CAR-T жасушалық терапиясы (Chimeric Antigen Receptor T-cell therapy)

1. Иммундық Т-жасушаларды генетикалық модификациялау арқылы ісік жасушаларын жою.
2. Мысалдар:
    1. *Kymriah (tisagenlecleucel)* – В-жасушалық лейкоз;
    2. *Yescarta (axicabtagene ciloleucel)* – лимфомалар;
    3. *Abecma* – көптік миелома.

4.NK-жасушалық терапия

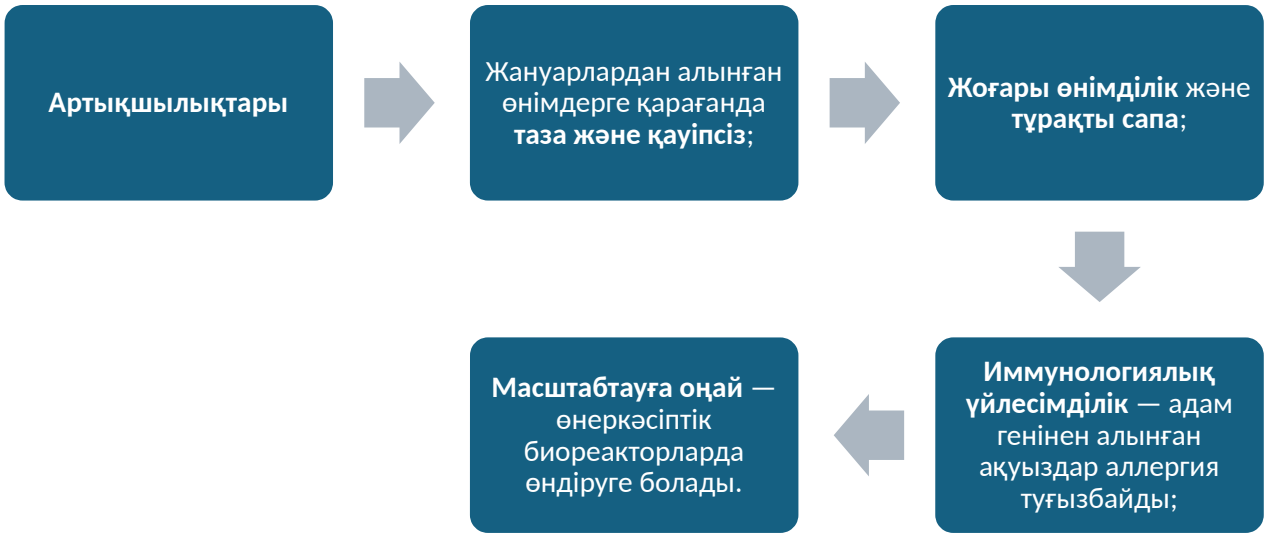
1. Табиғи киллер-жасушалар ісікке қарсы иммундық жауапты күшейтеді.

5.Жасушалық вакциналар және дендриттік жасушалар терапиясы

1. Иммундық жүйені қатерлі ісікке қарсы белсендіру үшін қолданылады.
2. Мысалы: *Provenge* – простата обырына қарсы жасушалық вакцина.

Қолданылу салалары

- **Медицинада:** дәрілер, вакциналар, генотерапия.
- **Ауыл шаруашылығында:** өнімділік пен төзімділікті арттыру.
- **Экологияда:** қалдықтарды биологиялық өңдеу, таза технологиялар.
- **Тамақ өндірісінде:** ашытқы, ферменттер, тағамдық қоспалар.



Қорытынды

Қазіргі биотехнология — XXI ғасыр ғылымының стратегиялық бағыты. Ол медицина, экология және ауыл шаруашылығында түбегейлі өзгерістер енгізіп, адам өмірін жақсартуға бағытталған. Геномды өңдеу, жасушалық инженерия және биоинформатика сияқты салалар болашақтағы инновациялық серпілістердің негізін қалайды.

Гендік және жасушалық терапия — медицинадағы ең серпінді бағыттар. Олар бұрын емделмейтін ауруларды (мысалы, SMA, кейбір онкологиялық және тұқым қуалайтын аурулар) емдеуге мүмкіндік береді. Бұл технологиялар медицинада жеке, дәл және ұзақ мерзімді емнің жаңа дәуірін ашты.

Бақылау сұрақтары

Биотехнологияның негізгі бағыттары қандай?

Гендік инженерлік биопрепараттарды алу жолдары, мысалдар келтіру;

Гендік инженерлік биопрепараттарды қолдану аясы, мысалдар келтіру;

Гендік инженерлік биопрепараттардың артықшылықтары

Жасушалық терапияға арналған препараттар түрлері қандай?

Оқу әдебиеттері:

- 1. Биологическая безопасность. Современные методические подходы к оценке качества пищевой, фармакологической и сельскохозяйственной продукции С.Е. Дромашко и др.; ред. А.В. Кильчевский; - Минск: Беларуская навука, 2017. - 219 с.
- 2. Энциклопедия ГМО: мифы и правда / Дж. Фейган, М. Антонио, К. Робинсон ; перевод с английского Н. Струбцовой, научный редактор О. О. Синицына ; Общественная ассоциация генетической безопасности. - Москва : Издательство М. Б. Смолина (ФИВ), 2020. - 359 с.
- 3. Ермоленков В.В. Органическое сельское хозяйство: устойчивая перспектива. - Минск: Донарит, 2013. - 104 с.
- 4. Кочурко В.И., Абарова Е.Э., Зуев В.Н., Основы органического земледелия. Практическое пособие 2013. - Минск: Донарит, 2013. - 176с.
- 5. Ферменты в пищевой промышленности [Текст] / под ред.: Р. Дж. Уайтхерста, М. ван Оорта; пер. с англ. 2-го изд. д-ра хим. наук С. В. Макарова. - Санкт-Петербург : Профессия, 2014. -404с.

НАЗАРЛАРЫҢЫЗҒА РАХМЕТ!