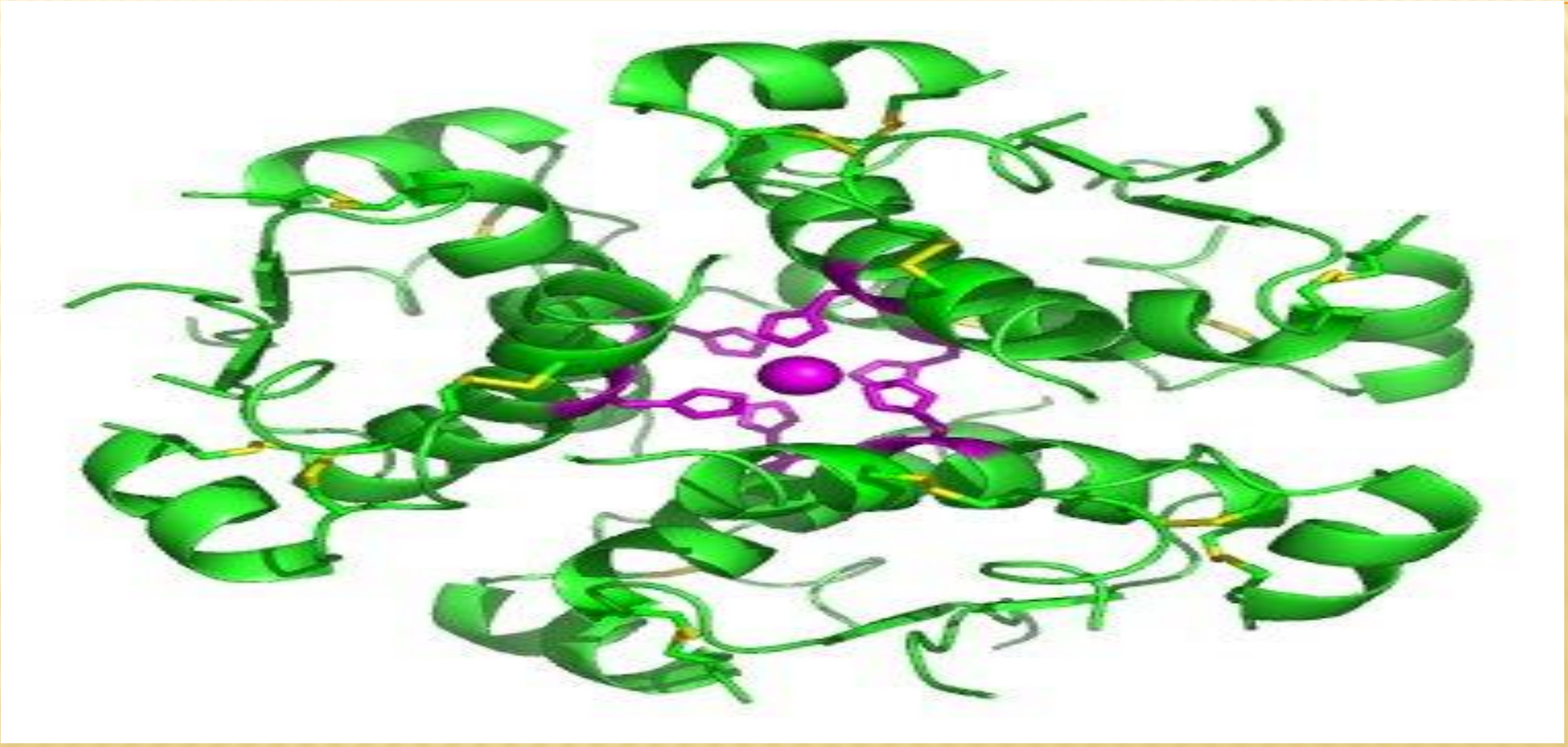
ДЕНСАУЛЫҚ ПРАКТИКАСЫ ҮШІН ИНСУЛИН АЛУДЫҢ ТӘСІЛІ

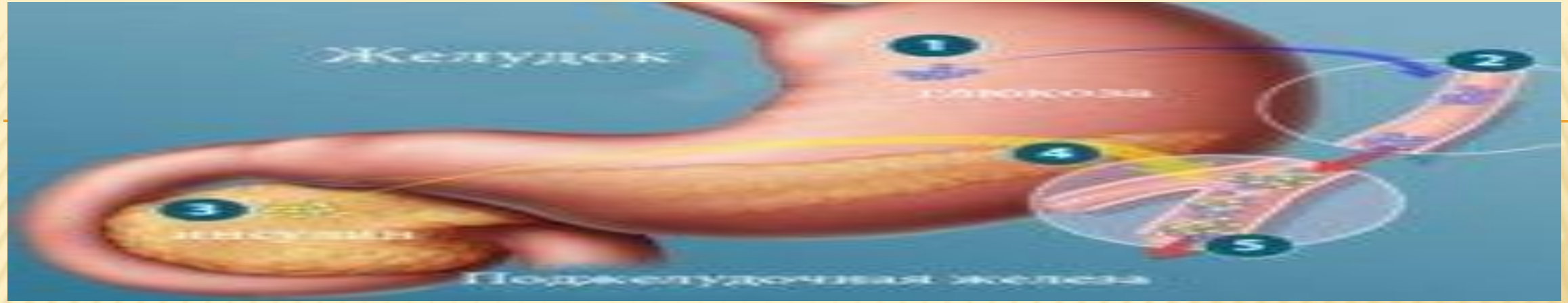
Орындаған: Игілікова Г.Ж. БТ-31

ИНСУЛИН

- Инсулин (лат. insulinum insula — арал) — эндокринді эпителиоциттерден құралған ұйқы безі аралшықтарының бета-жасушалары (В- инсулоциттері) бөліп, қанға шығаратын гормон. В- инсулоциттер ұйқы безі аралшықтарының орталықтарында орналасады. Олардың цитоплазмасында инсулин гормонын түзуге маманданған, безді жасушаларға тән барлық органеллалар жақсы жетілген. Бета—безді жасушалар цитоплазмасындағы түзілген инсулин дәншелері суда ерімейді, спиртте ериді. Инсулин — қандағы глюкозаның мөлшерін азайтып, оны адам мен жануарлар бауыры мен бұлшықеттерінде қорланатын күрделі көмірсу — гликогенге айналдырады.

АЛТЫ МОЛЕКУЛДЫҚ ИНСУЛИННІҢ КОМПЬЮТЕРЛІК КӨРСЕТКІШІ





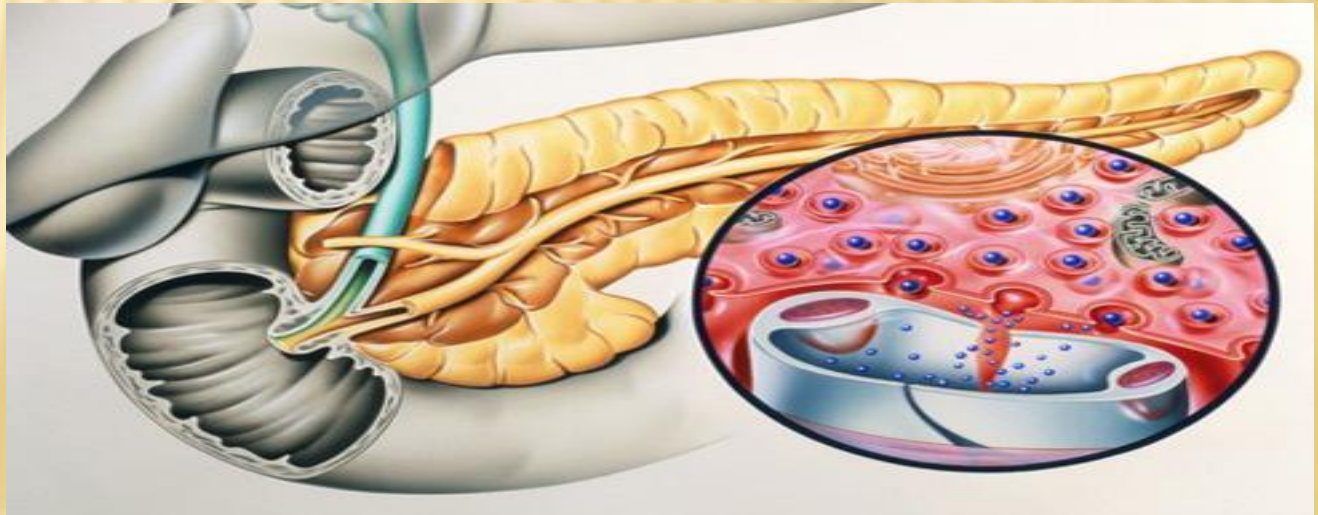
- 1869 жылы берлинде 22 жасар медик студенті П. Лангерганс микроскоппен ұйқы безі құрылысын зерттеуде бұрын соң белгілі болмаған топтар құрып орналасқан клеткаларды көреді, олар бүкіл бездің бойында бір келкі таралған. Кейін оларды «Лангерганс аралықтары» деп атаған. 1901 жылы ұйқы безінде осындай «аралықтар» зақымдануынан қант диабеті дамуы жүретіні айтылды.
- XX ғасырдың 20-шы жылдар басында қант диабетімен ауыратын жас адамдарда, яғни инсулинді қажет ететіндерде ұзақ өмір сұруге ұміттері жоқ еді. 1921 жылдың күзінде Торонто қаласында (Канада) Ф. Бантинг және Ч. Бест дәрігерлері бұзаулардың ұйқы безінен алынған белгілі заты иттерде экспериментальды диабетінде қанның қант деңгейін төмендеткен. 1922 жылдың 11 қантарында иттерге көптеген нәтижелі сынақтарынан кейін диабетпен сырқаттанатын 14 жасар ер баласына инсулиннің бірінші тарихи инъекциясы енгізілді. Келешекте олар Нобель сыйлығын алды, ал Бантингтің туған күнін Халықаралық диабет күні (14 қараша) деп аталып өтедіИнсулинді ұйқы безінің Лангерганс клеткалары синтездейді, гормон организмде көмірсу алмасуын реттейді, клеткалар глюкозаны сіңіруін қамтамасыз етеді, оның жеткіліксіздігі қант диабетіне әкеледі. Ф. Сенгер алғаш рет инсулиннің біріншілікті құрылысын немесе молекуласында амин қышқылдардың нақты жүйелі қатарын ұсынған. Кейін Д. Ходжкин рентгендік дифракция әдісі көмегімен инсулиннің кеңістіктегі молекула құрылымын тапты (екіншілік-төрттік құрылысы).

ИНСУЛИН, БӨЛІП АЛУ ТЕХНОЛОГИЯСЫ

- Инсулиннің бірінші препараттары жануарлар текті болды. 1922 жылдан бастап диабет емдеуіне шошқаның және бұқаның инсулині қолданылды. Технологиясы ұйқы безден инсулин-нәруызды экстракциялауына негізделген болатын (ұйқы бездің 800-1000 кг-нан 100 грамм кристалды инсулин алынатын).

ҰЙҚЫ БЕЗДЕ ИНСУЛИН СИНТЕЗІ КЕЛЕСІ ЖОЛМЕН ӨТЕДІ

- Лангерганс клеткаларының рибосома ЭПР преинсулин деген бастауыш пептиді синтезделінеді. Ол 110 амин қышқылды қалдықтардан құралған полипептидті тізбегі және бір ізділікпен орналасқан: Сп-пептид, А-пептид, С-пептид және В-пептид. ЭПР синтезінен кейін бірден осы молекуладан сигнальды (Сп) пептиді – 24 амин қышқылды қатары ажыратылады, ЭПР гидрофобты липидті мембранадан синтезделген молекула өтуіне қажет. Гольджи комплексіне тасымалданатын проинсулин пайда болады, онда жартылай протеолиз жүреді – проинсулин молекуласынан А және В тізбегін қосатын 31 амин қышқылды фрагменті – С-пептидін арнайы эндопептидаза көмегімен кесіліп алынады. Секреторлы гранулаларда инсулин цинк иондарымен қосылып кристалды гексамерлі агрегат түзеді. 51 амин қышқылды қалдықтары бар осындай нәруыз дисульфидті көпірмен байланысқан екі А және В полипептидті тізбектерден құралған.



- Ірі қара малдың инсулині адамдікінен үш амин қышқылды қатармен ажыратылады, шошқанікі – біреу, сондықтан науқас организмінде осындай пептидтерге қарсы антиденелер түзілуі мүмкін.
- Қазіргі уақытта гендік-инженерлік технологиясы, бактериялардың (E. coli), ашытқылардың (Saccharomyces cerevisiae) және т.б. рекомбинантты штамдар көмегімен алынған адамның инсулин препараттары қолданылады.
- Алғашында А және В тізбектердің синтезі, E.coli рекомбинантты штамдардың бір клеткасында сигналды және дәнекерлік пептидтер синтезі технологиясы өнделді (сур.30). Сонымен қатар, адам инсулині генін клондау және экспрессиялау барысында прокариоттарда препроинсулин түзілді (бактериялық клеткаларда процессингі жоқ), ал олардың активтілігі болмайды. Әрі қарай препроинсулиннен көп сатыларда қажетті ферментпен өндеп инсулин алуға болады, бірақ бұл өте күрделі және қаражатты биохимиялық процесс болып келеді.
- Осы себептен E.coli клеткасынан гендік-инженерлік инсулин алу технологиясы мүлдем өзгертілді. Алдымен химиялық жолмен А-тізбекті және В-тізбекті кодтайтын кДНҚ – екі нуклеотидті қатарлар бөлек синтезделінеді. Әрі қарай оларды бөлек екі векторлы плазмидаға енгізеді, соңғылары екі әртүрлі E. coli штамдарын трансформациялайды. Осындай кДНҚ фрагменттерде сигнальды (Сп) және дәнекерлік (С) пептидтерді кодтайтын нуклеотидті қатары жоқ. Гендік модификацияланған E. coli бөлек дақылдандырады, кейін дақылдық ортадан инсулиннің рекомбинантты нәруыздарын - А және В тізбектерін бөліп алады, оларды химиялық реакцияда дисульфидті байланыспен біріктіреді, таза биологиялық активтілігі жоғары инсулин алынады.

ASM-800 ДНҚ СИНТЕЗАТОРЫ

- Инсулиннің А және В тізбегін кодтайтын ДНҚ қысқа фрагменттерін, бір тізбекті олигонуклеотидтерді ДНҚ-синтезаторы көмегімен химиялық синтезде алуға болады (сур. 31). Бұл препарат клапандар мен насостар жүйесінен құралған, нақты белгілі бағдарлама бойынша реакциялық қоспаға нуклеотидтер мен реагенттерді енгізеді, нәтижесінде өсіп бара жатқан нуклеотидтер тізбегіне қажетті мономерлі бірліктерді қосуын қамтамасыз етеді. Биологиялыққа қарағанда ДНҚ-ның химиялық синтезі барысында тізбектің 5-штрих гидроксильді соңына әрбір жаңа нуклеотидті біріктіруге (қосуға) болады. Осындай барлық реакциялар компьютерлік бағдарламалармен жабдықталған бір реакциялық колонкада бір ізділікпен өтеді.

РЕКОМБИНАНТТЫ ИНСУЛИН АЛУ ТЕХНОЛОГИЯСЫ КЕЛЕСІ САТЫЛАРДАН ӨТЕДІ:

- - А және В тізбектерді кодтайтын ДНҚ-ның химиялық синтезі;
- - осындай нуклеотидтер қатары E.coli-діңбета-галактозидаза ферментінің жарты молекуласын кодтайтын lacZ геніне ендіріледі, lacZ ген pBR322 плазмида құрамында кездеседі;
- - әр бір lacZ геномы және А (немесе В) тізбегі бар плазмиданы E. coli бөлек штамдарына ендіреді;
- - өндіруші штамдарды екі бөлек биореакторларда дақылдандырады – трансформацияланған E. coli ковалентті байланысқан рекомбинантты нәруыздар молекуласын (А немесе В-тізбектері) түзетін химерлі нәруыздар мен эшерихийлердің өзіндік нәруыздары;
- - бөліп алынған химерлі нәруыздарды метионин қалдығы бойынша нәруыздарды ажырататын бромцианмен өндейді. Әрі қарай А және В тізбектері бета-галактозидаза фермент нәруызынан ажыратылады да тазартылады;
- - тазартылған А және В тізбектерін дисульфидті байланыспен қосады, инсулиннің екі тізбекті биологиялық активті мономері алынады.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР:

- Мұхаметжанов, К.М.,Биғалиев, А.Б. Молекулалық биология мен генетикалық инженерия: Оқу құралы, 1991-89 б.
- Б.Бұралхиев Жануарлар биотехнологиясы: Алматы-2009-64 б.
- http://lektsii.com/
- www.google.kz