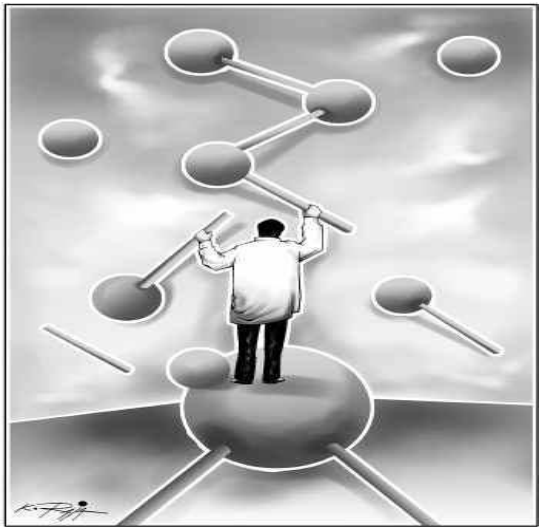
ნინო აბულაძე
თამარ კილაძე

ფარმაცევტული ბიოტექნოლოგია

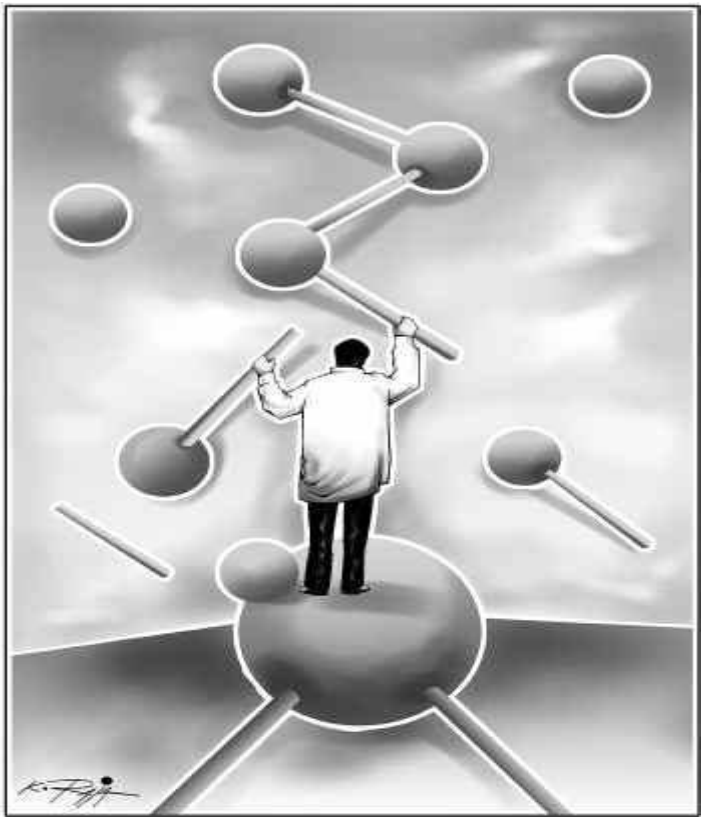


Pharmaceutical biotechnology

Workbook

ნინო აბულაძე, თამარ კილაძე

ფარმაცევტული ბიოტექნოლოგია



Pharmaceutical biotechnology

Workbook

ნინო აბულაძე, თამარ კილაძე

ფარმაცევტული ბიოტექნოლოგია

ლექციების კურსი, ტერმინოლოგიური ლექსიკონი და ტესტები
ფარმაციის სპეციალობის ბაკალავრიატისა
და მაგისტრატურისათვის,
ფარმაცევტ-სპეციალისტებისათვის

Pharmaceutical biotechnology

workbook

ქუთაისი
2010

რედაქტორი: ფარმაციის დოქტორი, აკაკი წერეთლის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ასოცირებული პროფესორი – **ქეთევან გაბუნია**

რეცენზენტები:
ფარმაცევტულ მეცნიერებათა დოქტორი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის სოციალური და კლინიკური ფარმაციის დეპარტამენტის ხელმძღვანელი, პროფესორი – **ვაჟა ერიაშვილი**

ბიოლოგიის დოქტორი, აკაკი წერეთლის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ასოცირებული პროფესორი – **მანონი გაბელაშვილი**

ბიოტექნოლოგიის განვითარება განსაზღვრა დროით მოტანილმა პრობლემებმა: საყოველთაო ურბანიზაციამ, პლანეტის მოსახლეობის არაპროგნოზირებადმა ზრდამ, სურსათის, წამლისა და სხვა სასიცოცხლოდ აუცილებელი პროდუქტებისადმი მოთხოვნილების გადიდებამ. ბიოტექნოლოგიის მიღწევები სწრაფად და სრულყოფილად მედიცინაში ინერგება, რადგან ყოველი სიახლე გზას ლაბორატორიიდან მედიცინაში გამოყენებამდე იკვლევს უფრო სწრაფად, ვიდრე სხვა დარგებში.

მსოფლიოს მეცნიერთა აზრით, XXI საუკუნე ბიოტექნოლოგიის საუკუნე იქნება.

სამკურნალო საშუალებათა წარმოების სფეროში ბიოტექნოლოგია თანდათან განდევნის ტრადიციულ ტექნოლოგიებს, ფართოდ უხსნის გზას პრინციპულად ახალ შესაძლებლობებს. ბიოტექნოლოგიური ხერხით მზადდება გენური ინჟინერიის მეთოდით მიღებული ცილები (ინტერფერონები, ინტერლეიკინები, ინსულინი, ჰეპატიტის საწინააღმდეგო ვაქცინები და ა. შ.), აგრეთვე ფერმენტები, სადიაგნოსტიკო საშუალებები (ტესტ-სისტემები ნარკოტიკების ამოცნობისათვის, სამკურნალო ნივთიერებები, ჰორმონები და ა. შ.), ვიტამინები, ანტიბიოტიკები, ბიოდეგრადირებადი პლასტმასები, ბიოთავსებადი მასალები.

წინამდებარე სახელმძღვანელოში მოყვანილია ფარმაცევტული პროდუქტების შექმნის პრინციპები და მათი წარმოების ტექნოლოგიური სქემები. იგი განკუთვნილია უმაღლესი ფარმაცევტული განათლების ფაკულტეტებისა და სპეციალობებისათვის, აგრეთვე ფარმაცევტ-სპეციალისტებისათვის.

ISBN **978-9941-432-34-7**

UDC 615.1:574(075)
ქუთაისი 2010

აკაკი წერეთლის სახელმწიფო უნივერსიტეტის გამომცემლობა

ქუთაისი, 4600, თამარ მეფის 59. ტელ.: 24 00 21

E-mail:atsugamomcemloba@gmail.com

ს ა რ ჩ ე ვ ი

შესავალი ----------

თავი 1. ბიოტექნოლოგიის არსი და ამოცანები. ბიოტექნოლოგიაში გამოყენებული ძირითადი ცნებები და ტერმინები---------- --

თავი 2. ბიოტექნოლოგიაზე დაფუძნებული მზა სამკურნალწამლო საშუალებების ბიოფარმაცევტული საკითხები----------

თავი 3. გენმოდიფიცირებისათვის გამოყენებული ცოცხალი უჯრედები----------

თავი 4. ნუკლეინის მჟავები და ცილის სინთეზი----------

თავი 5. მოლეკულური კლონირება----------

თავი 6. ბიოტექნოლოგიური პროდუქტების სამრეწველო წარმოება----------

თავი 7. მზა სამკურნალწამლო საშუალებები----------

თავი 8. ანტიბიოტიკები----------

თავი 9. ფერმენტები და იმობილიზებული ფერმენტები----------

თავი 10. . ნორმოფლორის პრეპარატები ----------

თავი 11. მცენარეული წარმოშობის ბიოპრეპარატები----------

თავი 12. ტოქსიკური ნაერთების ბიოდეგრადაცია და ბიომასის უტილიზაცია----------

შეამოწმეთ თქვენი ცოდნა----------

ტესტები ფინალური ტესტირებისათვის----------

ბიოტექნოლოგიაში გამოყენებული ძირითადი ცნებები და ტერმინები----------

გამოყენებული ლიტერატურა

შ ე ს ა ვ ა ლ ი

ბიოტექნოლოგიის უახლესი მიღწევები განსაკუთრებით სწრაფად და სრულყოფილად მედიცინაში ინერგება. ნებისმიერი სიახლე გზას ლაბორატორიიდან სამედიცინო პრაქტიკაში გამოყენებამდე, ძალიან სწრაფად იკვლევს.

თანამედროვე შეხედულების თანახმად, სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის დიაპაზონი ძალიან ფართოა. საქართველოში ამ დარგის განვითარება სხვადასხვა გზებით შეიძლება წარიმართოს, მაგრამ ყველაზე მართებული იქნებოდა მუშაობის დაწყება იმ დარგებით, რომელთაც ფართო გამოყენება, ტრადიციები და შესაბამისი სამეცნიერო პოტენციალი აქვთ. საქართველოში ბიოტექნოლოგიური კვლევები ტარდება მეცნიერებათა აკადემიის დაწესებულებებში - ბ. ელიავას სახელობის ბაქტერიოფაგის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის, სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის, მორფოლოგიის, მოლეკულური ბიოლოგიისა და ბიოფიზიკის, ი. ქუთათელაძის ფარმაკოქიმიის, ს. დურმიშიძის სახ. მცენარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტებსა და სხვ.. ბიოუსაფრთხოების ფარგლებში კიდევ უფრო მეტი ყურადღება ექცევა ბაქტერიოფაგის კვლევით ინსტიტუტს. სულ ახლახან აქ ახალი საწარმო გაიხსნა, საწარმოში დამზადებული პროდუქცია სადიაგნოსტიკო ცენტრებს, ინსტიტუტებსა და კვლევით ლაბორატორიებს მოემსახურება

ამჟამად დიდ ინტერესს დიაგნოსტიკუმები, ფერმენტები, ამინომჟავები, ვიტამინები და ბიოტექნოლოგიური წარმოების სხვა პროდუქტები წარმოადგენენ.

წინამდებარე ნაშრომის მიზანია შეძლებისდაგვარად გააშუქოს ფარმაცევტული ბიოტექნოლოგიის ზოგადი და კერძო საკითხები.

ბიოტექნოლოგია სხვადასხვა საბაზო განათლების მქონე მრავალი სპეციალისტის ინტერესს წარმოადგენს. როგორც სამეცნიერო დისციპლინა და პრაქტიკული საქმიანობის სფერო, ბიოტექნოლოგია ჩამოყალიბდა ანტიბიოტიკების გამოჩენის დროიდან. ასე მაგალითად: მე-20 საუკუნის 50-იან წლებში დამუშავდა და ათვისებული იქნა საკვები ნიადაგების წარმოება, 60-იანი წლებიდან - ვაქცინებისა, ხოლო 70-იანი წლებიდან კონსტრუირებული და დანერგილი იქნა ტიპიური ტექნოლოგიური პროცესის ახალი სახეობები და აღჭურვილობები მათი წარმოებისათვის. უმრავლეს მეცნიერთა განმარტებით XXI საუკუნე ბიოტექნოლოგიის საუკუნე იქნება. ამას განაპირობებს მოლეკულური ბიოლოგიისა და გენეტიკის მძაფრი განვითარება, იმ ახალი ტექნოლოგიებისადმი მწვავე მოთხოვნილება, რომლებიც მიმართულია ჯანმრთელობის განმტკიცების, გარემოს დაცვისაკენ, საკვებისა და მინერალური რესურსების უკმარისობის ლიკვიდაციისაკენ.

ბიოტექნოლოგია არის ტექნოლოგიური პროცესები ბიოტექნოლოგიური სისტემების - ცოცხალი ორგანიზმებისა და ცოცხალი უჯრედის კომპონენტების გამოყენებით. სისტემები შეიძლება სხვადასხვანაირი იყოს: მიკრობებიდან და ბაქტერიებიდან დაწყებული, ფერმენტებითა და გენებით დამთავრებული. ბიოტექნოლოგია ესაა წარმოება, რომელიც დაფუძნებულია თანამედროვე მეცნიერებების - გენეტიკური ინჟინერიის, ფერმენტების ფიზიკური ქიმიის, მოლეკულური დიაგნოსტიკისა და მოლეკულური ბიოლოგიის, სელექციური გენეტიკის, მიკრობიოლოგიის, ბიოქიმიის, ანტიბიოტიკების ქიმიის მიღწევებზე.

სამკურნალწამლო საშუალებების წარმოებაში ბიოტექნოლოგია ენაცვლება და აძევებს ტრადიციულ ტექნოლოგიებს, აღმოაჩენს და გზას უხსნის პრინციპულად ახალ შესაძლებლობებს.

ამ ბოლო ხანებში მედიცინაში ფართოდ გამოიყენება ლიპოსომები. ეს ხელოვნურად მიღებული ჩაკეტილი სფერული ნაწილაკებია, რომლებიც შედგება ბიომოლეკულური ლიპიდური ფენებისაგან, უფრო ხშირად ფოსფოლიპიდებისაგან, რომელთა სივრცეშიც არის ფორმირების სფერო.

მშრალი ფოსფოლიპიდები წყალთან კონტაქტისას განიცდიან რიგ მოლეკულურ გადაჯგუფებებს, რის შედეგადაც წარმოიქმნება სმექტიკური მეტოფაზები - თანამიმდევრობა კონცენტრულად ჩაკეტილი მემბრანებისა, რომელთაგან თითოეული წარმოადგენს უწყვეტ ბიომოლეკულურ ლიპიდურ ფენას და გამოყოფილია მეორე ფენისაგან წყლიანი ფაზით.

ამჟამად ლიპოსომები ლაბორატორიული კვლევის საგნიდან პრაქტიკული გამოყენების პერსპექტიულ ობიექტად გადაიქცა. თანამედროვე პირობებში შეიძლება სტაბილური, ზომებით სტანდარტული და სტერილური ლიპოსომების მიღება, რომლებიც გადაიქცევა ფხვნილად (ლიოფილიზაციის გზით) და, აუცილებლობის შემთხვევაში, დაუბრუნდება საწყის მდგომარეობას.

შესაძლებელია აგრეთვე, ცარიელი ლიპოსომების მიღება და უშუალოდ გამოყენების წინ მათი სამკურნალწამლო ნივთიერებით შევსება.

შემუშავებულია მეთოდები, რომელიც საშუალებას იძლევა გაკონტროლდეს ლიპოსომების ზომები და მიღებული იქნეს სტერილური ლიპოსომალური პრეპარატების სტანდარტული პარტიები.

ლიპოსომები იყოფა: მულტილამელური 500-600 ნმ დიამეტრით; მონოლამელური 200-1000 ნმ დიამეტრით; მცირე მონოლამელური -23-50 ნმ დიამეტრით; ფოსფოლიპიდების ორგანულ ხსნარში, წყლიანი ფაზის დისპერჰირებით მიღებული ლიპოსომებისაგან - ორგანული გამხსნელის აორთქლებისას მიიღება მონო- და ოლინოლამელარული ლიპოსომები.

ულტრაბგერებით დამუშავებისას, მსხვილი ნაწილაკები იშლება წვრილ ნაწილაკებად, უპრატესად ორფენოვნად. გაჯირჯვების პროცესში წყალში ხსნადი მოქმედი ნივთიერებები გროვდება ორ ფენას შორის, ხოლო ცხიმში ხსნადი ნივთიერებები ლოკალიზდება ლიპოსომების ლიპიდურ ფენაში. შეიძლება ერთფენოვანი ლიპოსომების მიღებაც მრავალფენიან ლიპოსომებზე ულტრაბგერითი ზემოქმედებით.

ამგვარად, გამოყენებული ტექნოლოგიური ხერხების მიხედვით, შესაძლებელია მრავალფენიანი და ერთფენიანი ლიპოსომების მიღება. ამასთან, ორგანიზმში სამკურნალწამლო ფორმების მიწოდების მექანიზმი სხვადასხვაა. მაგ., მრავალფენიანი ლიპოსომები უჯრედის შიგნით უცვლელი სახით აღწევენ და შთანთქმებიან ლიზოსომების მიერ, რომლებშიც ლიპაზას ზემოქმედების შედეგად ხდება ლიპოსომების დაშლა და მათში ინკაფსულირებული სამკურნალწამლო ნივთიერებების გამოთავისუფლება. ერთფენიანი ლიპოსომები უერთდება უჯრედის პლაზმატურ მემბრანებს და ციტოპლაზმაში გამოათავისუფლებენ სამკურნალწამლო ნივთიერებებს.

ლიპოსომები ინარჩუნებენ ინკაფსულირებული სამკურნალწამლო ნივთიერების ინტაქტურობას და იცავენ მათ პლაზმის ცილებთან შეერთების, ფერმენტებად დაშლისაგან და ამცირებენ იმუნური და ორგანიზმის სხვა სისტემური რეაქციების აღძვრას ლიპოსომებით შეყვანილ ნივთიერებებზე, რადგან ისინი არ აღწევენ ლიპოსომების გარეთა ლიპიდური ფენიდან სისხლში. ამასთან ლიპოსომებში არსებული სამკურნალწამლო ნივთიერების მოქმედება მნიშვნელოვნად ხანგრძლივდება მათი ნელი გამოთავისუფლების გამო. ორგანიზმში ლიპოსომების შეყვანის სხვადასხვა გზა არსებობს: ვენაში, მუცლის ღრუში, კანქვეშა, პერორალური, ტრაქეით, სახსარშიგა, კანზე.

ლიპოსომები მოსახერხებელი სისტემაა სამკურნალწამლო ნივთიერების მისატანად ღვიძლის, ელენთის, კანისა და ფილტვების მაკროფაგებთან. ამასთან დაკავშირებით ლიპოსომალური პრეპარატების გამოყენების ფართო პერსპექტივები იშლება მრავალი ინფექციური დაავადების მკურნალობაში, ასევე ავთვისებიანი სიმსივნეების მკურნალობაში, მაკროფაგების აქტივაციის მიზნით. ლიპოსომები, რომლებიც ვენაშია შეყვანილი, უკავშირდება რეტიკულო-ენდოთელიალური სისტემის ორგანოებს, უმთავრესად ღვიძლსა და ელენთას.

განსაკუთრებული როლი ეკუთვნის სოფლის მეურნეობის ბიოტექნოლოგიას. ესაა ტრანსგენური მცენარეების შექმნა და კულტივირება, მცენარეთა დაცვის საშუალებების მიკრობიოლოგიური სინთეზი, საკვების წარმოება, მათ შორის ფერმენტების გამოყენებით. ზოგიერთი ქვეყნებისათვის, მაგალითად რუსეთისათვის, აქტუალურია ისეთი მიმართულებები, როგორიცაა, ბიოსისტემების გამოყენება სასარგებლო წიაღისეულის მოსაპოვებლად (რესურსული ბიოტექნოლოგია), სამრეწველო და საყოფაცხოვრებო ნარჩენების ბიოტექნოლოგიური უტილიზაცია, ჩამდინარე წყლების გაწმენდა და ჰაერის გაუვნებელყოფა ბაქტერიული შტამების გამოყენებით. ცოცხალი ორგანიზმების კლონირება შეიძლება ძალიან მალე გასცდეს სამეცნიერო კვლევების ფარგლებს და გადაიქცეს პრაქტიკული საქმიანობის მიმართულებად.

ბიოტექნოლოგია ერთ-ერთი ყველაზე დიდი მეცნიერული ძალისხმევის, პერსპექტივებისა და ეკონომიკური თვალსაზრისით, წარმოების მაღალრენტაბელური დარგია. ბიოტექნოლოგიაში კომერციული სამუშაოების დიდი წილი მოდის აშშ-ზე, სადაც 1500-ზე მეტი ბიოტექნოლოგიური კომპანია მოქმედებს (მთელს მსოფლიოში მათი რიცხვი 3000-ზე მეტია). ნათელია თანამედროვე ბიოლოგიასა და ბიოტექნოლოგიაში აშშ-ის უპირატესობა. ფუნდამენტური ბიოლოგიური კვლევების სფეროში ამერიკული მეცნიერების მიღწევები მსოფლიო მიღწევების 80%-ს შეადგენს. ბიოტექნოლოგიის განვითარებაში მნიშვნელოვანი წვლილი შეიტანეს მსხვილმა ქიმიურმა და ფარმაცევტულმა კომპანიებმა: Monsanto, Du Pont, American Cyanamid, Ely Lilly, Merck, Novartis, Hoffman-La- Roche, Genentech და სხვებმა.

სხვა ქვეყნებში, სადაც საინვესტიციო კლიმატი ისე კარგი არ არის და ბიზნესიც ნაკლებაქტიურია, ბიოტექნოლოგიური საწარმოების შექმნაში მთავარ როლს თამაშობენ მსხვილი კორპორაციები და სახელმწიფო. ასე მაგალითად: იაპონიის მთავრობამ ბიოტექნოლოგია ეროვნულ პრიორიტეტად

გამოაცხადა. საკმაოდ მაღალი ტემპით ვითარდება ევროპული ბიოტექნოლოგიური ინდუსტრია, სადაც 600-ზე მეტი ბიოტექნოლოგიური კომპანიაა.

ამჟამინდელ ახალ დამოუკიდებელ სახელმწიფოებში, როგორიცაა რუსეთი, უკრაინა, ბელორუსია, შუა აზიის, ამიერკავკასიისა და ბალტიისპირეთის ქვეყნები, კომუნისტური მმართველობის დროს ბიოტექნოლოგიისა და გენეტიკის განვითარებას წინააღმდეგობას უწევდნენ სახელმწიფო დონეზე, მაგრამ ნელი ტემპით ისინი მაინც ვითარდებოდნენ; თუმცა ძალიან გაუჭირდათ საბაზრო ეკონომიკაზე გადასვლის გამო, რადგან ბიოტექნოლოგიური მეცნიერება და პრაქტიკა დიდ ფინანსურ დანახარჯებს მოითხოვს; შესაბამისად, თუ არ იქნა სახელმწიფო ზრუნვა, არ განვითარდება მეცნიერებისა და პრაქტიკის ეს დარგი. ერთი რამ უდავოა, ესაა ბიოტექნოლოგიის უნიკალური შესაძლებლობები მედიცინის, კერძოდ კი სამკურნალწამლო პრეპარატების შექმნის საქმეში.

საქართველოში 1923 წელს დაარსდა ბაქტერიოფაგის, მიკრობიოლოგიისა დ ვირუსოლოგიის ინსტიტუტი. აქ დამუშავებულია ბაქტერიოფაგების მიღებისა და გამოყენების მეთოდები, შექმნილია 30-ზე მეტი პრეპარატი და ათვისებულია მათი წარმოება, კერძოდ: ციმბირის წყლულის ვაქცინის მიღების ტექნოლოგია, ციმბირის წყლულის საწინააღმდეგო და ანტისტაფილოკოკური გლობულინები, ციმბირის წყლულის, ანტისტაფილოკოკური ბაქტერიული და ანტიტოქსიკური, ექინოკოკის ანტიგენური ერითროციტული დიაგნოსტიკუმები; ამ ბიოტექნოლოგიური საშუალებების წამლის ფორმებია - სითხოვანი, მკვრივი, აეროზოლური, რბილი (მალამოები, სუპოზიტორიები). სულ დამუშავებულია 20-მდე პრეპარატი, სადიაგნოსტიკო ბაქტერიოფაგი, ვაქცინები, ანატოქსინები, სააგლუტინაციო შრატი და დიაგნოსტიკუმი, სამკურნალო შრატი და სხვა საშუალება.

მიმდინარეობს კვლევები და შექმნილია პრეპარატები სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტში: პლაცენტური ინტერფერონი, პლაფერონი, იმუნოლაქტონი, როტავირუსების სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემა, იმუნოლაქტონი, რეაგინ-დამოკიდებული ალერგიების სპეციფიკური თერაპიის - ჰაპტენსპეციფიკური იმუნოთერაპია. ქართველ მკვლევართა და მეცნიერთა თაობები მუშაობენ საქართველოში ბიოტექნოლოგიური მეცნიერებისა და პრაქტიკის განვითარებისათვის: პროფ. ვ. ბახუტაშვილი, გ. გურგენიძე, ნ. ტატიშვილი და სხვები.

თავი 1. ბიოტექნოლოგიის არსი და ამოცანები. ბიოტექნოლოგიაში გამოყენებული ძირითადი ცნებები და ტერმინები

თანამედროვე ბიოტექნოლოგიური წარმოება ბიოფიზიკური, ბიოქიმიური და ფიზიკო-ქიმიური ურთიერთდაკავშირებული პროცესების რთული კომპლექსია; ბიოტექნოლოგიური წარმოების პროცესებში წარმოება და ბიოლოგია ერთი მთლიანი ორგანიზმია.

ბიოტექნოლოგია არის უჯრედული, ბაქტერიული, ცხოველური და მცენარეული კულტურების გამოყენება, რომელთა მეტაბოლიზმი და ბიოლოგიური შესაძლებლობები საშუალებას იძლევა გამომუშავებული იქნას სპეციფიკური ნივთიერებები. ფარმაცევტულ წარმოებაში ბიოტექნოლოგია მოიცავს ვაქცინების შემუშავებას, ჰორმონების, ფერმენტების, ინტერფერონების, ანტიბიოტიკების, ამინომჟავების, ვიტამინების, ალკალოიდების, პოლისაქარიდებისა და სხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების (ბად) სინთეზს.

ბიოტექნოლოგია, ისტორიულად წარმოიშვა, როცა ლუდის მოსამზადებლად პირველად იქნა გამოყენებული ლუდის საფუარი, ხოლო მაწვნის შესადედებლად - მაწვნის დედა (ბაქტერიები).

1961 წლიდან ბიოტექნოლოგია მჭიდროდაა დაკავშირებული კომერციული პროდუქტების სამრეწველო წარმოების სფეროში ცოცხალი ორგანიზმების, ბიოლოგიური სისტემებისა და პროცესების მონაწილეობით ჩატარებულ კვლევებთან. სწორედ ამ დროიდან ბიოტექნოლოგია ემყარება მიკრობიოლოგიის, ბიოქიმიისა და სამრეწველო ინჟინერიის საფუძველს.

მიკროორგანიზმების მონაწილეობით კომერციული პროდუქციის წარმოების პროცესი სამეტაპიანია:

1. საწყისი გადამუშავება: სამიზნე-მიკროორგანიზმების საკვებად გამოსაყენებელი ნედლეულის გადამუშავება.
2. ფერმენტაცია და ბიოტრანსფორმაცია: მიკროორგანიზმების გამოზრდა დიდ, 100 ლ-ზე მეტი მოცულობის ბიორეაქტორში (ფერმენტაცია) შემდეგში საჭირო მეტაბოლიზმის წარმართვით. ასე მაგალითად: ანტიბიოტიკის, ამინომჟავას ან ცილის მიღებამდე (ბიოტრანსფორმაცია).

3. საბოლოო გადამუშავება: მიზნობრივი პროდუქტის გასუფთავება კულტურალური გარემოს ან უჯრედული მასის კომპონენტებისაგან.

ბიოტექნოლოგიის მიზანია ამ ეტაპების ოპტიმიზაცია. ყველაზე რთული აღმოჩნდა ბიოტრანსფორმაციის ეტაპის ოპტიმიზაცია; გამოსავალი ოპტიმალურზე დაბალი იყო. პრიმიტიულად ითვლება ბაქტერიული კოლონიების გადარჩევა, სკრინინგი, ტესტირების გზა, თუმცა ამანაც მოუტანა მეცნიერებს შედეგი. რეკომბინანტული დნმ-ის ტექნოლოგიის განვითარებამ ბიოტექნოლოგიის შესაძლებლობები მკვეთრად გაზარდა. ამერიკელი მეცნიერების სტენლი კოენისა და ჰერბერტ ბოიერის მიერ 1973 წელს დამუშავებული იქნა მემკვიდრეობის ფუნქციური ერთეულის - გენის ერთი ორგანიზმიდან მეორეზე გადატანის სტრატეგია. აღმოჩნდა, რომ ბიოტრანსფორმაციის ეტაპის ოპტიმიზაციის შესაძლებლებლობა ის კი არაა, რომ გადავარჩიოთ მიკროორგანიზმებისა და ეუკარიოტული უჯრედების მაღალმწარმოებლური შტამები, არამედ შევქმნათ პრინციპულად ახალი და გამოვიყენოთ ისინი ,,ბიოლოგიური ფაბრიკების“ სახით ინსულინის, ინტერფერონების, ინტერლეიკინების, ზრდის ჰორმონების, ვირუსული ანტიგენების და სხვა მრავალი ცილის წარმოებაში.

რეკომბინანტული დნმ-ის ტექნოლოგია საშუალებას იძლევა მივიღოთ ძვირფასი დაბალმოლეკულური ნივთიერებები და მაკრომოლეკულები, რომლებიც ძალიან მცირე რაოდენობით წარმოიშობა ბუნებრივ პირობებში. რეკომბინანტული დნმ-ის ტექნოლოგია ეს არის ეფექტური ტექნოლოგია წინასწარ ჩაფიქრებული გენეტიკური მახასიათებლების მქონე მიკროორგანიზმების შესაქმნელად; ეს ინსტრუმენტი შესაძლებელია გამოვიყენოთ არა მარტო მიკროორგანიზმებთან, არამედ მცენარეებთან და ცხოველებთან მუშაობის დროს.

ბიოტექნოლოგიისა და რეკომბინანტული დნმ-ის ტექნოლოგიის შეპირისპირებით წარმოიშვა მაღალი კონკურენტუნარიანი მოლეკულური ბიოტექნოლოგია. მისი ბიოტექნოლოგიური ნაწილია სამრეწველო მიკრობიოლოგია და ქიმიური ინჟინერია; ხოლო მოლეკულური შემადგენელი ნაწილი - მოლეკულური ბიოლოგია, ბაქტერიების მოლეკულური გენეტიკა, ნუკლეინის მჟავების ენზიმოლოგია.

მოკლედ, ბიოტექნოლოგიის განვითარების ისტორიის შესახებ:

ტერმინი ,,ბიოტექნოლოგია“ 1917 წელს იქნა შემოღებული. 1943 წელს სამრეწველო მასშტაბით იქნა წარმოებული პენიცილინი. 1953 წელს დადგინდა ინსულინის სტრუქტურა და გაიშიფრა დნმ-ის სტრუქტურა, ხოლო 1953-1976 წლებში გაიშიფრა დნმ-ის ფუნქციები მემკვიდრული ინფორმაციის შენახვასა და გადაცემაში, დნმ-ის გენებად ორგანიზაციის თვისება. 1961-1966 წლებში გაიშიფრა გენეტიკური კოდი, რომელიც საერთო აღმოჩნდა ყველა ორგანიზმისათვის. 1963 წელს განხორციელდა წინასწარ განსაზღვრული სტრუქტურის ბიოპოლიმერის სინთეზი. 1970 წელს გამოყვეს პირველი რესტრიქციული ენდონუკლეაზა - განხორციელდა დნმ-ის სინთეზი. 1975 წელს მიიღეს მონოკლონური ანტისხეულები. 1978 წელს ფირმა . Genentech”-მა განახორციელა E. coli -ის საშუალებით ადამიანის ინსულინის მიღება. 1981 წელს მიიღეს ნუკლეინის მჟავების ფრაგმენტები. 1982 წელს ევროპაში ცხოველებზე პირველად იქნა ნებადართული რეკომბინანტული დნმ-ს ბაზაზე მიღებული ვაქცინის გამოყენება. 1983 წელს მცენარეთა ტრანსფორმაციისათვის გამოიყენეს ჰიბრიდული Ti-პლაზმიდები. 1990 წელს ოფიციალურად დაიწყო მუშაობა პროექტზე ,,ადამიანის გენომი“. 1994-1995 წლებში გამოქვეყნდა ადამიანის ქრომოსომების დაწვრილებითი გენეტიკური რუკები. 1996 წელს პირველი რეკომბინანტული ცილის ერითროპოეტინის გაყიდვათა წლიურმა დონემ 1 მილიონ დოლარს გადააჭარბა. 1997 წელს დიფერენცირებული სომატური უჯრედიდან კლონირებული იქნა ძუძუმწოვარი. 2003 წელს გაშიფრული იქნა ადამიანის გენომი, რომელიც შეიცავს დაახლოებით 30 ათას გენს და დნმ-ის მოლეკულების 3 მილიარდ ,,ასოს“.

უკანასკნელ წლებში წარმოიშვა გენეტიკის ახალი დარგი - გენომიკა, რომელიც სწავლობს არა ცალკეულ გენებს, არამედ გენომებს. მოლეკულური ბიოლოგიისა და გენური ინჟინერიის მიღწევებმა საშუალება მისცეს ადამიანს შეესწავლა ვირუსების, ბაქტერიების, საფუვრის სოკოების, მრავალუჯრედოვანი ცხოველების გენეტიკური ტექსტები. პათოგენური ბაქტერიების გენომური სტრუქტურის ცოდნა მნიშვნელოვანია სადიაგნოსტიკო და სხვა სამედიცინო მიზნით გამოსაყენებელი რაციონალური კონსტრუქციის ვაქცინების შესაქმნელად.

10 წლის შეუპოვარი შრომისა და 3 მილიარდი აშშ დოლარის დანახარჯის ფასად 2003 წლის აპრილში ადამიანის გენეტიკური რუკის შედგენაზე მომუშავე საერთაშორისო კონსორციუმმა გამოაქვეყნა ბიოლოგიისა და მედიცინის დარგში სენსაციური ცნობა, რომ მეცნიერებამ შეძლო სრულად გაეშიფრა ადამიანის გენომი. ამ ძიებაში მონაწილეობდა ასობით მეცნიერი სხვადასხვა ქვეყნებიდან: აშშ, დიდი ბრიტანეთი, გერმანია, საფრანგეთი, იაპონია, ჩინეთი. ამასთანავე დამუშავებული იქნა კარტირების

(რუკის შედგენის) ინსტრუმენტები და მაღალეფექტური ტექნოლოგიები; ისეთები, როგორიცაა უჯრედების კოლექცია, რომლებშიც არის თითოეული ქრომოსომის პატარ-პატარა ფრაგმენტები ან ადამიანის ქრომოსომების მსხვილი ფრაგმენტების შემცველი საფუვრის ხელოვნური ქრომოსომები, ბაქტერიული და ფაგური ვექტორები, რომლებიც ადამიანის დნმ-ის ფრაგმენტების გამრავლების (კლონირების) საშუალებას იძლევა. სწრაფად ვითარდებოდა თანამიმდევრულობის, რიგითობის ტექნიკა (секвенирование, sequencinge). მაგ. მრავალარხიანმა კაპილარულმა ელექტროფორეზმა დააჩქარა და გააიაფა დნმ-ის პირველადი სტრუქტურის გაშიფრვა. დნმ-ის გაშიფრულ ნაწილებში გენების მოსაძიებლად შექმნილია კომპიუტერული პროგრამები.

ადამიანის გენომში წაიკითხეს 3 მილიარდი სიმბოლო. ადამიანის გენომის შემადგენელი 30 000 გენიდან მეცნიერებისათვის მხოლოდ მათი მესამედის დანიშნულებაა ცნობილი. ადამიანის გენომის სრულმა გაშიფვრამ (დეკოდირებამ) საშუალება მოგვცა შევბრძოლებოდით ისეთ პრობლემებს, როგორიცაა მემკვიდრული დაავადებები, კიბო, გულ-სისხლძარღვთა დაავადებები, ფსიქიური დაავადებები და სხვა. მემკვიდრულ წინასწარგანწყობას განაპირობებს დაახლოებით 3 000 გენი.

პიროვნების იდენტიფიკაციის გენომურ მეთოდებს დიდი მნიშვნელობა აქვთ. კრიმინალისტიკამ მიიღო დიაგნოსტიკის ძალიან სარწმუნო მეთოდი: გენომური დაქტილოსკოპიისათვის მხოლოდ ერთი წვეთი სისხლი, ერთი ღერი თმა, ფრჩხლის ნაკუწი, ოფლის კვალი, სპერმა, ნერწყვი ან ქერტლიც საკმარისია.

მოლეკულური ბიოტექნოლოგია იყენებს მიკრობიოლოგიის, ბიოქიმიის, გენეტიკის, ქიმიური ინჟინერიის, მოლეკულური ბიოლოგიის მიღწევებს მრავალრიცხოვანი კომერციული პროდუქტის შესაქმნელად; როგორიცაა: სამკურნალწამლო პრეპარატები, ვაქცინები, დიაგნოსტიკის მეთოდები, სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მაღალმოსავლიანობა, სასოფლო-სამეურნეო ცხოველების მაღალპროდუქტიულობა.

ბიოქიმიის, მიკრობიოლოგიის, მოლეკულური ბიოლოგიის, გენეტიკის, ქიმიური ტექნოლოგიის, ელექრონიკის ცოდნა და მეთოდები საშუალებას გვაძლევენ ადამიანის საკეთილდღეოდ გამოვიყენოთ ცოცხალი უჯრედების პოტენციალი. ბიოტექნოლოგიას შესაძლებლობა აქვს ახალი ტექნოლოგიების გამოყენებით საჭირო პროდუქტები აწარმოოს განუსაზღვრელი რაოდენობით; ამ ტექნოლოგიებით მოახერხეს გენების გადატანა მიკრობულ უჯრედ-პროდუცენტებში ან ძუძუმწოვარა ცხოველებში (რომელთაც ეწოდება ტრანსგენური ცხოველები), პეპტიდების სინთეზი, ხელოვნური ვაქცინების შექმნა - ესენია ძირითადი ბიოტექნოლოგიური პროცესები უჯრედის დონეზე ან ცალკეული უჯრედული სტრუქტურის გამოყენებით.

სამრეწველო მასშტაბით განვრცობილ ბიოტექნოლოგიას ეწოდება ბიოინდუსტრია.

უნდა აღინიშნოს, რომ ბიოტექნოლოგიური ტექნოლოგიით დამზადებული პრეპარატების მზა წამლის ფორმების ბიოფარმაცევტული საკითხები მეცნიერთა ინტენსიური შესწავლის საგანია; განსაკუთრებით, მათი ორგანიზმში შეყვანის გზა. ცნობილია, რომ ისინი ძნელად შეიწოვებიან ბიოლოგიურ მემბრანებში და მათი დიდი წილი უმჯობესია შეყვანილი იქნეს პარენტერალურად. თუმცა ყურადღება მიქცეულია სხვადასხვა ჯგუფის ბიოტექნოლოგიური პროდუქტების ნაზალური, პულმონარული, პერორალური, პერკუტანული გზებით მისაღებ მზა წამლის ფორმებზე. შესწავლილია ფილტვით, ცხვირით, პირის გზით, კანის გზით და ა. შ. მიღებული მათი წამლის ფორმების შეწოვა ბიოლოგიურ მებრანებში შეღწევიდან მათი მეტაბოლიზმისა და მთელი ბიოტრანსფორმაციის ციკლის განმავლობაში.

სითხოვანი წამლის ფორმებიდან გამოიყენება ძირითადად ხსნარები, სუსპენზიები; უფრო გავრცელებულია მყარი წამლის ფორმები, რომლებიც უშუალოდ გამოყენების წინ იხსნება შესაფერის გამხსნელში; დიდი ყურადღება ეთმობა მიკრონაწილაკების, ნანონაწილაკების შემცველი წამლის ფორმების შემუშავებას.

ბიოტექნოლოგიაში გამოყენებული ძირითადი ცნებები და ტერმინები

აქ მოყვანილია ზოგიერთი ბიოტექნოლოგიური ტერმინი; ტერმინოლოგიური, შეძლებისდაგვარად სრული, ლექსიკონი მოთავსებულია ამ წიგნის ბოლოში.

ადაპტორი. 1) სინთეზური ორჯაჭვიანი ოლიგონუკლეიდი ერთი ბლაგვი ბოლოთი და ერთი მწებვარე ბოლოთი. ბლაგვი ბოლოთი ადაპტორის მიკერების შემდეგ დნმ-სამიზნეზე, ეს უკანასკნელი შეიძლება ჩავაშენოთ შესაფერის ვექტორში, გამოვიყენებთ-რა მის მიერ ახლადშეძენილ მწებვარე ბოლოს.

2) სინთეზური ერთჯაჭვიანი ოლიგონუკლეიდი, რომელსაც თვითჰიბრიდიზაციის შემდეგ უჩნდება მწებვარე ბოლოები და შიდა საიტი მარესტრიცირებელი ენდონუკლეაზისათვის. როცა ადაპტორს ჩააშენებენ კლონირებად ვექტორში, ვექტორს უჩნდება რესტრიქციის ახალი საიტი.

ადენინი. პურინული ფუძეა, თიმინისა და ურაცილის კომპლემენტარული. დნმ-სა და რნმ-ში შემავალ აზოტოვან ფუძეთა შორის ერთ-ერთი.

ავტოსომა. ნებისმიერი ქრომოსომა, რომელიც არ არის სასქესო. ადამიანის სომატურ უჯრედებში არის 22 წყვილი ავტოსომა და ერთი წყვილი სასქესო ქრომოსომა.

ალგინატი. პოლისაქარიდი, რომელიც სხვადასხვა წყალმცენარეებითა და ბაქტერიებით სინთეზირდება; შედგება β-D-მანურონატისა და α-L-გულურონატის (ჰულურონატის) ნაშთებისაგან.

ალტერნატიული სპლაისინგი.მოცემული გენის ეგზონების სხვადასხვა კომბინაციებით შეერთება საინფორმაციო რნმ-ის განსხვავებული ზრდასრული მოლეკულის წარმოქმნის დროს.

ამინოაცილ-სატრანსპორტო რნმ (ამინოაცილ ტ-რნმ). ტ-რნმ მოლეკულა, რომლის 3` ბოლოზე მიერთებულია სპეციფიკური ამინომჟავა.

ამინოაცილური საიტი ანუ A- საიტი. რიბოსომის მონაკვეთი, რომელიც ამინოცილ-ტ-რნმ-ს აკავშირებს ტრანსლაციის პროცესში.

ამპლიკონი. ტიპი 1 მარტივი ჰერპესის ვირუსის პლაზმიდური ვექტორი.

ანტიკოდონი. სატრანსპორტო-რნმ-ის მოლეკულაში ნუკლეოტიდების ტრიპლეტი, რომელიც საინფორმაციო რნმ-ს მოლეკულაში სპეციფიკური კოდონის ნუკლეოტიდების კომპლემენტარულია.

ანტიპარალელური ორიენტაცია. ნუკლეინის მჟავების ორჯაჭვიან მოლეკულებში ჯაჭვების დაპირისპირებული მიმართულობა (5’3’და 3’ 5).

ანტიშრატი. სისხლის თხევადი კომპონენტი, რომელიც შეიცავს ანტისხეულებს.

ბაკმიდა. მაქოური ვექტორი, AcMNPV გენომის ფუძეზე, რომელსაც უნარი აქვს იარსებოს E. coli-ის უჯრედებში.

ბაქტერიოფაგი. ბაქტერიების დამაინფიცირებელი ვირუსი.

ბინარული დაყოფა. პროკარიოტული უჯრედის დაახლოებით ერთნაირი ზომის შვილეულ უჯრედებად პირდაპირი გაყოფა, რომელიც არაა დაკავშირებული სქესობრივ პროცესთან.

ბიოდეგრადაცია. ცოცხალი მიკროორგანიზმების საშუალებით გარემოში მოხვედრილი დამაბინძურებელი ნივთიერებების დაშლა.

ბიოკონტროლი. პროცესი, რომელშიც გამოყენებულია ცოცხალი ორგანიზმები პათოგენური მიკროორგანიზმების ზრდა-განვითარების შესაზღუდავად.

ბიომარკერი. ბიოლოგიური ნიშანი, რომელიც მიგვანიშნებს პათოლოგიური პროცესის პროგრესირებაზე ან მკურნალობის ეფექტურობაზე.

ბიომასა. 1) ცოცხალი ორგანიზმების ცხოველმოქმედების შედეგად წარმოშობილი უჯრედული მასა. 2) ორგანული ნივთიერება, რომელიც შეიძლება გამოვიყენოთ, როგორც ენერგიის ან ქიმიური შენაერთების წყარო.

ბიორეაქტორი, ფერმენტიორი. მოწყობილობა, რომელშიც მიმდინარეობს ბიოქიმიური რეაქცია ცოცხალი მიკროორგანიზმების, უჯრედული ექსტრაქტების ან ფერმენტების მონაწილეობით. ხშირად ეს ტერმინი იხმარება იმ ჭურჭლის აღსანიშნავად, რომელშიც იზრდებიან მიკროორგანიზმები.

ბლოტინგი. დაყოფილი მოლეკულების ერთი ნიადაგიდან (მაგ. გელიდან) მყარ მატარებელზე (ქაღალდი, ნეტროცელულოზური ფილტრი) გადატანა.

გენომი. მოდემული ორგანიზმის ქრომოსომების ჰაპლოიდური ნაკრების გენების ერთობლიობა.

გენომური ბიბლიოთეკა, გენების ბანკი. დნმ-ის კლონირებული ფრაგმენტების ნაკრები, რომლებიც ერთიანობაში შეადგენენ ინდივიდუალურ(ჯგუფურ, სახეობრივ) გენომს. თუ ლაპარაკია მსხვილ გენომზე (ძუძუმწოვრები), მიიღება ქრომოსომოსპეციფიკური ბიბლიოთეკები.

დელეცია. ქრომოსომის მონაკვეთი გამოვარდნა (წაშლა) მისი შემადგენლობიდან.

დომენი. პოლიპეპტიდური ჯაჭვის მონაკვეთი, რომელიც ასრულებს განსაზღვრულ ფუნქციას (მაგალითად, ციტოპლაზმატური დომენი, ტრანსმემბრანული დომენი და ა. შ.).

ეგზონი. პირველადი ტრანსკრიპტის შემადგენლობაში შემავალი გენის უბანი, რომელიც მასში რჩება პროცესინგის (ნიტრონების ამოჭრა) შემდეგ. სხვა ეგზონებთან ერთად წარმოშობს ზრდასრულ მატრიცულ (საინფორმაციო) რნმ-ს.

ექსპრესია. გენის ტრანსკრიპცია და ტრანსლაცია.

ელექტროფორაცია. ელექტრული დენის გავლენით უჯრედის მემბრანებში ფორების წარმოშობა. ამ ფორებით უჯრედში გააღწევენ უცხო დნმ-ები.

ელექტროფორეზი. დნმ, რნმ ან ცილის დამუხტული მოლეკულების გაყოფის მეთოდი, რომელიც ემყარება ელექტრულ ველში მათი გადაადგილების სხვადასხვა სიჩქარეს.

ელონგაცია. პოლიმერულ ჯაჭვთან მონომერების თანამიმდევრული მიერთება.

ერლიფტური ბიორეაქტორი. ცილინდრული ბიორეაქტორი, რომელშიც მორევა ხდება გაზის ნაკადით, რომელიც ქვემოდან მიეწოდება.

ვარიაბელური დომენები. ანტისხეულის პოლიპეპტიდური ჯაჭვების მონაკვეთები, სხვადასხვა ანტისხეულების მოლეკულებს აქვთ არაერთნაირი ამინომჟავური თანამიმდევრობა; პასუხისმგებელი არიან მათ სპეციფიკურობაზე.

ვექტორი. დნმ-ის თვითრეპლიცირებადი მოლეკულა (მაგ. ბაქტერიული პლაზმიდა), რომელიც გენურ ინჟინერიაში გამოიყენება გენების გადატანისათვის დონორი ორგანიზმიდან რეციპიენტ-ორგანიზმში; აგრეთვე ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების კლონირებისათვის.

ვესტერნ ბლოტინგი. გელ-ელექტროფორეზის საშუალებით გაყოფილი ცილოვანი მოლეკულების გადატანა მყარ სადებზე.

ვირულენტობა. მიკროორგანიზმის პათოგენურობის დახასიათება.

„თვითმკვლელობის“ ანუ სუიციდალური გენი. გენი, რომელიც განსაზღვრულ პირობებში საკუთარი უჯრედის სიკვდილს იწვევს.

იმუნოაფინური ქრომატოგრაფია. გაწმენდის მეთოდი, რომლის დროსაც მატრიცაზე ფიქსირებული ანტისხეული შეიკავშირებს სხვა ცილებთან რთულ ნარევში არსებულ სპეციფიკურ ცილას.

ინიციაცია. ბიოპოლიმერის სინთეზის დასაწყისი.

ინტეგრაციის ქრომოსომული საიტი. ადგილი ქრომოსომაში, რომელშიც შეიძლება ჩაეშენოს უცხო დნმ, ხშირად, მასპინძელი-უჯრედისათვის ყოველგვარი შედეგების გარეშე.

ინტრონი. გენის ტრანსკრიბირებადი მონაკვეთი, რომელიც არ შეიცავს კოდონებს და რომელიც ამოჭრილია პირველადი ტრანსკრიპტიდან ფუნქციონალური რნმ-ის წარმოშობის პროცესინგის მსვლელობაში.

კლონი. ერთი წინაპარი უჯრედის ან მოლეკულის იდენტური უჯრედების ან მოლეკულების პოპულაცია.

კლონირება. კლონის მისაღებად გამოყენებული პროცედურების ერთობლიობა.

კოდონი. სამი მეზობელი ნუკლეოტიდი, რომლებიც აკოდირებენ განსაზღვრულ ამინომჟავას. სულ არსებობს ნუკლეოტიდების 64 შერწყმა კოდონებში; მათ შორის 61 აკოდირებს 20 ამინომჟავას, 3 კი წარმოადგენს ნონსენს-კოდონებს.

მატრიცული რნმ, იგივე საინფორმაციო რნმ. რნმ-ს მოლეკულა, რომელშიც შენახულია ინფორმაცია განსაზღვრული ცილოვანი მოლეკულის ამინომჟავური თანამიმდევრობის შესახებ.

მატრიცული ჯაჭვი. დნმ-ის ჯაჭვი ან სხვა პოლინუკლეოტიდი, გამოყენებული დნმ-პოლიმერაზის მიერ როგორც მატრიცა კომპლემენტარული ჯაჭვის სინთეზისათვის.

მაქოური ვექტორი. პლაზმიდური დნმ, რომელსაც აქვს უნარი რეპლიცირდეს ორი სხვადასხვა ტიპის უჯრედებში (მაგ. E. coli და საფუვრის უჯრედებში).

მერისტემა. მცენარის უჯრედი, რომელსაც აქვს აქტიური დაყოფის უნარი. ახალგაზრდა მცენარეებს იგი აქვთ ფესვებისა და ყლორტების წვეროებზე.

მექანიკურმორევადი რეაქტორი. ბიორეაქტორი, რომელშიც გაზის მთელს მოცულობაში თანაბარი განაწილებისათვის გამოიყენება სარეველა.

მონოკლონური ანტისხეულები. ერთტიპიური ანტისხეულები; მკაცრად სპეციფიკური ერთ ეპიტოპთან (ეპიტოპი არის ანტიგენური დეტერმინანტი); სინთეზირდებაიან ჰიბრიდომების - უჯრედული ჰიბრიდების მიერ, რომლებიც მიიღება ნორმალური ანტისხეულწარმომქმნელი უჯრედების შერწყმით მიელომურ სიმსივნურ უჯრედთან, რომელსაც განუსაზღვრელი ზრდის უნარი აქვს. ზოგიერთი მიელომური უჯრედი მონოკლონურ სხეულებს დამოუკიდებლადაც ასინთეზირებენ.

მუტაცია. გენის სტრუქტურის სპონტანური ან ინდუცირებული შეცვლა.

ოპერატორი. დნმ-ის უბანი, რომელიც უშუალოდ ეკვრის სტრუქტურულ გენს და არეგულირებს მის ტრანსკრიპციას რეპრესორის ან აქტივატორის მონაწილეობით.

პასიური იმუნიტეტი. იმუნიტეტის ფორმა, რომელიც წარმოიშობა სხვა ორგანიზმების აქტიური იმუნიზაციის შედეგად გამომუშავებული ანტისხეულების შემცველი შრატის ორგანიზმში შეყვანის დროს.

პირველადი კულტურა. უშუალოდ ორგანიზმიდან აღებული უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურა.

პერიოდული ფერმენტაცია. მიკროორგანიზმების კულტივირება დროის შეზღუდული ინტერვალის განმავლობაში. აწარმოებენ კულტივირებას უწყვეტ რეჟიმში სანამ პროცესი თავისით არ დასრულდება.

პერიოდული ფერმენტაცია სუბსტრატის დამატებით. მიკროორგანიზმების კულტივირება დროის შეზღუდული ინტერვალის განმავლობაში სუბსტრატის პერიოდული დამატებით და პროდუქტის აღებით მხოლოდ პროცესის დასასრულს.

პერიპლაზმატური სივრცე. სივრცე ბაქტერიული უჯრედის პლაზმატურ მემბრანასა და გარე მემბრანას ანუ უჯრედის კედელს შორის.

პლაზმიდა. ქრომოსომგარე გენეტიკური ელემენტია, რომელსაც აქვს ხანგრძლივი ავტონომიური არსებობისა და რეპლიკაციის უნარი.

პლასტიდა. მცენარეული უჯრედის ორგანოიდი, მაგალითად, ქლოროპლასტი; მრავალ პლასტიდას აქვს საკუთარი გენომი.

პოლიკეტიდური ანტიბიოტიკები. ანტიბიოტიკების კლასი, რომლებიც წარმოიშობიან კარბონის მჟავების (აცეტატი, პროპიონატი და სხვ.) თანამიმდევრული ფერმენტატიული კონდენსაციის შედეგად.

პოლილინკერი. დნმ-ის მოკლე მონაკვეთი, რომელიც შეიცავენ რამდენიმე უნიკალურ ცნობის საიტს ენდონუკლეაზებისათვის; ამ საიტებში ჩანერგავენ უცხო დნმ-ს ანუ ახდენენ კლონირებას.

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია. დნმ-ის სპეციფიკური სეგმენტის ამპლიფიკაციის მეთოდი თერმოსტაბილური დნმ-პოლიმერაზის საშუალებით ოლიგონუკლეოტიდური დნმ-ზონდების გამოყენებით, რომლებიც დნმ-ის ურთიერთსაწინააღმდეგო ჯაჭვების თანამიმდევრობების კომპლემენტარულებია (ფლანკირებას უწევენ აპლიფიცირებად სეგმენტს). პროცესი შედგება ციკლურად გამეორებადი რეაქციების სერიისაგან: დნმ-ის დენატურაცია, ზონდების მოწვა, დნმ-ის სინთეზი.

პოლიმორფული საიტი. ქრომოსომის უბანი, რომელიც პოპულაციაში წარმოდგენილია ერთზე მეტი ვარიანტით სიხშირით არაუმცირეს 1%-ისა.

პოლინუკლეოტიდი. ხაზური პოლიმერი. შედგება 20 ან მეტი ნუკლეოტიდისაგან, რომლებიც შეერთებულია ფოსფოდიეთერული ბმებით. პოლიპეპტიდია ცილოვანი მოლეკულა.

პრაიმერი. მოკლე ოლიგონუკლეიდი, რომელიც ჰიბრიდიზირდება მატრიცასთან ერთად და ამნთების როლს ასრულებს მისი კოპირების (პირგადაღების) დროს.

პრომოტორი. დნმ-ის მოლეკულის უბანი, რომელსაც უკავშირდება რნმ-პოლიმერაზა, რასაც თან ახლავს შესაბამისი გენების ტრანსკრიპციის ინიციაცია.

პროცესინგი. უჯრედში რნმ-ისა და ცილების ზრდასრული მოლეკულების წარმოქმნის პროცესების ერთობლიობა. მოიცავს ენდონუკლეაზებით ან პროტეინაზებით მოლეკულა-წინამორბედების რიგ თანამიმდევრულ გახლეჩვებს.

რეკომბინანტული დნმ. დნმ-ის მოლეკულა, რომელიც მიიღება in vitro სხვადასხვაგვარი, ბუნებაში ერთად არსად არარსებული დნმ-ის ფრაგმენტების გაერთიანებით.

რეკომბინანტული პლაზმიდა. გენური ინჟინერიის მეთოდებით შეცვლილი პლაზმიდა. შედგება სხვადასხვა პლაზმიდებისაგან ან შეიცავს სხვა ორგანიზმების დნმ-ების სეგმენტებს.

რეკომბინანტული ცილა. კლონირებული რეკომბინანტული დნმ-ის მიერ კოდირებული ცილა.

სამიზნე. ფართო გაგებით, ბიოლოგიური ობიექტი (ქსოვილი, მოლეკულა, უჯრედი, მიკროორგანიზმი), რომელიც მკვლევარს აინტერესებს.

სომატური უჯრედი. მრავალუჯრედიანი ორგანიზმის ნებისმიერი არასასქესო უჯრედი.

სპლაისინგი. მ-რნმ-ის წინამორბედიდან ინტრონებისა და ეკზონების კოვალენტური შეერთების ამოჭრა მ-რნმ-ის ზრდასრული მოლეკულების წარმოქმნით.

სტრუქტურული გენი. გენი, რომელიც აკოდირებს რომელიმე ცილას.

სუბკლონირება. დნმ-ის უკვე კლონირებული მოლეკულის ნაწილის გადატანა მეორე კლონირებად ვექტორში.

სუპრესია. დაკარგული გენეტიკური ფუნქციის აღდგენა, განპირობებული ერთი მუტაციის ეფექტის დათრგუნვით მეორის ზემოქმედებით.

ტერმინაცია. მაკრომოლეკულის სინთეზის შეწყვეტა.

ტრანსგენული ორგანიზმი. ორგანიზმი, რომლის გენომი შეიცავს გენური ინჟინერიის მეთოდებით ჩართულ გარეშე გენეტიკურ მასალას.

ტრანსგენოზი. გარეშე გენის შეყვანა მცენარეულ ან ცხოველურ უჯრედში და მისი შთამომავლობაში (რიგ თაობებში) გადაცემა.

ტრანსკრიპცია. რნმ-პოლიმერაზით კატალიზებული რნმ-ის სინთეზის პროცესი, რომელშიც მატრიცის სახით დნმ-ის ერთ-ერთი ჯაჭვი გამოიყენება.

ტრანსლაცია. რიბოსომის მიერ პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზი მატრიცის სახით მ-რნმ-ის (მატრიცული ანუ საინფორმაციო რნმ-ის)გამოყენებით.

ფერმენტაცია. სამრეწველო მიკრობიოლოგიაში - მიკროორგანიზმების მსხვილ-მასშტაბიანი კულტივირება სპეციალურ ჭურჭლებში (ფერმენტიორებში, ბიორეაქტორებში).

ჩანართი. დნმ-ის სეგმენტი, რომელიც ჩაშენებულია კლონირებად ვექტორში.

ცენტრიფუგირება საქაროზის სიმკვრივის გრადიენტში. მაკრომოლეკულების დაყოფა ფორმისა და ზომის მიხედვით, რომელიც დაფუძნებულია მათი სედიმენტაციის კოეფიციენტების სხვაობაზე.

ციტოკინინები. მცენარეული ჰორმონებია, რომლებიც ინდუცირებას უკეთებენ უჯრედების დაყოფას.

შტამი. გენეტიკურად ერთგვაროვანი მიკროორგანიზმების კულტურა.

ჰიბრიდული ცილა, ქიმერული ცილა. პროდუქტი ორი ან მეტი ერთად კლონირებული მაკოდირებული თანამიმდევრობისა სხვადასხვა გენებიდან; წარმოადგენს ერთ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს.

ჰიბრიდული გენი. გენი, რომელიც შედგება ორი ან რამდენიმე გენის ნაწილებისაგან და რომლებიც ექსპრესირდებიან ერთი მთლიანი ჰიბრიდული (ქიმერული) ცილის წარმოქმნით.

თავი 2. ბიოტექნოლოგიაზე დაფუძნებული მზა სამკურნალწამლო საშუალებების ბიოფარმაცევტული საკითხები

პეპტიდებისა და პროტეინების შემცველი წამლის ფორმების წარმატებით შედგენისა და მათი მიწოდების გაუმჯობესების მიზნით, მნიშვნელოვანია მეცნიერმა გაითვალისწინოს რამდენიმე ფაქტორი: რთული შედგენილობის ფიზიკური და ქიმიური სტაბილურობა, რეცეპტის შემადგენლობაში კარგად შერჩეული დამხმარე ნივთიერებები,
რომლებიც განაპირობებენ წამლის ფორმიდან სამკურნალო სუბსტანციის წარმატებულ გამოთავისუფლებას და შეწოვას.

დიდი მნიშვნელობა აქვს შეყვანის გზას; შეყვანის ძირითადი გზა პარენტერალურია. საინექციო წამლის ფორმა მოითხოვს სპეციფიკურ დამხმარე ნივთიერებას, წამლის ფორმის (სითხოვანი, მყარი წამლის ფორმის, თუ სუსპენზიის სახით) შედგენისა და მომზადების სპეციალურ წესს; ცილების შემცველი რეცეპტურის განვითარებაში სხვადასხვა მიდგომები გამოიყენება. ეს პრინციპები მოცემულია № --- ცხრილში

ცხრილი №--

შემადგენლობა	ცილა	სახელწოდება და შენიშვნა	დამხმარე ნივთიერებები
სითხოვანი წამლის ფორმები უბუფერო (არაბუფერიზებული) საინექციო ხსნარები	ინსულინი-glangine	Lantus ლანტუსი (Sanofi-Aventis სანოფი-ავენტისი), ჩვენება: შაქრიანი დიაბეტი	თუთიის ქლორიდი, მეტა-კრეზოლი, გლიცეროლი, ქლორწყალბადმჟავა, ნატრიუმის ჰიდროქსიდი, საინექციო წყალი. pH4
საინექციო სუსპენზია	სწრაფი მოქმედების ინსულინის მიქსტურა და	Mixtard მიქსტარდი (Novo Nordisk ნოვო-ნორდიკი;	პროტამინის სულფატი, თუთია, გლიცეროლი, უწყლო დინატრიუმის

	გახანგრძლივებული მოქმედების ინსულინის მიქსტურა	ჩვენება: შაქრიანის დიაბეტი	ფოსფატი, ფენოლი და მეტაკრეზოლი
საინჰალაციო ხსნარი	დორნასე ალფა	Pulmozyme პულმოზიმი Roche როხე); ჩვენება = შარდის ბუშტის ფიბროზი	ნატრიუმის ქლორიდი, კალციუმის ქლორიდი წყლიანი, პოლისორბატი 80, საინექციო წყალი. pH7
სითხოვანი კონცენტრატი ინტრავენური გამოყენებისათვის	რიტუქსიმაბი, გლიკოზილირებული იმუნოგლობულინი LgGl-к	Mabthera-Roche; ჩვენება B უჯრედების სისხლის კიბო (NHL)	ნატრიუმის ქლორიდი, ნატრიუმის ციტრატი უწყლო, პოლისორბატი 80, საინექციო წყალი. pH 6,5
მყარი წამლის ფორმები საიმპლანტაციო ნაკრები	ადამიანის ძვლის რეკომბინანტული მორფოგენეტიკური პროტეინი-2 (rhBMP-2) ანუ დიბუტერმინ - α	InductOs (Wyeth); ჩვენება - ახალი ძვლის წარმოშობის აღძვრა იმპლანტაციის საიტზე (ადვილზე)	საინექციო წყალი, გლუტამინის მჟავა, გლიცინი, ნატრიუმის ქლორიდი, ნატრიუმის ჰიდროქსიდი, პოლისორბატი 80, საქაროზა, კოლაგენი,
საინექციო ლიოფილიზირებული ფხვნილი	ინტერფერონი β - lb	Betaferon (Schering AG) ჩვენება - გაფანტული სკლეროზი	ადამიანის ალბუმინი, დექსტროზა, ნატრიუმის ქლორიდის ხსნარი
საინექციო ლიოფილიზირებული ფხვნილი	ადამიანის ჰემოფილიის რეკომბინანტული VIII ფაქტორი (rF VIII- SF)	Kogenate (Bayer) ჩვენება - A ჰემოფილია	საქაროზა, ჰისტიდინი, გლიცინი, ნატრიუმის ქლორიდი, კალციუმის ქლორიდი, საინექციო წყალი. ევროფარმაკოპეა.

სითხოვანი წამლის ფორმები

პარენტერალური დანიშნულების ყველა სითხოვან წამლის ფორმას მოეთხოვება იყოს სტაბილური და სტერილური. სხვა მოთხოვნები მოცემულია ევროპის ფარმაკოპეაში; ესენია: ფერი, მიკრობული და მექანიკური კონტამინაციის არარსებობა. როცა მზადდება სითხოვანი წამლის ფორმა, მკვლევარმა უნდა გადაწყვიტოს ეს იქნება სუსპენზია, თუ ჰომოგენური ხსნარი. სწორ არჩევანზე დამოკიდებულია წამლის თვისებები. თუმცა, სტაბილურობისა და ფარმაკოლოგიური ეფექტის ადექვატურობის საკითხები კარგად უნდა იყოს შენარჩუნებული. უფრო ხშირად გამოიყენება სუსპენზიები, ვიდრე ჰომოგენურო ხსნარები და ხშირად ლიოფილური შრობით მიღებულ ფხვნილებს ამჯობინებენ სუსპენზიებს. Wang-მა (1999 წ.) მოგვაწოდა იმ სხვადასხვა დამხმარე ნივთიერებების შესანიშნავი მიმოხილვა, რომლებიც გამოყენებულია სითხოვანი წამლის ფორმებში და აღწერა მათი გავლენა წამლის ფორმის ფიზიკურ და ქიმიურ სტაბილურობაზე.

ხსნარები

სითხოვანი წამლის ფორმებში მთავარია pH-ისა და ჰიდროლიზური სტაბილურობის მოწესრიგება. მნიშვნელოვანია, pH იყოს 3-დან 10-მდე წამლის მომზადების მთელი ციკლის მანძილზე. ხსნადობა დამოკიდებულია pH-ის მნიშვნელობაზე და ინარჩუნებს ფიზიკური და ქიმიური სტაბილურობის გარემოს. ჩვეულებრივ ახლო კავშირი არსებობს ოპტიმალურ ხსნადობასა და სტაბილურობას შორის. მინიმალური ხსნადობა შეინიშნება ცილების pI-ს სხვადასხვა მნიშვნელობის დროს (pI არის იზოელექტრული წერტილი - ანუ pH, რომლის დროსაც ზედაპირული შრის მოლეკულები არ ატარებენ ელექტრულ მუხტს).

სითხოვანი წამლის ფორმის pH-ის შენარჩუნების გზაა შესაფერისი ბუფერული სისტემის მიმატება; ეს გზა აგრეთვე მოქმედებს რეცეპტის საერთო სტაბილურობაზე. როგორც ჩანს, უფრო სწრაფად და უკეთ ამისი მოგვარება შეუძლია ფოსფატურ და ბიკარბონატულ ბუფერებს, ვიდრე სულფატურ, ნიტრატულ, აცეტატურ, ქლორიდულ და პირუვატულ (პირუვატები ეწოდება პიროყურძნის მჟავას მარილებს, წარმოადგენენ გლიკოლიზის პროცესში გლუკოზის მეტაბოლიზმის საბოლოო პროდუქტებს) ბუფერებს. ხსნარის იონური ძალა იცვლება ბუფერის და სხვა დამხმარე ნივთიერებების, მაგალითად, მარილების კონცენტრაციის მიხედვით.

ქიმიური გაუვარგისების ერთ-ერთი მთავარი მიმართულებაა ოქსიდაცია და შესაბამისად, ხსნარის ოქსიდაციური სტაბილურობა უნდა გაუმჯობესდეს. ეს შესაძლებელია მიღწეულ იქნას მომზადების ტექნოლოგიური პროცესის დახვეწით, შენახვის ტემპერატურის დაცვით, შესაბამისი ჭურჭლის (შესაფუთი მასალის) შერჩევით ან/და ანტიოქსიდანტის მიმატებით. ინერტული აირის, მაგალითად აზოტის არეში მომზადებით, მოთავსებას შესაბამის შუშებში და ანტიოქსიდანტის დამატებას შეუძლია მინიმალურ ზღვრამდე დაიყვანოს პრეპარატის ქიმიური დეგრადაცია (ამ შემთხვევაში - ოქსიდაცია ანუ დაჟანგვა). ანტიოქსიდანტები არსებობს სამი სახის: ჭეშმარიტი ანტიოქსიდანტები, აღმდგენელი აგენტები და ხელატების წარმომქმნელი აგენტები. ტიპიური დამხმარე ნივთიერებები და მათი ფუნქციები მოცემულია №--- ცხრილში.

წამლის ეფექტი	დამხმარე ნივთიერების ტიპი	მაგალითები
ანტიადსორბციული	ზან პოლიმერები სხვა ცილები	პოლისორბატი 80, პოლოქსამერი 188, დექსტრანი პოლიეთილენგლიკოლი - პეგ ხარის შრ. ალბუმინი და ადამიანის შრ. ალბუმინი
დაჟანგვისაგან დამცავი	ანტიოქსიდანტი	ასკორბინის მჟავა, გლუტატიონი, პროპილგალატი, ვიტამინი E
კრიო- და ლიო-პროტექტორები	შაქრები პოლიოლები ამინომჟავები პოლიმერები მარილები სხვადასხვა Ligand	საქაროზა, ლაქტოზა, გლუკოზა, მალტოზა, ტრეჰალოზა ინოზიტოლი, ეთილენგლიკოლი, გლიცეროლი, სორბიტოლი, ქსილიტოლი, მანიტოლი ნატრიუმის გლუტამატი, პროლინი, α -ალანინი, β-ალანინი, გლიცინი პეგ, დექსტრანი სუქცინატი, მაგნიუმის სულფატი და სხვა ბეტაინი, ეთანოლი, დიმეთილსულფოქსიდი თუთია, ფენოლი, კალციუმი
pH	ბუფერის მარილები	ფოსფატები, ბიკარბონატები, სულფატები, ნიტრატები, აცეტატები, ქლორიდები, პირუვატები
სტაბილიზატორები	ამინომჟავები შაქრები პოლიოლები მარილები ხელატირების აგენტები	გლიცინი, არგინინი, ალანინი, პროლინი, ასპარტის მჟავა, ლიზინი ტრეჰალოზა ციკლოდექსტრინი, მანიტოლი, სორბიტოლი ნატრიუმის სულფატი, კალიუმის ფოსფატი ეთილენდიამინოტეტრაძმარმჟავა (ტრილონ ბ)
tonicity	მარილები სხვადასხვა	ნატრიუმის ქლორიდი და სხვა მარილები გლიცეროლი

ფიზიკური სტაბილურობა შეიძლება მიღწეული იქნას ზედაპირული აბსორბციის თავიდან აცილებით. მაგალითად, ჭურჭელში ჭარბი აირების (გათხევადებული ჰაერის კვამლის ექსპონირება) და დამხმარე ნივთიერებების მიმატებით, როგორიცაა უფრო ზედაპირულად აქტიური ნივთიერებები, ვიდრე თვითონ ცილებია. სასურველია გავზარდოთ კონკურენტული შთანთქმა ზოგიერთი უფრო ხშირად გამოყენებული დამხმარე ნივთიერების საშუალებით, როგორიცაა ზედაპირულად აქტიური ნივთიერებები - პოლისორბატები. ციკლოდექსტრინი, ალბუმინი, თუ სხვა პროტეინები, ასევე შეიძლება

გამოყენებული იქნეს წამლის ფორმის გასაუმჯობესებლად. სამკურნალო საშუალება Eprex (Janssen-Cilag) შეიცავს ცილა ერითროპოეტინს, ადამიანის შრატის ალბუმინი შეცვალეს პოლისორბატ 80-ით, დაემატა გლიცინი, შეცვალეს რეზინის საფარველი. ერთ-ერთი ამ ცვლილებების საჭიროება გამოიწვია იმუნოგენიციტურობის ზრდამ.

ცილების წყლიანი ხსნარების სტაბილიზაციის ყველაზე აღიარებული მექანიზმი არის ცილების პრეფერენციული ინტერაქტივობა (უპირატესი ურთიერთქმედება). პრეფერენციული ინტერაქტივობა მიუთითებს, რომ ცილა ამჯობინებს ურთიერთქმედებას ან წყალთან ან დამხმარე ნივთიერებასთან. არსებობს ორი პირობითი ტერმინი: პრეფერენციული ჰიდრატირება, რაც ნიშნავს, რომ პროტეინი ურთიერთქმედებს წყალთან, და პრეფერენციული გარიყულობა, რაც ნიშნავს, მაგალითად, რომ დამხმარე ნივთიერება არის პრეფერენციულად გამორიცხული (იზოლირებული) ცილის დომენიდან (შემადგენლობიდან). სტაბილიზაციის დამხმარე ნივთიერების თანაობისას ცილა პრეფერენციულად ჰიდრატირდება ან და დამხმარე ნივთიერებები არის პრეფერენციულად გამორიცხული, რომ წყლის მოლეკულები უფრო არის ნაპოვნი ცილის ზედაპირზე, ვიდრე მოცულობაში - შიგნით.

რადგან დენატურირებულ ცილას აქვს დიდი ზედაპირი, ვიდრე ბუნებრივ (ნატივურ) პროტეინს, დენატურირებული ცილის ზედაპირიდან დამხმარე ნივთიერების პრეფერენციული იზოლაცია არის უფრო უარყოფითი (ნაკლები), ვიდრე ბუნებრივი ცილის ზედაპირის მიერ შთანთქმა. ამიტომ სტაბილიზაცია ძირითადად წარმოიშობა ცილის სტრუქტურის დენატურაციის ანუ დესტაბილიზაციის ხარჯზე.

გარდა ამისა, აღნიშნული დამხმარე ნივთიერებები მრავალდოზიან კონტეინერებში უფრო აუცილებელია, ამიტომ ანტიმიკრობული კონსერვანტები, როგორიცაა ფენოლი, მეთილ- და პროპილბარაბენი, აუცილებლად უნდა დაემატოს.

სუსპენზიები

სუსპენზიები არის სითხეები, რომლებიც შეიცავენ ხსნად ცილებს, ამორფულ ნაწილაკებს, კრისტალებს ან მათ კომბინაციებს. თუმცა, ძნელია მათი ერთჯერადი დოზის ზუსტად განსაზღვრა და სტაბილურობის უზრუნველყოფა.

ხსნარებში აღწერილი დამხმარე ნივთიერებებისა და გამხსნელების ამორჩევის პრინციპები გამოდგება სუსპენზიებისათვისაც. დამატებით უნდა აღინიშნოს, რომ ნაწილაკების ზომა ორივე, ამორფული და კრისტალური ნაწილაკების, შემთხვევაში, უნდა იყოს გაკონტროლებული; რადგან როგორც ცნობილია, ნაწილაკების ზომას დიდი მნიშვნელობა აქვს წამლის ფორმის შეწოვასა და ფარმაკოლოგიური ეფექტურობის საქმეში. დამხმარე ნივთიერებებმა უნდა შეუნარჩუნონ სუსპენზიას კრისტალურ და ამორფულ ნაწილაკთა თანაფარდობა და არ უნდა შეუწყონ ხელი ფაზის ნაწილაკების დამსხვილებას (აგრეგაციას), როგორც ასეთი. ამგვარად, ნაწილაკების კონტროლი აუცილებელია, მაგალითად, დინამიკური შუქგაფანტვის მეთოდით. წამლის ფორმა უნდა იყოს ადვილად გამოსაყენებელი, ხოლო ნაწილაკები - საინექციოდ დასაშვები ზომების და რესუსპენდიული. ნაწილაკების მიღება შეიძლება დალექვით, გადაკრისტალებით (გამოკრისტალებით), ეს პროცესი დამოკიდებულია შემავსებლებსა და გარეგან ფაქტორებზე, როგორიცაა ტემპერატურა და დრო.

მოვიყვანთ კარგად დაკრისტალებული შემადგენლობების მაგალითს; ასეთია ინსულინი Ultratard (Novo Nordisk)-ში და ზრდის ჰორმონი; ამ მაგალითმა უჩვენა, რომ შესაძლებელია ხანგრძლივი აქტივობის კრისტალების მიღება. ზრდის ჰორმონის მზა ფარმაცევტული პროდუქტი შექმნილია ზრდის ჰორმონის პოლიელექტროლიტით (პოლიარგინინით) შემოგარსული კრისტალებისაგან, რომლებიც ფორმირებულია კომპლექსწარმოქმნითა და კრისტალიზაციით. ამ წამლის ფორმიდან გამოთავისუფლება შეიძლება შევადაროთ შვიდ ყოველდღიურ ინექციას.

მყარი წამლის ფორმები

მყარი წამლის ფორმებში ცილები უფრო სტაბილურია და სწორედ ამიტომ მათზე აჩერებენმნარჩევანს სტაბილურობის ასამაღლებლად. მყარი ფორმით ცილების მიღება დღეისათვისაც რჩება აქტუალურ საკითხად.

გამოყენებულ მეთოდთა შორის დავასახელებთ ორ ყველაზე გავრცელებულს: ლიოფილიზაციას (გაყინვით-შრობას) და გაფრქვევით შრობას.

ფარმაცევტული თვალსაზრისით, შენახვის პროცესში ცილების სტაბილურობის გაზრდის მიზნით ***ლიოფილური შრობა*** უფრო მისაღებია. ლიოფილური შრობა მყარ მდგომარეობაში მოლეკულების მოძრაობის შემცირების გამო აძლიერებს ცილების ფიზიკურ სტაბილურობას ცილის სითხოვანი წამლის ფორმებთან შედარებით. ლიოფილიზაციის პროცესის ოპტიმიზაციის მიზანია ცილის მიღება შესქელებული ლიოფილიზებული მასის სახით, რომელიც ცილას დააფიქსირებს დაბალ ტენშემცველ მყარ სტრუქტურაში და დროის სასურველი მონაკვეთის განმავლობაში მოგვცემს საშუალებას შევინახოთ სასურველ მდგომარეობაში.

ლიოფილიზაციის პროცესი იყოფა სამ სტადიად: გაყინვა, პირველადი შრობა (როცა სოლვენტი შორდება სუბლიმაციით) და მეორადი შრობა (სადაც ნარჩენი გამხსნელი შორდება დესორბციით). გაყინვისას წარმოიშობა ყინულის კრისტალები, რომლებიც ფიზიკურად მოსცილდება ცილებს. გაყინვის წერტილს ქვევით ტემპერატურის დაწევა წარმოადგენს გამოკრისტალების საფუძველს. თუმცა, წყლის მცირე რაოდენობა რჩება გაუყინავი და აბსორბირდება ცილის მიერ. გაყინვის პროცესში წყლის მოშორება ადიდებს ცილის კონცენტრაციას, ასევე თუ დამატებული ჰქონდა დამხმარე ნივთიერებები - შესაბამისად, მათ კონცენტრაციასაც.

პირველადი შრობა არის საფეხური, როცა ხდება წყლის ძირითადი მასის მოცილება. პირველადი შრობის განმავლობაში ყინულის კრისტალების მოშორება გასაშრობი მასიდან ხდება სუბლიმაციით. მეორადი შრობისას შორდება აბსორბირებული გაუყინავი წყალი, რომელიც შეწოვილი ჰქონდა ცილის მოლეკულებს. წყლის ნაშთი (ტენიანობა) შეიძლება დარჩეს 20%-მდე. ნარჩენი წყალი ქროლდება ტემპერატურის მომატებით. ამგვარად, წყალი შორდება, მაღალი კონცენტრაიის არიდან დაბალი კონცენტრაციის არეში დიფუზიით. წყლის შემცველობა უნდა შემცირდეს იმ დონემდე, რომელიც ოპტიმალურია ცილის სტაბილურობისათვის. ეს არის უფრო დაბალი, ვიდრე 1-2 w/w%(74,75). წყლის შემცველობა შეიძლება იყოს ძალიან დაბალიც, რაც იწვევს ცილების ჰიდრატაციის დონის დარღვევას. ამას შედეგად მოჰყვება კონფორმაციული ცვლილებები და აგრეგაცია.

ლიოფილიზებულად გამშრალი ცილები წარმოდგენილია მშრალი ფხვნილისებური მასის სახით, რომლებიც შეიცავენ მინისებური ფაზის ცილებს, მათ შორის ამორფულ შემავსებლებს და წყლის ნაშთს. ეს ამორფული ნაწილი ადიდებს სტაბილურობას ლიოფილიზაციის შემდეგ, რადგან ეს ფაზა პოტენციურია შეიცავდეს დიდი რაოდენობით წყალბადურ ბმებს. გადასვლას ფისისებური (რეზინისებური, მინისებური) ფაზიდან მინის ფაზაში ეწოდება ***მინადქცევის ტემპერატურა.*** ეს პარამეტრი შეიძლება გამოყენებული იქნას ლიოფილური შრობით მიღებული მზა პროდუქტის დახასიათებისათვის. მინადქცევის ტემპერატურის აწევა გამოიწვევს მობილურობის გაზრდას. ეს ტემპერატურა უნდა გაიზარდოს როგორც შესაძლებელია, რომ მოხერხდეს ლიოფილიზებური ცილის შენახვა ოთახის ტემპერატურის პირობებშიც. ჩვეულებრივ, მეცნიერებმა ეს შეძლეს.

ცილის ლიოფილიზაციის პროცესში ცილის სტაბილურობის ამაღლებისათვის აუცილებელია გამოყენებული იქნას დამხმარე ნივთიერებები. მათ აქვთ ცილების კრიო- ან ლიოპროტექციის თვისება. სტაბილიზატორის თანაობისას ცილა მოქმედებს წყალთან და ამით დამხმარე ნივთიერებასთან (კრიოპროტექტორთან) მისი მოქმედება გამორიცხულია. კრიოდაცვის დროს, როგორც წესი, ხდება ლმობიერი ურთიერთქმედება ნივთიერებებს შორის; ცილა მოქმედებს უპირატესად წყალთან, ხოლო დამხმარე ნივთიერება ამ პროცესში არ მონაწილეობს. ლიოპროტექცია აიხსნება წყალგადაადგილების თეორიით (water-replacement). სტაბილიზებულ დამხმარე ნივთიერებებს შეუძლიათ წყლის გადაადგილება ცილის ზედაპირის პოლარულ ჯგუფებთან წყალბადური ბმების წარმოქმნის ხარჯზე, უზრუნველყოფენ-რა ცილის კონფორმაციას. ჩვეულებრივ, გამოიყენება დამხმარე ნივთიერებები: შაქარი, რომელიც მოქმედებს ორივე შემთხვევაში გაყინვისას და შრობის დროსაც. გარდა ამისა, ამინომჟავების მიმატებაც შეიძლება მოქმედებდეს როგორც კრიოპროტექტორად და/ან ლიოპროტექტორად (იხ. ცხრილი#--)უკან რომ ცხრილია_

დამხმარე ნივთიერებების დამატება, როგორც წესი, დაბლა სწევს მინადქცევის ტემპერატურას იმ ცილასთან შედარებით, რომელიც მიიღება მათი დამატების გარეშე. ცილების მინადქცევის ტიპიური ტემპერატურა არის მაღალი, 150° C და მეტი, ხოლო დამხმარე ნივთიერებებისა - 50° C -დან 20° C-მდე. ანუ დამხმარე ნივთიერებები ამცირებენ ცილების მინადქცევის ტემპერატურას. ლიოფილიზებული პროდუქტის მინადქცევის ტემპერატურა დამოკიდებულია მინადქცევის ინდივიდუალურ ტემპერატურაზე და ხსნარში თითოეული კომპონენტის მასურ წილზე. როცა მარედუცირებელი შაქრები გამოყენებულია როგორც პროტექტორები, ისინი შეიძლება რეაქციაში შევიდნენ პროტეინების ამინომჟავურ ჯგუფებთან. ეს რეაქციები ცნობილია Maillard-ის რეაქციების სახელწოდებით (აღწერილია

1912 წელს მეილარდის მიერ). მეილარდის რეაქციები ხდება მაღალი ტემპერატურის დროს და წარმოშობს ბრაუნინგ-კარბოჰიდრატულ კომპლექსს.

გაფრქვევით შრობა არის პროცესი, რომელშიც სითხე გარდაიქმნება მშრალ ნაწილაკებად გაფრქვევის საშუალებით. პროცესი შედგება სითხის გაფრქვევით მრავლობითი წვეთის წარმოშობის საფეხურისაგან, რომელსაც მოსდევს სითხის აქროლება ცხელი ჰაერის ნაკადში. დიდ ყურადღებას იმსახურებს ბიომაკრომოლეკულების გამოყენების დროს ტემპერატურის გამოყენება და ის, აქვს თუ არა ცილას უნარი წინაღუდგეს სტრესულ ეფექტს (ცვლილებებს სტრესის შემდეგ; ეს ეფექტი აღწერა K.K. Chitur 2008 წელს და სხვ.).

მიღწევები ბიოტექნოლოგიური მეთოდით მიღებული ფარმაცევტული პრეპარატების შეყვანის გზების სფეროში

ბიოტექნოლოგიური გზით მიღებული სამკურნალო სუბსტანციებიდან წამლის ფორმების მომზადების დროს დიდი ყურადღება ექცევა როგორც ნაწილაკების ზომას, ასევე თვითონ წამლის ფორმის შერჩევას. თანამედროვე კვლევების დიდი ნაწილი ეთმობა ახალი შეყვანის გზების ძიებას და ეს მიმართულება რჩება მუდმივ განვითარებად საკითხად. მიმდინარეობს ახალი მასალების ძიება ბიომაკრომოლეკულის ბიოშეღწევადობის გასაუმჯობესებლად, როგორც ლოკალური, ასევე სისტემური მოქმედების დროს.

საინჰალაციო გზით მიღება

ფილტვის გზით მიწოდებისას აუცილებელია ნაწილაკების ზომის კონტროლი, რადგანაც მხოლოდ 5 მმ-ზე მცირე ზომის ნაწილაკებს აქვთ უნარი შეაღწიონ სასუნთქი გზების სიღრმეში. წამლის შეყვანის ეს გზა პირველად 1925 წელს გამოიყენეს, როცა ინსულინის წყლიანი ხსნარის შეფრქვევა მოხდა სასუნთქი გზით. ფარმაცევტულ ბაზარზე პროდუქტი მაინც რჩება დეფიციტურ პროდუქტად.

Shoyele და სხვებმა შეადგინეს სია იმ ბიომაკრომოლეკულებისა, რომლებიც შეიძლებოდა შეეყვანათ ფილტვში, მაგრამ ბევრმა ამ პოტენციურმა მოლეკულამ ვერ მიაღწია ბაზრამდე. ამის მაგალითია კისტოზური ფიბროზის სამკურნალო ლოკალური საშუალება Pulmozyme (Roche). ეს არის თხევადი ინჰალაცია, რომელიც შეიცავს დორნარე ფორტეს სტერილურ წყალში, pH~7.0 (სხვა ექსციპიენტებია კალციუმის ქლორიდი და ნატრიუმის ქლორიდი). იგი ბაზარზე გამოჩნდა 1996 წელს. სხვა პროდუქტია Exubera (Pfizer),; იგი მოხსნილი იქნა გაყიდვიდან 2007 წლის ოქტომბრიდან, არა უსაფრთხოების ან ეფექტურობის მიზეზით, არამედ იმიტომ, რომ განკურნების ეფექტი ძალიან მცირე რიცხვი ავადმყოფებისათვის გამოიჩინა. Exubera არის ინსულინი ფხვნილის სახით; იგი შეიცავს აგრეთვე ნატრიუმის ციტრატს (დიჰიდრატს), მანიტოლს, გლიცინს, ნატრიუმის ჰიდროქსიდს, როგორც დამხმარე ნივთიერებებს.

ნაწილაკების ზომები ისე უნდა განაწილდეს, რომ საერთო მასის ნაწილი იყოს წვრილი ნაწილაკები, რომლებიც შეაღწევენ ღრმად - ფილტვებში. 1 მგ ინსულინის შემცველ ბლისტერში ასეთი ნაწილაკების შემცველობა 45%-მდე, ხოლო 3 მგ-იან ბლისტერში - 25%-მდე უნდა აღწევდეს. სხვაგვარად ეს გამოიწვევს თერაპიულ ინდიფერენტულობას. კომპანიები ამ დრომდე აწარმოებენ ინსულინის საინჰალაციო წამლის ფორმების სრულყოფას; ამის მაგალითებია: Novo Nordisk (AERx), Alkemes (AIR), MandKind Corporation (Technosphere® insulin), ასე რომ, ამ მიმართებით ცილა აქტიურ საინჰალაციო ფორმაში ჯერ კიდევ პერსპექტიული კვლევის საგანია.

ნაზალური გზით მიღება

პულმონარული შეყვანის გზის ალტერნატიულია ნაზალური გზა, რომლებიც ნაკლები მოთხოვნით ხასიათდებიან, განსაკუთრებით, ნაწილაკების ზომასთან დაკავშირებით, როცა საქმე მიდგება წამლის რეცეპტის შედგენასა და ტექნოლოგიაზე; ამის მაგალითებია Mirinin® (Ferring), desmopression, Suprecur® (Sanofi-Aventis), buserelin; ისინი წარმოადგენენ ცილებს ცხვირის წვეთებისა და ცხვირის აეროზოლების მოსამზადებლად, სადაც ბიოშეღწევადობამ შეიძლება დაახლოებით 3-დან 10%-მდე შეიძლება მიაღწიოს. ცილები აქ იხსნება გაწმენდილ წყალში, რომელიც შეიცავს კონსერვანტებს: ქლორბუთანოლს და ბენზალკონიუმის ქლორიდს. თუმცა შეიძლება უფრო უკეთესი მიწოდების სისტემები იქნას გამოყენებული. მაგალითად, ქიტოზანის (კაიტოზანის) შემადგენელი წამლის ფორმებს აღმოაჩნდათ 14-დან 15%-მდე ბიოშეღწევადობა კანქვეშ შესაყვან წამლის ფორმებში. ლიტერატურაში (Illum, Costantino და

სხვა, 2007 წ.) დაწვრილებით მოცემულია ნანონაწილაკების სისტემის გამოყენება ნაზალური წამლის ფორმების მოსამზადებლად, აქვე გამახვილებულია ყურადღება ფიზიკო-ქიმიურ და თერაპიულ ასპექტებზეც.

პერორალური გზით მიღება

ბიომაკრომოლეკულების, განსაკუთრებით ცილებისა და პეპტიდების, პერორალური მიღება წარმოადგენს მნიშვნელოვან პრობლემას, მაგრამ აქვს დიდი პოტენციალი. მაგალითებია: დესმოპრესინის ბაზარზე არსებული პრეპარატი Minirin® შელღობილი ტაბლეტები (პირდაპირი დაწნეხვით მიღებული ტაბლეტები) და გრანულატის დაწნეხვით მიღებული ტაბლეტები, Nocutil (Gebro Pharma); მათი ბიოშეღწევადობაა 0,25% და 0,1%, შესაბამისად. დაბალი ბიოშეღწევადობა, როგორც წესი, ამცირებს ბიომაკრომოლეკულის ამ გზით ორგანიზმში მოხვედრის ალბათობას, მაგრამ მიმდინარეობს ინტენსიური კვლევები ბიოშეღწევადობის გადიდებისათვის. ალტერნატიული გზაა კაფსულების სახით ბიომაკრომოლეკულის ნაწილაკების მაგალითად ქიტოზანის (კაიტოზანის) ან თიომერის შემცველი წამლის ფორმების გამოშვება. სუბლინგვალური წამლის ფორმა გამოიყენება Grazax® (ALK-Abello)-ს შემთხვევაში, ეს არის პირდაპირი დაწნეხვით მიღებული ტაბლეტები და შეიცავს ბალახის მტვერს, მაგრამ სისტემური ეფექტი აქ მოსალოდნელი არაა.

კანის გზით შეყვანა

ბიომაკრომოლეკულების ტრანსდერმალური ან დერმალური მიწოდება წარმოადგენს მნიშვნელოვან პრობლემას. კონცეფციის დამუშავება ემყარება ქიმიურ გენგამაძლიერებ-ლებს, იონოფორეზს და ელექტროფორეზს ელექტროფორაციასთან შერწყმით ან მიკროარხების რადიოსიხშირულ ფორმირებას.

მიკროკაფსულირება

ცილების მიკროკაფსულირების შედეგად პოლიმერულ მიკროსფეროებად ან მყარ მიკრონაწილაკებად, მიიღება მიკროკაფსულები. მათი საშუალებით მდგრადი ეფექტის მიღება შეიძლება ერთხელ დღე-ღამეში ან ერთხელ კვირაში მიღების დროსაც. მაგ. Zoladex (Astra Zeneca), სადაც გოზერელინი ჩაშენებულია აბსორბციის უნარის მქონე ლაქტიდ-გლიკოლიდის თანაპოლიმერის მატრიცაში, რომლიდანაც ხდება გოზერელინის გამოთავისუფლება 28 დღის განმავლობაში. პოლიმერულ მიკროსფეროებზე დაყრდნობით მიღებული ფარმაცევტული პროდუქტის სხვა მაგალითებია: Lupron depot (TAP Pharmaceutical Products Inc), Pamorelin® (Ipsen Scandinavia), Sandostatin LAR depot (Novartis) and Decapeptyl (Debiopharm). ზოგიერთი მათგანი მოწოდებულია იმპლანტანტის სახით, რომელთაგანაც ფარმაკოლოგიურად აქტიური ინგრედიენტი 28 დღის ან ერთი თვის განმავლობაში გამოთავისუფლდება ეტაპობრივად (Zoladex), ზოგი კი წარმოდგენილია სუსპენზიის სახით, რომელთაგან ხდება წამლის სტაბილური მიწოდება. Nutropin-დეპო არის ზრდის ჰორმონის გახანგრძლივებული პრეპარატი კვირაში ერთხელ მისაღებად. იგი წარმოადგენს ზრდის ჰორმონის (rhGH) მიკრონიზებული ნაწილაკების ბიოშეთავსებად და ბიოდეგრადირებად პოლილაქტიდ-თანაგლიკოლიდურ (PLG) მიკროსფეროებში ჩართვის შედეგად მიღებულ პრეპარატს; გამოჩნდა 1999 წელს და დატოვა ბაზარი 2004 წელს.

მიკროსფეროები მზადდება ცილის ინკაფსულირებით პოლიმერულ მატრიცაში, ან გამხსნელის აქროლებით, კოაცერვაციით, ლიოფილიზაციის, ან შრობით ფსევდოგათხევადებულ ფენაში (შრობა გაფრქვევით). ამ პროცესის მსვლელობაში ნჯღრევა ან სხვა სახის სტრესული ურთიერთქმედება, რომლებიც გამოიწვევენ ცილის შეხვეჭას (დენატურაციას), უნდა იყოს გამორიცხული ან დაყვანილი მინიმუმამდე. პეპტიდებისა და ცილების კონტროლირებადი მიწოდებისათვის გამოიყენება როგორც სინთეზური პოლიმერები, ასევე ბუნებრივი წყაროებიდან მიღებული და გასუფთავებული პოლიმერები. მასალის ამორჩევა შეიძლება დამოკიდებული იყოს სასურველ გამოთავისუფლებაზე, მიღების გზაზე, რადგან ზოგიერთი პოლიმერი ბიოდეგრადირებადია (დეგრადაციას განიცდის ბიოლოგიურ სისტემებთან ურთიერთქმედებით). გამოყენებული ზოგიერთი პოლიმერის მაგალითებია: ალგინატი, პოლი(ლაქტიდ-თანაგლიკოლის მჟავა) – PLGA, ქიტინი, ქიტოზანი (ხიტოზანი), ან ნატრიუმის ჰიალურონატი. პოლიმერული მიკროსფეროებისაგან გამოთავისუფლების მექანიზმებია დიფუზია, პოლიმერის დეგრადაცია ან ორივე მეთოდის კომბინაცია. თუმცა, მიკროსფეროების სახით ცილების

წარმოების მთავარი ნაკლია თავდაპირველი ,,აფეთქება“ და ინკაფსულირებული ცილების არასრული გამოთავისუფლება. ცილის რაოდენობა, რომელიც გამოთავისუფლდება მიკროსფეროებიდან მიახლოებით შეადგენს 28,2-54,7%-ს, მომდევნო დღეებში ყოველგვარი გამოთავისუფლების გარეშე. ამრიგად, წარმოდგენილია არასრული გამოთავისუფლება. არასრული გამოთავისუფლება უფრო მეტად წარმოიშობა მიკროსფეროებში წარმოშობილი არაკოვალენტური აგრეგატებისაგან ან ლიოფილიზაციის პროცესის გამო.

ნანონაწილაკები

ნანონაწილაკები ფორმირებული შეიძლება იყოს ზან-ებისაგან, პოლიმერებისაგან ან პოლიამინომჟავებისაგან. ძირითადი კონცეფციაა, რომ წარმოიქმნება სიცოცხლისუნარიანი ნაწილაკები; მათ შეუძლიათ შეინარჩუნონ ფორმა და გამოყენებული იქნან წამლის ფორმის მომზადების განმავლობაში; ეს ნაწილაკები არიან ნანომეტრული ზომების და სტაბილურნი. ნანონაწილაკების მაგალითია Medusa®, ფლამელ-ტექნოლოგიის პრინციპზე. წარმოიშობა 10-50 ნმ ზომის ნანონაწილაკები პოლი L-გლუტამატის ჩანერგვით ჰიდროფობურ α-ტოკოფეროლში (Medusa II), ან ნატურალური ლეიცინისა და გლუტამატ- ამინომჟავების სინთეზური თანაპოლიმერიზაციით (ლეი ჰიდროფობური და გლუ ჰიდროფობური)(Medusa I). ამფიფილური ტიპის პოლიამინოპოლიმერები უძღვებიან წყალში ნანონაწილაკების აწყობის თვითორგანიზაციას. დიდი მნიშვნელობა აქვს pH-ის მნიშვნელობას. Medusa I გამოიყენება ინსულინთან ერთად Basulin-ში, ეს არის ინსულინის კონტროლირებადი მიწოდების პირველი პრეპარატი; მასში გამოყენებულია ადამიანის ინსულინი და არა მისი ანალოგი; მაგალითად: Lantus (Lilly) და Levemir (Novo Nordick). სხვა მაგალითებია: ინსულინი ძვლის ინჟინერიის შემთხვევებისათვის (InductOs from Wyeth), როცა მის შემადგენლობაში რამდენიმე სხვადასხვა ტიპის ნანონაწილაკი იყო გამოცდილი.

მყარი ცხიმოვანი ნანონაწილაკები გამოიყენება ორივე - პარენტერალური და არაპარენტერალური წამლის ფორმების შემთხვევაში, რომელთა მიერ იქნება გადალახული ლორწოვანი გარსების, ჰემატოენცეფალური და სხვა ბარიერები. მყარი ცხიმოვანი ნანონაწილაკებისაგან ცილის გამოთავისუფლება ცილის ჩართვის მეთოდისაგან დამოუკიდებლად, შეიძლება იყოს სწრაფი, ერთდროული და არასრული.

ბიომაკრომოლეკულის ლიპიდური წამლის ფორმების სტაბილური მიწოდების ერთ-ერთი ყველაზე წარმატებული ხერხია ლიპოსომური სისტემები. მათში გადიდებულია შეხების ზედაპირი, რაც ჰიდრატაციის მოცულობას ზრდის. ამის მაგალითია პრეპარატი Depofoam™ (SkyePharma).

ქიმიური გამაძლიერებლები ეს არის ნივთიერებები, რომლებიც იწვევენ ბიოლოგიურ მემბრანებში ბიომაკრომოლეკულების გაღწევადობის გადიდებას. ქიმიური გამაძლიერებლების შემცველი ფარმაცევტული პროდუქტებია Eligen® და SMART. ელიგენის ტექნოლოგია დამყარებულია დაბალი მოლეკულური წონის კომპონენტების გამოყენებაზე, ხოლო სმარტი შეიცავს pH-ის მიმართ მგრძნობიარე და მემბრანის დესტაბილიზაციის გამომწვევ პოლიმერს, რომელიც აძლიერებს ბიომაკრომოლეკულის შეღწევას ციტოპლაზმაში. პოლიმერები არიან დაახლოებით ამგვარი: პირიდილდისულფიდაკრილატი, (პდსა), ან პოლიეთილარილის მჟავა(პეამ) და სხვა.

პეპტიდებისა და ცილების გარდაქმნა

ზოგიერთი მოსაზრებით, ცილის მიწოდებისა და ბიოლოგიური აქტივობის ამაღლების გზა არის თვით ობიექტის ტრანსფორმაცია. ცილის შემცველი წამლების ეფექტურობის ამაღლების საშუალებაა ცილის კონიუგაცია. კონიუგაცია შეიძლება განხილული იქნას, როგორც სამკურნალო ნივთიერების ერთი ან რამდენიმე მოლეკულის კოვალენტური კავშირით გაერთიანება. გამოყენებულია კონიუგაციის სხვადასხვა ხერხები. გლიკოზილაცია და ცხიმოვანი მჟავების მიერთება ე. ი. აცილაცია. გარდა ამისა , ცილების შეკავშირების დიდ ფართობზე ხდება პოლიმერების, მაგალითად პოლიეთილენგლიკოლის, მიმაგრება.

ბაზარზე არის ამინომჟავათა შემცვლელები ანუ ანალოგები, პოლიეთილენგლიკოლიზებული და აცილირებული ცილები, მაგალითად, Proleucin (Novartis), Humalogy (Lilly), NovoRapid (Novo Nordisk), Lantus® (Sanofy-Aventis) და Apidra (Sanofy-Aventis); აგრეთვე პოლიეთილგლიკოლიზებული ცილები:

Neulasta (Amgen), Pegasis (Roche), Somavert (Pfizer) და PegIntron (SP Europe); ასევე, აცილატები: Levemir (Novo Nordisk) და სხვა პრეპარატები.

ამინომჟავური თანამიმდევრობის ცვლილებები

ცილების სტაბილურობა, ბიოლოგიური აქტივობა და დისტრიბუცია შეიძლება შეიცვალოს ამინომჟავურ თანამიმდევრობაში ცვლილებებით. მთავარი მიზანია ფარმაკოლოგიური ეფექტის გადიდება. ცილის ფარმაკოლოგიური ეფექტის ცვლილება შესაძლებელია ამინომჟავური თანამიმდევრობის შეცვლით, ამინომჟავას დამატებით და სხვა ღონისძიებით.

გახანგრძლივებული მოქმედების მიღწევა შეიძლება ადამიანის ნატურალურ ინსულინში სამი ამინომჟავას შეცვლით: გლიცინის A-21 პოზიციაში და 2 არგინინის შეცვლით B-ჯაჭვის B-31 და B-32 პოზიციებში. ეს ცვლილებები იწვევენ ცილის მოლეკულის pI მაჩვენებლის 5,4-დან 7-მდე გადანაცვლებას, რასაც საბოლოოდ მივყავართ ცილის ხსნადობის ამაღლებამდე მჟავა არეში და უხსნადობამდე ნეიტრალური არეში. ეს გამოიწვევს დანალექის წარმოქმნას მიკროინექციების დროს. შემდეგში შენელებულია მიკროკრისტალური მდგომარეობიდან დანალექი ინსულინის შეწოვა და გაიზრდება მოქმედების ხანგრძლივობა; ასე წარმოიშობა პროლონგირებული მოქმედების ცილა.

წარმოების პროცესში შესაძლებელია გარდაქმნების ჩატარება სხვადასხვა მოდიფიკაციების მისაღებად, როგორიცაა ***პეგ-ილაცია, აცილაცია, გლიკოლიზაცია.*** ესენი კონიუგაციის სახეობებია.

ყველა ეს ღონისძიება იწვევს ცილის სტაბილურობის გადიდებას მისი მოქმედების პროლონგირებას და სხვა მიზნობრივ ცვლილებებს.

ანალიზის მეთოდები

ს ტ რ უ ქ ტ უ რ უ ლ ი გ ა ნ ს ა ზ ღ ვ რ ა

ცილისა და პეპტიდების სტრუქტურის მონაცემებს აქვს დიდი მნიშვნელობა. იგი ისაზღვრება მასს-სპექტრომეტრულად (MS).

ცილების სამგანზომილებიანი სტრუქტურა, მეორეული და მესამეული სტრუქტურა შეიძლება აღმოვაჩინოთ ფურიეს ინფრაწითელი სპექტროსკოპიით (FTIR), სინათლის წრიული პოლარიზაციის მეთოდით და ფლუორესცენციით. ცილის ზუსტი სტრუქტურის უზრუნველყოფა აუცილებელია ცილების ბიოლოგიური და ფარმაკოლოგიური აქტივობისათვის. დამხმარე მეთოდებად გამოიყენება, რენტგენო-კრისტალოგრაფია, ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსი, ფურიეს ტრანსფორმირებული ინფრაწითელი სპექტროსკოპია, ფლუორესცენტული სპექტროსკოპია და სხვა. ამათგან მრავალი მეთოდი გამოიყენება ცილოვანი ნივთიერებიდან წამლის ფორმის დამზადების შემდეგ დამხმარე ნივთიერების მიმატებით გამოწვეული ცვლილებების აღმოსაჩენად.

ს ტ ა ბ ი ლ უ რ ო ბ ი ს გ ა ნ ს ა ზ ღ ვ რ ა

წამლის ფორმაში შეიძლება წარიმართოს ფიზიკური და ქიმიური ცვლილებები. ფიზიკური სტაბილურობა ფასდება წამლის ფორმაში ცილის მოლეკულის ფიზიკური ცვლილებების, ანუ მეორეული, მესამეული და მეოთხეული სტრუქტურის ცვლილებების განსაზღვრით. ამას აღწევენ ხშირად შემდეგი მეთოდების გამოყენებით: ფურიეს ტრანსფორმირებული ინფრაწითელი სპექტროსკოპიით, სტერეოქიმიური განსაზღვრის მეთოდით (CD method), დიფერენციალური სკანირების კალორიმეტრიით (პროცესის მიმდინარეობისას გამოყოფილი ან შთანთქმული სითბოს რაოდენობის გაზომვაზე დამყარებული მეთოდების ერთობლიობაა). საჭიროების შემთხვევაში გამოიყენება მეთოდების კომბინაცია.

ნუკლეინის მჟავებზე დაფუძნებული წამლის ფორმები

ნუკლეინის მჟავებზე დაყრდნობილი მკურნალობა სულ უფრო მეტ ინტერესს იმსახურებს. გენჩანაცვლებითი თერაპია და გენური ვაქცინები არა მხოლოდ მიზანია, როგორც მაგალითად, ოლიგონუკლეოტიდები, რომლებიც თრგუნავენ ან ხვეჭენ სხვადასხვა ცილების ექსპრესიას, არამედ დღეისათვის ითვლებიან ეფექტურ და პერსპექტიულ თერაპიულ საშუალებებად კლინიკური კვლევებისათვის. ამჟამად დნმ-ვაქცინებისა და ოლიგონუკლეოტიდების რაოდენობა სულ უფრო და უფრო იზრდება შიდსი/აიდ-ინფექციების, კიბოს სხვადასხვა ეტაპისა და სახეობის, გულ-სისხლძარღვთა

და ნევროლოგიური დაავადებების, ასევე გენეტიკური დარღვევების, აუტოიმუნური და მეტაბოლური დაავადებების მკურნალობის დროს.

ერთ-ერთი ასეთი საშუალებაა 1998 წელს აშშ საკვებისა და წამლის ადმინისტრაციის (FDA) მიერ მოწონებული და დამტკიცებული იქნა შიდსით დაავადებული პაციენტების ციტომეგალოვირუსული რეტინიტის სამკურნალო საშუალებად Vitravene® (Ciba ვერსია/Isis Pharmaceuticals)-ს საინექციო ფორმა, რომელიც ამ მომენტში მარკეტინგიდან მოხსნილია. მეორე პროდუქტია, Macugen® (OSI Eyetech), რომელიც წარმოადგენს რნმ-ის ოლიგონუკლეოტიდის აპტამერს; იგი უკავშირდება სისხლძარღვების ენდოთელიუმის უჯრედსგარე ზრდის ფაქტორს. შემდეგი საშუალებებია Gendicine® (ჟენშენი SiBono GenTeach) და H101/Oncorine® (Shanghai Sunway Biotech); ისინი დამტკიცებულია ჩინეთის სახელმწიფო ორგანოების მიერ ქიმიოთერაპიის დამატებად კიბოს მკურნალობის დროს. ეს ბოლო ორი საშუალება არის დაფუძნებული ადენოვირუს ვექტორზე p53 გენის თერაპევტიკი.

გენური მედიცინის გამოყენება დიდად პერსპექტიულად გამოიყურება ნუკლეინის მჟავების თანამიმდევრობის მაღალი სპეციფიკურობის, მაღალი პოტენციალურობისა და მცირერიცხოვანი გვერდითი ეფექტების გამო. ამ საქმეში მთავარ პრობლემად რჩება და მუდმივი შესწავლისა და მეცნიერული ყურადღების ობიექტია ნუკლეინის მჟავებზე დაფუძნებული მზა სამკურნალწამლო საშუალებების სამიზნე ორგანოებამდე მიტანისა და უჯრედშიგა ტრანსპორტის საკითხები.

თავისი ბუნებით ნუკლეინის მჟავების შემცველი მზა წამლის ფორმები ხასიათდებიან მაღალი უარყოფითი მუხტით და ჰიდროფილური მაკრომოლეკულების ფერმენტაციული ლაბილობით, ამ სამკურნალო პრეპარატების ეფექტური მიწოდება ორგანოებსა და ქსოვილებში ხვდება ისეთივე წინააღმდეგობებს, როგორსაც პეპტიდებისა და ცილების შემთხვევაში აქვს ადგილი. ამიტომ ყველა ღონისძიება უნდა გატარდეს ამ პრობლემების დასაძლევად.

ნუკლეინის მჟავების არამოდიფიცირებული თანამიმდევრობები გაცილებით არასტაბილურია ბიოლოგიურ სისტემებთან კონტაქტის დროს, ვიდრე ბიოტექნოლოგიით მიღებული გენმოდიფიცირებული პროდუქტები. ისინი მოითხოვენ დეგრადაციისაგან ან ქიმიური გარდაქმნისაგან დაცვას; საჭიროა მათი ნახევარდაშლის პერიოდის გადიდება. სამკურნალო საშუალებაში ჩართავენ შაქარს ფუძე მოდიფიკაციასთან, რის შედეგადაც წარმოიშობა დაბლოკილი ნუკლეინის მჟავები - ჰეტეროციკლური მოდიფიკაციები, ცხიმოვანი მჟავებისა და ქოლესტერინის შერწყმის პროდუქტები. ამგვარი პერსპექტიული თერაპიული საშუალებაა HIF-1-ანტაგონისტი; ამჟამად მიმდინარეობს მისი კლინიკური კვლევა სიმსივნეებისა და ლიმფომების სამკურნალოდ.

პარენტერალური შეყვანის გზა უმნიშვნელოვანესი გზაა ნუკლეინის მჟავებისათვის, იმისაგან დამოუკიდებლად, გვსურს მივიღოთ სისტემური, თუ ადგილობრივი ეფექტები. შარდის ბუშტისა და სწორი ნაწლავის ფიბროზების სამკურნალოდ პოტენციურ შეყვანის გზებად მოიაზრება საინჰალაციო და პერორალური გზა. არაპარენტერალური მიწოდების დროს ფარმაცევტული შემავსებლების გამოყენებას სერიოზული მიდგომა სჭირდება, რადგან დამხმარე ნივთიერებებისა და კიდევ მრავალი სხვა ფაქტორის საშუალებით წამლის გადაადგილებისა და შეწოვის დროს ნუკლეინის მჟავების დანაკარგი მინიმუმამდე უნდა იქნას დაყვანილი; ინტრავენური ან კანქვეშ შეყვანისას ნუკლეინის მჟავას ფარმაცევტული პრეპარატების შემადგენლობაში დამცავი დამხმარე ნივთიერებების შეყვანა აუცილებელია და მეტად სარგებლიანია ,,შიშველი“ დნმ-ისა და რნმ-ის ინექციებთან შედარებით. ეს დამხმარე ნივთიერებები (მატარებლები) შეიძლება დაიყოს ვირუსულ და არავირუსულ მატარებლებად, ადენო- და რეტროვირუსებზე დაფუძნებულ ვირუსულ ვექტორებად.

ერთ-ერთი ყველაზე კარგად შესწავლილი მიწოდების სისტემის მაგალითია ლიპოსომები; ისინი შეიცავენ კათიონურ ლიპიდებს, რომლებშიც ბიომაკრომოლეკულები ჩაბუდებული (ინკაფსულირებული) არიან. ლიპოსომები ამსუბუქებენ მოქმედი ნივთიერების ურთიერთქმედებას პლაზმის მემბრანის უჯრედოვან კომპონენტებთან. ლიპოსომები შეიძლება შეიცვალოს პეგ-ით. ამ და სხვა ღონისძიებებით ხდება პლაზმის მემრანის შეღწევადობის გადიდება. ნუკლეინის მჟავების ქსოვილოვან სტრუქტურებში წარმატებული ტრანსპორტის სხვა თვალსაზრისია, კათიონური პეპტიდების ნუკლეინის მჟავებთან კონიუგატების ან კომპლექსების გამოყენება.

რეგულატორული ასპექტები

ევროკავშირის ფარგლებში ბიოტექნოლოგიური წამლის ფორმების სამგვარი ლიცენზირება არსებობს: ცენტრალური პროცედურები, ურთიერთაღიარების პროცედურები და ეროვნულ დონეზე რეგისტრაცია. ცენტრალური პროცედურა აუცილებელია ბიოტექნოლოგიური ფარმაცევტული

პრეპარატებისათვის და სავაჭრო ლიცენზია ევროკავშირის ყველა ქვეყნისათვის გაიცემა სამკურნალო საშუალებების შეფასების ევროპული სააგენტოს მიერ (EMEA). აშშ-ში FDA-ს ბიოპრეპარატების შეფასებისა და კვლევის ცენტრის მიერ. მოეთხოვებათ წარადგინონ პროდუქტის სტაბილურობის, ხარისხის, უსაფრთხოებისა და ეფექტურობის დამადასტურებელი. მარეგულირებელი ორგანოების დაადგენენ პროდუქტის სარგებელ-რისკს (ფარმაკოეპიდემიოლოგიური კვლევა).

დამატებითი ინფორმაციის მოპოვება ევროკავშირის ქვეყნებში რეგისტრაციის საკითხებზე შეიძლება ელექტრონულ მისამართზე http://www EMEA. eudra. ORG / EMEA. აშშ-ში რეგისტრაციის წესების შესახებ საიტზე: http://www.fda. gov/ default.htm.

თავი 3. გენმოდიფიცირებისათვის გამოყენებული ცოცხალი უჯრედები

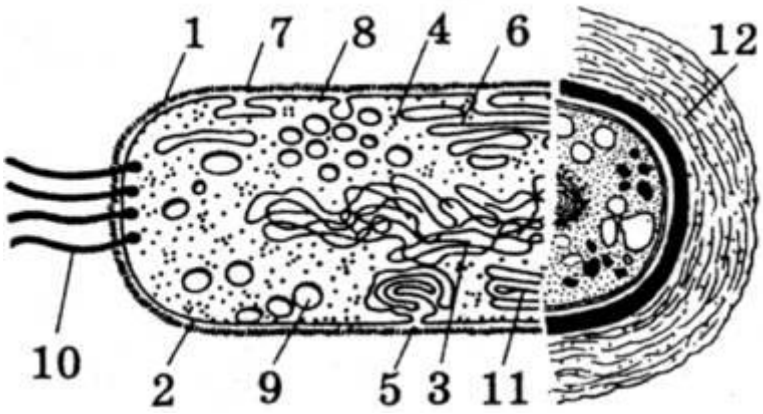
ბიოტექნოლოგიური პროცესისათვის დიდი მნიშვნელობა აქვს ბიოლოგიური სისტემის (მიკროორგანიზმები, მწერების მცენარეებისა და ძუძუმწოვრების უჯრედული ხაზები) ხასიათს. უმრავლეს შემთხვევაში სწორედ გენეტიკურად მოდიფიცირებული თვითწარმომქმნელი ბიოლოგიური ერთეული (მიკროორგანიზმი, ვირუსი, მცენარე ან ცხოველი) წარმოადგენს კომერციულ ინტერესს.

პროკარიოტები და ეუკარიოტები. მიღებულია ყველა ცოცხალი ორგანიზმის დაყოფა ორ ძირითად ჯგუფად: პროკარიოტებად და ეუკარიოტებად. დაახლოებით 1,5 მილიარდი წლის უკან შედარებით მარტივი შინაგანი აგებულების პატარა უჯრედებიდან ე. წ. პროკარიოტებიდან, მოხდა გადასვლა დიდი ზომის და მნიშვნელოვნად უფრო რთულ, აგებულებით უმაღლესი ცხოველებისა და მცენარეების უჯრედების მსგავს, ეუკარიოტულ უჯრედებზე.

პრო- და ეუკარიოტების ძირითადი სტრუქტურული განსხვავებანი:

- აქვს ან არა აქვს ქრომოსომული დნმ-ის შემცველი ბირთვი;
- უჯრედის გარსის აგებულება და ქიმიური შემადგენლობა;
- აქვს ან არა აქვს ქვეუჯრედოვანი ციტოპლაზმური ორგანოიდები.

პროკარიოტულ ბაქტერიულ უჯრედში ქრომოსომული დნმ უშუალოდ ციტოპლაზმაში იმყოფება, უჯრედი შემოსაზღვრულია რიგიდული გარსით. უჯრედში არაა სუბუჯრედოვანი ციტოპლაზმური ორგანოიდები. ოპტიმალურ პირობებში პროკარიოტული უჯრედი შეიძლება ყოველ 20 წუთში გაიყოს და დღე-ღამის განმავლობაში წარმოქმნას 10 მილიარდი უჯრედი.

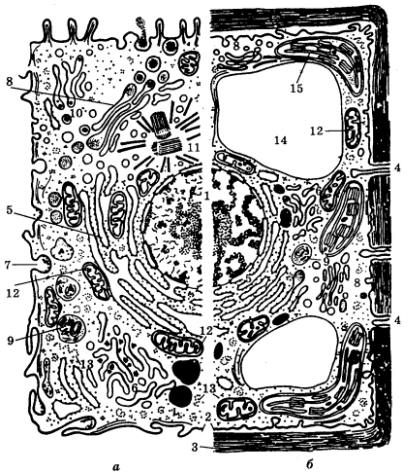


ნახ.1. პროკარიოტული უჯრედის აგებულება: 1 - უჯრედის გარსი; 2 - პლაზმური მემბრანა; 3 - ნუკლეოიდის დნმ; 4 - ციტოპლაზმის პოლირიბოსომები; 5 - მეზოსომა; 6 - ლამილარული სტრუქტურები; 7 - პლაზმალემის ხლართები впячивания плазмалеммы; 8 - ქრომატოფორები; 9 - ვაკუოლები ჩანართებით; 10 - ბაქტერიული ჩალიჩები жгутики; 11 – пластинчатые ფირფიტისებური ტილაკოიდები тилакоиды, 12 - ლორწოვანი კაფსულები.

ეუკარიოტულ უჯრედს აქვს ბირთვი, რომელიც გამოყოფილია ციტოპლაზმისაგან ბირთვის მემბრანით; ქრომოსომული დნმ იმყოფება ბირთვში. ციტოპლაზმაში არის სხვადასხვა სუბუჯრედოვანი ორგანოიდები: ბირთვის შემომსაზღვრავი მემბრანები, მიტოქონდრიები, რომლებიც წარმოშობენ ენდოპლაზმური რეტიკულუმის (ეპრ) ლაბირინთს, სადაც სინთეზირდება ლიპიდები და მემბრანული ცილები. მემბრანები წარმოშობენ გამკვრივებული ბუშტუკების დასტებს, რომლებიც ქმნიან გოლჯის აპარატს; იგი მონაწილეობს სხვადასხვა ორგანული მოლეკულების სინთეზში და ტრანსპორტში. მემბრანები გარს ეკვრიან *ლიზოსომებს* (0,2-0,5 მკმ დიამეტრის სუბუჯრედოვანი სტრუქტურები), რომლებიც საჭმლის მონელებისათვის აუცილებელ ჰიდროლიზურ ფერმენტებს შეიცავენ. ამგვარად, მემბრანები თვით უჯრედის ცილებსა და ნუკლეინის მჟავებს იცავენ ამ ფერმენტების ზემოქმედებისაგან. მემბრანებითაა შემოსაზღვრული აგრეთვე პეროქსისომები, ისინი შეიცავენ დამჟანგავ ფერმენტებს, რომლებიც წარმოშობენ და შლიან საშიშ მაღალრეაქციიულ ზეჟანგებს (პეროქსიდებს).

განასხვავებენ ბაქტერიების ორ ჯგუფს - ეუბაქტერიებს, რომლებიც სახლობენ ნიადაგში, წყალსა და სხვა ორგანიზმებში და არქეობაქტერიებს, რომლებიც გვხვდება ჭაობებში, ოკეანის სიღრმეში, ძალიან მარილიან წყლებში და ცხელ მჟავე წყაროებში.

იმ ტემპერატურული რეჟიმიდან გამომდინარე, რომელიც ურჩევნია ამა თუ იმ ბაქტერიას, მათ ყოფენ თერმოფილებად (45-დან 90^0 C და ზემოთ), მეზოფილებად ((10-დან 47^0 C) და ფსიქროფილებად ანუ ფსიქროტროფებად (-5-დან 90^0 C). მიკროორგანიზმები, რომლებიც ტემპერატურის მხოლოდ განსაზღვრულ დიაპაზონში მრავლდებიან, - სასარგებლო ინსტრუმენტია სხვადასხვა ბიოტექნოლოგიური ამოცანების გადასაჭრელად.



ნახ. 2. ეუკარიოტული უჯრედის აგებულება:

ა) - ცხოველური უჯრედი, ბ) - მცენარეული უჯრედი. 1 - ბირთვი ქრომატინით და ბირთვაკით; 2 - პლაზმური მემბრანა; 3 - უჯრედის გარსი; 4 - პლაზმოდესმა; 5 - ხორკლიანი ენდოპლაზმური ბადე; 6 - გლუვი რეტიკულუმი; 7 - პინოციტოზური ვაკუოლი; 8 - გოლჯის აპარატი; 9 - ლიზოსომა; 10 - ცხიმოვანი ჩანართები გლუვ ბადეში (რეტიკულუმში); 11 - ცენტრიოლები და ცენტროსფეროს მიკრომილაკები; 12 - მიტოქონდრიები; 13 - ჰიალოპლაზმის პოლირიბოსომები; 14 - ცენტრალური ვაკუოლი; 15 - ქლოროპლასტი.

მრავალრიცხოვან ბიოობიექტთა შორის, რომლებიც გამოიყენება მოლეკულურ ბიოტექნოლოგიაში ,,მუშა ხარის“ როლს ასრულებენ ბაქტერიები: ***Esherichia coli,*** ერთუჯრედოვანი სოკო ***Sacharomyces cerevisiae*** და ცხოველური წარმოშობის სხვადასხვა უჯრედული ხაზები. ყველა ისინი ასრულებენ მთავარ როლს კლონირებული გენების მიერ კოდირებული ცილების მიღებაში.

E. coli - გრამუარყოფითი არაპათოგენური მოძრავი ჩხირია სიგრძით 1 მკმ-ზე მცირე ზომის. ტრადიციულად იგი ადამიანის ნაწლავში ბინადრობს, მაგრამ შეიძლება ამოითესოს ნიადაგიდან და წყლიდანაც. E. coli-ის შტამების კულტივირება ხდება გამდიდრებულ თსევად საკვებ ნიადაგებზე, რომლებიც ამინომჟავებს, ვიტამინებს, მარილებს, მიკროელემენტებს და ნახშირბადის წყაროს შეიცავს. მისი კულტივირება შესაძლებელია აერობულ და ანაერობულ პირობებში, მაგრამ რეკომბინანტული ცილების უკეთ პროდუცირების მიზნით E.coli და სხვა მიკროორგანიზმები ჩვეულებრივ გამოყავთ აერობულ პირობებში. სწორედ ამიტომ ფერმენტაციისას აერაციაზეა დამოკიდებული უჯრედული მასის ზრდა და პროდუქტიულობა.

E. coli-ის გარდა მოლეკულურ ბიოტექნოლოგიაში გამოყენებული მრავალრიცხოვანი მიკროორგანიზმები ორ ჯგუფად იყოფა:

1. მიკროორგანიზმები, როგორც სპეციფიკური გენების წყარო და
2. მიკროორგანიზმები, რომლებიც შექმნილი გენური ინჟინერიით განსაზღვრული ამოცანების შესასრულებლად.

Sacharomyces cerevisiae - არაპათოგენური ერთუჯრედიანი ორგანიზმია უჯრედის დიამეტრით 5 მკმ. ზოგიერთი თვისებით E. Coli-ის ეუკარიოტულ ანალოგს წარმოადგენს. Sacharomyces cerevisiae დაკვირტვით მრავლდება; მის მიერ შაქრის ეთანოლად და ნახშირორჟანგად გარდაქმნის თვისება უძველესი დროიდან გამოიყენებოდა სასმელების მომზადებაში და პურის აფუების დროს. საფუვრის უჯრედები ყოველ 1,5-2 საათში იყოფა იგი არის მოსახერხებელი სხვა ეუკარიოტების, მათ შორის ადამიანის, კვლევის დროს, რადგან ბევრი გენი, რომელიც უჯრედების გაყოფის რეგულაციაზეა პასუხისმგებელი, ადამიანის ასეთივე გენების მსგავსია. ამან ხელი შეუწყო ადამიანის იმ გენების იდენტიფიკაციას და დახასიათებას, რომლებიც ახალწარმონაქმნების განვითარებაზე არიან პასუხისმგებელი. საფუვრების გენეტიკური სისტემა ადამიანის დნმ-ის შესწავლისათვის ჩატარებული ყველა კვლევის გარდაუვალი მონაწილეა.

ბაქტერიული უჯრედის მიერ გამომუშავებული ეუკარიოტული ცილა ხშირად განიცდის ფერმენტაციულ მოდიფიცირებას, რა დროსაც ცილის მოლეკულას უერთდება დაბალმოლეკულური ნაერთები, რომლებიც ცილის სწორი ფუნქციონირებისათვისაა აუცილებელი. თუმცა E. coli -ის და სხვა პროკარიოტებს არ შეუძლიათ ამ მოდიფიკაციის განხორციელება, ამიტომ სრულფასოვანი ეუკარიოტული ცილების მისაღებად გამოიყენება Sacharomcyes cerevisiae და საფუვრის სხვა სახეობები.

მოლეკულურ ბიოტექნოლოგიაში ბიოლოგიური სისტემის სახით გამოიყენება ეუკარიოტული უჯრედების კულტურა. განსაზღვრული ორგანიზმის (მწერის, მცენარის, ძუძუმწოვრის) ქსოვილის ნაკუწს დაამუშავებენ პროტეოლიტური ფერმენტებით (ტრიფსინით), რომლებიც გახლეჩენ უჯრედშორისი მასალის ცილებს; მცენარეულ უჯრედებთან მუშაობისას იყენებენ ისეთ ფერმენტებს, რომლებიც შლიან უჯრედის გარსს. გამოთავისუფლებულ უჯრედებს ათავსებენ ამინომჟავების შემცველ საკვებ ნიადაგში, უმატებენ ანტიბიოტიკებს, ვიტამინებს, მარილებს, გლუკოზას, ზრდის ფაქტორებს. ასეთ პირობებში (ძუძუმწოვრების უჯრედის დაყოფა მაგალითად წარმოებს დღე-ღამეში ერთხელ) კულტურიანი ჭურჭლის კედელზე წარმოიშობა ცალფენა უჯრედული შრე. თუ ამის მერე უჯრედებს ახალ საკვებნიადაგიან ჭურჭელში არ გადავიტანთ, მათი ზრდა შეწყდება. ჩვეულებრივ ხერხდება საწყისი უჯრედული კულტურის 5-100 უჯრედული გენერაციის გადატანა (სუბკულტივირება,ტრანსპლანტაცია) და შენახვა, ამის შემდეგ უჯრედები კარგავენ დაყოფის უნარს და იღუპებიან.

უჯრედულ მიკრობიოლოგიაში მდგრადი ხაზები გამოიყენება ვაქცინებისა და რეკომბინანტული ცილების მსხვილმასშტაბიანი წარმოებისათვის, ვირუსების გამრავლებისათვისა და ცილების გამოვლენისათვის, რომლებიც კოდირდებიან დნმ-ის კლონირებული თანამიმდევრობებით.

თავი 4. ნუკლეინის მჟავები და ცილის სინთეზი

მარტივი ორგანული მოლეკულები, ისეთები, როგორიცაა ამინომჟავები ან ნუკლეოტიდები, ერთდებიან დიდ პოლიმერულ მოლეკულებად. ორი ამინომჟავა ერთმანეთს უკავშირდება პეპტიდური ბმით, ორი ნუკლეოტიდი კი - ფოსფოდიეთერული ბმით. ამ რეაქციების თანამიმდევრულ განმეორებას მივყავართ ხაზოვანი პოლიმერების წარმოქმნამდე, რომელთაც შესაბამისად ეწოდება პოლიპეპტიდები და პოლინუკლეოტიდები. პოლიპეპტიდები ანუ ცილები და პოლინუკლეოტიდები დნმ-ისა და რნმ-ის ფორმით ითვლება უფრო მნიშვნელოვან კომპონენტებად. უნივერსალური სამშენებლო მასალა, რომლისაგანაც შედგება ცილები, - ესაა სულ ოციოდე ამინომჟავა, ხოლო დნმ-ისა და რნმ-ის მოლეკულები აგებულია მხოლოდ ოთხი ტიპის პოლინუკლეოტიდებისაგან. უჯრედი შეიცავს ორივე ტიპის პოლინუკლეოტიდს - დნმ-სა და რნმ-ს; ევოლუციის პროცესში ისინი დახელოვნებულნი არიან და მუშაობენ თანაზიარ, ასრულებს-რა თითოეული თავის ფუნქციას. პოლინუკლეოტიდების სტრუქტურა კარგადაა შეგუებული ინფორმაციის შენახვისა და გადაცემის ფუნქციას. მათ შორის დნმ გენეტიკური ინფორმაციის საცავია იმდენად, რამდენადაც მისი მოლეკულა გაცილებით სტაბილურია, ვიდრე რნმ მოლეკულა. ნაწილობრივ ეს განპირობებულია იმით, რომ რნმ-ში ორი ჰიდროქსილის არსებობა უმეტესწილად იწვევს მის ჰიდროლიზს.

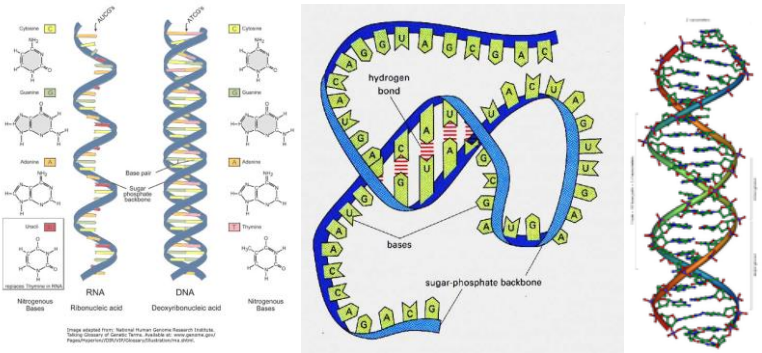
ნებისმიერი ცოცხალი ორგანიზმის აგებულებისა და ფუნქციონირების მთელი ინფორმაცია კოდირებული სახით ჩაწერილია მის გენეტიკურ მასალაში, რომლის საფუძველს წარმოადგენს დნმ. დნმ - გრძელი ორჯაჭვიანი პოლიმერული მოლეკულაა. ამ გიგანტურ ორმაგთასმიან ხვეულ მოლეკულაში ,,ჩაწერილია“ ორგანიზმის ყველა ნიშან-თვისება. მის ერთ ჯაჭვში მონომერული ერთეულების (დეზოქსირიბონუკლეოტიდების) თანმიმდევრობა შეესაბამება დეზოქსირიბონუკლეოტიდების თანმიმდევრობას მეორეში. ამას კომპლემენტარობის პრინციპი ეწოდება, ხოლო ჯაჭვებს - კომპლემენტარული. კომპლემენტარობის პრინციპი უზრუნველყოფს რეპლიკაციის შედეგად წარმოშობილი ახალსინთეზირებული დნმ-ის მოლეკულებისა და საწყისი მოლეკულების იდენტურობას.

კომპლემენტარული მატრიცული პირგადაღების (კოპირების) პროცესს ცენტრალური ადგილი უჭირავს ბიოლოგიურ სისტემებში ინფორმაციის გადატანის საქმეში. თითოეული უჯრედის გენეტიკური ინფორმაცია კოდირებულია მისი პოლინუკლეოტიდების აზოტოვანი ფუძეების თანამიმდევრობაში და ეს ინფორმაცია თაობიდან თაობას გადაეცემა ფუძეების შეწყვილების კომპლემენტარულობის გამო.

მკაცრად სპეციფიკური ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის ინდივიდუალურ გენეტიკურ ელემენტებს, რომლებიც აკოდირებენ ფუნქციონალურ ცილებს ან რნმ-ს, წარმოადგენენ **გენები.** გენები იმყოფება უჯრედის ბირთვში, ქრომოსომებში. ზოგიერთ გენში მხოლოდ 800 წყვილი ნუკლეოტიდია, ზოგში კი მათი რაოდენობა მილიონს აღწევს. ადამიანს 80-90 ათასი გენი აქვს. ერთი წყება გენებისა, რომლებსაც სტრუქტურულს უწოდებენ, ახდენენ ცილების კოდირებას, მეორენი - მხოლოდ რნმ-ის მოლეკულებისას. იმ გენებში არსებული ინფორმაცია, რომლებიც ახდენენ ცილების კოდირებას, ორი თანამიმდევრულ პროცესში იშიფრება: <u>რნმ-ის სინთეზში, რომელიც ატარებს ტრანსკრიპციის სახელწოდებას და ცილის სინთეზში, რომელიც ატარებს ტრანსლაციის სახელწოდებას.</u> თავდაპირველად დნმ-ის განსაზღვრულ უბანზე, როგორც მატრიცაზე, მოხდება მატრიცული რნმ-ის სინთეზი (მას ეწოდება ინფორმაციული, ანუ მატრიცული რნმ - მ-რნმ). ცხოველურ უჯრედებში ეს პროცესი ბირთვში ხორციელდება. შემდეგ სატრანსპორტო რნმ-ის (ტ-რნმ), მ-რნმ-ის, ფერმენტებისა და სხვადასხვა ცილოვანი ფაქტორების შეთანხმებული მუშაობით ხდება ინფორმაციის გადატანა ბირთვიდან ციტოპლაზმაში; საბოლოოდ აქ ხდება ცილის მოლეკულის სინთეზი. ყველა ეს პროცესი უზრუნველყოფს დნმ-ში დაშიფრული გენეტიკური ინფორმაციის ნუკლეოტიდების ენიდან ამინომჟავების ენაზე სწორ თარგმანს (გადაყვანას). ცილის მოლეკულის ამინომჟავური თანა

მიმდევრობა ერთმნიშვნელოვნად აძლევს გეზს მის სტრუქტურასა და ფუნქციებს. ნუკლეოტიდები, როგორც დნმ-ის, რნმ-ის ქვეერთეულები, გამოდიან აგრეთვე ენერგიის გადამტანის როლში.

დნმ სტრუქტურულად (ნახ. 3) ხაზოვანი პოლიმერია. მისი მონომერული ერთეულები - ნუკლეოტიდები შედგებიან აზოტოვანი ფუძეების, ხუთნახშირბადიანი შაქრებისა (პენტოზებისაგან) და ფოსფატური ჯგუფებისაგან. ფოსფატური ჯგუფი შეერთებულია მონოსაქარიდული ნაშთის ნახშირბადის 5` ატომთან, ხოლო ორგანული ფუძე - 1` ატომთან. თითოეულ ნუკლეოტიდს მასში შემავალი უნიკალური ფუძის მიხედვით მინიჭებული აქვს სახელწოდება. დნმ-ში ორი ტიპის ფუძეა - პურინული (ადენინი - A და გუანინი - G) და პირიმიდინული (ციტოზინი - C, თიმინი - T, ურაცილი - U).



ნახ. 3. დნმ-ისა და რნმ-ის სტრუქტურა

ნუკლეოტიდები არსებობენ ორი ოპტიკური იზომერის სახით - L და D. თავისი ნუკლეოტიდების მშენებლობისათვის, ყოველგვარი გამონაკლისის გარეშე, ყველა ცოცხალი ორგანიზმი იყენებს D ფორმას. სულ უმნიშვნელო რაოდენობის L ფორმის ნუკლეოტიდიც კი, ახდენს დნმ-ის სინთეზირებისათვის აუცილებელი ფერმენტების ინჰიბირებას ან მთლიანად ბლოკირებას.

დნმ-ში მონოსაქარიდი წარმოდგენილია 2`-დეზოქსირიბოზით, რომელიც ერთი ჰიდროქსილის ჯგუფს შეიცავს, რნმ-ში - რიბოზით, რომელსაც 2 ჰიდროქსილის ჯგუფი აქვს. ნუკლეოტიდები ერთმანეთთან ფოსფოდიეთერული ბმებითაა შეერთებული; ამასთანავე ერთი ნუკლეოტიდის 5`-ნახშირნადატომის ფოსფატური ჯგუფი მეზობელი ნუკლეოტიდის დეზოქსირიბოზის 3`-OH ჯგუფთანაა შეერთებული

ნატივური დნმ შედგება სპირალურად დახვეული ორი პოლიმერული ჯაჭვისაგან. ერთიმეორეზე გადაგრაგნილ პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვებს ერთმანეთთან აკავებს დაპირისპირებული ჯაჭვების კომპლემენტარულ ფუძეებს შორის წარმოშობილი წყალბადური ბმები. ამასთანავე ადენინი მხოლოდ თიმინთან წყვილდება, გუანინი კი - ციტოზინთან. პირველი წყვილი გამდგრადებულია ორი წყალბადური ბმით, ხოლო მეორე - სამით. ორჯაჭვიანი დნმ-ის სიგრძე ჩვეულებრივ იზომება კომპლემენტარული ნუკლეოტიდების წყვილთა რიცხვით. მაგ., ერთი ადამიანი ქრომოსომის დნმ წარმოადგენს 263 მილიონი წყვილი ნუკლეოტიდის სიგრძის მქონე ერთ ორმაგ სპირალს.

მოლეკულის საქაროფოსფატული შემადგენლობა, რომელიც შეიცავს ფოსფატურ ჯგუფებს და დეზოქსირიბოზულ ნაშთებს, შეერთებულია 5`-3` ფოსფოდიეთერული ბმებით და ქმნის ,,ხვეული კიბის გვერდულებს“ , ხოლო წყვილები - ადენინ-თიმინი და გუანინ-ციტოზინი, ,,მისი საფეხურებია“. დნმ-ის მოლეკულის ჯაჭვები ანტიპარალელურია; ერთ-ერთ მათგანს აქვს მიმართულება 3` 5`, ხოლო მეორეს - 5` 3`. ნუკლეოტიდებს წყვილებად იმიტომ თვლიან, რომ დნმ-ის მოლეკულაში ორი ჯაჭვია და მათი ნუკლეოტიდები შეერთებულია წყვილ-წყვილად განივი ბმებით.

გენეტიკური ინფორმაციის მატარებელი ორ მოთხოვნას უნდა აკმაყოფილებდეს - მაღალი სიზუსტით უნდა ხდებოდეს მათი *რეპლიცირება (კვლავწარმოება, გამეორება)* და ახდენდნენ ცილოვანი მოლეკულების სინთეზის *დეტერმინირებას (კოდირებას).* კომპლემენტარობის პრინციპის თანახმად, დნმ-ის ყოველი ჯაჭვი შეიძლება მატრიცად გამოდგეს ახალი კომპლემენტარული ჯაჭვის წარმოშობისას. როცა უჯრედი დააპირებს გაყოფას, უშუალოდ ამის წინ იგი გადააკოპირებს დნმ-ის მოლეკულას თავის რიბოსომებში. ამ დროს დნმ-ის ორი ძაფი ერთმანეთს სცილდება და თითოეულ მათგანზე, როგორც მატრიცაზე, აიკრიბება შვილეული ძაფი, რომელიც ზუსტად იმეორებს იმას, რომელიც ამ ძაფზე იყო მიერთებული დედისეულ უჯრედში. შედეგად ჩნდება ორი იდენტური

შვილეული ქრომოსომა, რომლებიც გაყოფისას გადანაწილდება სხვადასხვა უჯრედში. ასე ხდება მემკვიდრული ნიშან-თვისებების გადაცემა მშობლებიდან შთამომავლობაზე ბირთვის მქონე ყველა უჯრედულ ორგანიზმში. რეპლიკაციის ყოველი რაუნდის შედეგად წარმოიშობა ორი შვილეული მოლეკულა, რომელთაგანაც თითოეულს აქვს ისეთივე ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა, როგორც დნმ-ის საწყის მოლეკულას. სტრუქტურული გენის ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა ერთმნიშვნელოვნად იძლევა მის მიერ კოდირებული ცილის ამინომჟავურ თანამიმდევრობას. მაშასადამე, დნმ-ის ყოველი ჯაჭვი წარმოადგენს მატრიცას ახალი კომპლემენტარული ჯაჭვის სინთეზის დროს, ხოლო ფუძისა და მზარდი (სინთეზირებადი) ჯაჭვების თანმიმდევრობა არის ისეთივე, როგორც მატრიცა-ჯაჭვის კომპლემენტარული ფუძეების თანმიმდევრობა.

დნმ-ის სინთეზი პრო- და ეუკარიოტებში ხორციელდება მრავალრიცხოვანი სხვადასხვაგვარი ფერმენტების მონაწილეობით. მათგან ძირითადია დნმ-პოლიმერაზა, რომელიც თანამიმდევრულად აერთებს მზარდი პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვის რგოლებს კომპლემენტარობის პრინციპის თანახმად და ახდენს ფოსფოლიპიდური ბმების წარმოქმნის კატალიზს.

დნმ-ის გაყოფისათვის ნიადაგად დამუშავებულია სპეციალური გელი აგაროზის ფუძეზე (აგაროზა პოლისაქარიდია, რომელიც გამოყოფილია ზღვის წყალმცენარეებიდან). შემოთავაზებულია გელ-ელექტროფორეზის მოდიფიკაცია აგაროზულ გელში; მას ეწოდება *პულსელექტროფორეზი* და იგი იძლევა დნმ-ის დიდი მოლეკულების დაყოფის საშუალებას.

გარკვეულია მრავალი ძუძუმწოვრის გენების ნუკლეოტიდების თანმიმდევრობა, იმ გენების ჩათვლით, რომლებიც ახდენენ ჰემოგლობინის, ინსულინის, ციტოქრომ C-ს კოდირებას. დნმ-ის შესახებ ინფორმაცია ისე დიდია (მრავალი მილიონი ნუკლეოტიდი), არსებული მონაცემების შენახვისა და გადამუშავებისათვის საჭიროა მძლავრი კომპიუტერები.

იმის გასაგებად, რომელი გენებია აქტიური ამა თუ იმ ტიპის უჯრედებში (სპეციფიკური თანამიმდევრობების იდენტიფიკაცია), იყენებენ ***დნმ-ფუთპრინტინგის*** მეთოდს. დნმ-ის ფრაგმენტებს ნიშნავენ P^{32} -ით, შემდეგ გახლეჩენ ნუკლეაზებით, გაანაწილებენ გელზე და გამოამჟღავნებენ რადიოავტოგრაფზე. თუ წყლიან ხსნარს გააცხელებენ 100^0 C-ზე და ძლიერ შეატუტიანებენ (pH 13-მდე), ორმაგი სპირალების ორი ჯაჭვის გამამაგრებელი ფუძეების კომპლემენტარული წყვილები დაიშლება და დნმ სწრაფად დისოცირდება ორ ჯაჭვად. ეს პროცესი, რომელსაც ეწოდება *დნმ-ის დენატურაცია,* ადრე შეუქცევლად ითვლებოდა, მაგრამ თუ დნმ-ის კომპლემენტარულ ჯაჭვებს დავაყოვნებთ 65^0 C-ზე, ისინი ადვილად შეწყვილდებიან და აღიდგენენ ორმაგი სპირალის სტრუქტურას; ამ პროცესმა მიიღო *რენატურაციის* სახელწოდება.

გენების დიდი უმრავლესობა კოდირებული სახით შეიცავს ინფორმაციას ცილების სინთეზის შესახებ. პოლიპეპტიდებისათვის დამახასიათებელია დიდი უნივერსალურობა, ისინი შედგებიან ქიმიურად მრავალფეროვანი გვერდითჯაჭვიანი ამინომჟავებისაგან და უნარი აქვთ მიიღონ სხვადასხვა სივრცული ფორმები, რომლებშიც მრავლადაა რეაქციისუნარიანი უბნები. პოლიპეპტიდების თვისებები იდეალურად შესაფერისია სხვადასხვაგვარი სტრუქტურული და ფუნქციური ამოცანების შესასრულებლად. ცილები ცოცხალ ორგანიზმში მიმდინარე თითქმის ყველა პროცესის მონაწილე ხდებიან, ისინი არიან ბიოქიმიური რეაქციების კატალიზატორები, ახორციელებენ ტრანსპორტს უჯრედშიგნით და უჯრედებს შორის, აწესრიგებენ უჯრედის მემბრანების შეღწევადობას, მათგან ხდება სხვადასხვა სტრუქტურული ელემენტების აგება. ცილები ცოცხალი ორგანიზმის არა მხოლოდ ძირითადი სამშენებლო მასალაა, ბევრი მათგანი უჯრედული პროცესების წარმმართველი ფერმენტია. უჯრედში ცილები მონაწილეობენ მამოძრავებელი ფუნქციის განხორციელებაში, უზრუნველყოფენ მის დაცვას ინფექციისა და ტოქსინებისაგან, აწესრიგებენ დანარჩენი გენური პროდუქტების სინთეზს.

ყველა ამინომჟავას (ცხრილი 1.) აქვს მსგავსი ქიმიური აგებულება: ნახშირბადის ცენტრალურ ატომთან მიერთებულია წყალბადის ატომი, ამინოჯგუფი, კარბოქსილის ჯგუფი და გვერდითი ჯაჭვი. არსებობს 20 სხვადასხვა გვერდითი ჯგუფი და შესაბამისად 20 ამინომჟავა. მაგ. ამინომჟავა ალანინში გვერდით ჯაჭვს წარმოადგენს მეთილის ჯგუფი.

ც ხ რ ი ლ ი 1.

ამინომჟავები და მათი აღნიშვნები

1	ალანინი	A	11	ლეიცინი	L
2	არგინინი	R	12	ლიზინი	K

3	ასპარაგინი	N	13	მეთიონინი	M
4	ასპარაგინის მჟავა	D	14	პროლინი	P
5	გლიცინი	G	15	სერინი	S
6	გლუტამინი	Q	16	ტრეონინი	T
7	გლუტამინის მჟავა	ε	17	ტრიფტოფანი	W
8	ვალინი	V	18	ფენილალანინი	F
9	თიროზინი		19	ცისტეინი	C
10	იზოლეიცინი	I	20	ჰისტიდინი	H

პეპტიდური ბმა წარმოიშობა ერთი ამინომჟავას კარბოქსილურ ჯგუფსა და მეორის ამინოჯგუფს შორის. ცილის მოლეკულის პირველ ამინომჟავას აქვს თავისუფალი ამინოჯგუფი (N - ბოლო), უკანასკნელს - თავისუფალი კარბოქსილის ჯგუფი (C - ბოლო).

ცილოვანი მოლეკულის სიგრძე მერყეობს 40-სა და 1000 ამინომჟავურ ნაშთს შორის; მათ თანამიმდევრობასთან დაკავშირებით და ამინომჟავური შემადგენლობის მიხედვით, ცილის მოლეკულები იღებენ სხვადასხვა ფორმას (კონფიგურაციას, კონფორმაციას). ფუნქციურად აქტიური მრავალი ცილა შედგება ორი და მეტი როგორც იდენტური, ასევე მცირედ განსხვავებული პოლიპეპტიდური ჯაჭვისაგან. საკვანძო ფუნქციის მქონე ცილები ცილოვანი რთული კომპლექსებია, რომლებიც მრავალი სხვადასხვა პოლიპეპტიდური ჯაჭვისაგან - სუბერთეულებისაგან შედგება.

გენეტიკური კოდის საშუალებით პოლინუკლეოტიდური თანამიმდევრობა განსაზღვრავს ცილაში ამინომჟავების თანამიმდევრობას; ნუკლეოტიდების სხვადასხვა ტრიპლეტები ახდენენ სპეციფიკური ამინომჟავების კოდირებას.

მნიშვნელოვანი ,,გადამცემი რგოლი“ ნუკლეოტიდის ენიდან ამინომჟავების ენაზე ინფორმაციის თარგმნისას არის (ნახ. 3) **რნმ** (რიბონუკლეინის მჟავები), რომლებიც დნმ-ის განსაზღვრულ უბნებზე, როგორც მატრიცებზე, ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის შესაბამისად სინთეზირდება.

რნმ-ის მოლეკულები არიან ინფორმაციის მატარებლები, მათ აქვთ ქიმიური ინდივიდუალობა, რაც ახდენს გავლენას მათ ქცევაზე. რნმ-ის მოლეკულას აქვს ორი მნიშვნელოვანი თვისება: მის ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობაში კოდირებული ინფორმაცია გადაეცემა ***რეპლიკაციის*** პროცესში, უნივერსალური სივრცული სტრუქტურა კი - განსაზღვრავს სხვა მოლეკულებთან ურთიერთქმედების ხასიათს და რეაქციას გარემო პირობებზე. ეს თვისებები - ***ინფორმაციული და ფუნქციური*** - ევოლუციური პროცესის აუცილებელ წანამძღვრებს წარმოადგენენ. რნმ-ის მოლეკულის ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა მემკვიდრული ინფორმაციის ანუ ორგანიზმის ***გენოტიპის*** ანალოგიურია. სივრცული წყობა ***ფენოტიპის*** ანალოგიურია. ფენოტიპი არის ბუნებრივ გადარჩევას დაქვემდებარებული ორგანიზმის ნიშან-თვისებების ერთობლიობა.

რნმ ხაზოვანი პოლინუკლეოტიდური მოლეკულაა, რომელიც დნმ-საგან განსხვავდება ორი პარამეტრით:

1. რნმ-ში მონოსაქარიდია რიბოზა, რომელშიც არა ერთი, არამედ ორი ჰიდროქსილის ჯგუფია;
2. ოთხი ფუძიდან რნმ-ში ერთ-ერთი ურაცილია, რომელიც თიმინის ადგილს იკავებს.

რნმ-ის ერთი ჯაჭვის სახით არსებობა განპირობებულია:

- რნმ-ის მატრიცაზე რნმ-ის წარმოქმნისათვის აუცილებელი ფერმენტის არარსებობით ყველა ცოცხალ ორგანიზმში; ასეთი ფერმენტი აქვს მხოლოდ ზოგიერთ ვირუსს, რომელთა გენები ,,ჩაწერილია“ ორძაფიანი რნმ-ის სახით, დანარჩენ ორგანიზმებს შეუძლიათ რნმ-ის მოლეკულების სინთეზი მხოლოდ დნმ-მატრიცებზე;
- ურაცილში მეთილის ჯგუფის არარსებობის გამო, ბმა ადენინსა და ურაცილს შორის ნაკლებმდგრადია და რნმ-ისათვის პრობლემური ხდება მეორე (კომპლემენტარული) ძაფის შეკავება.

ერთძაფიანობის მიზეზით რნმ, განსხვავებით დნმ-ისაგან, სპირალად არ იხვევა, არამედ წარმოშობს ,,სარჭის (ჩხირის)“, ,,მარყუჟის“ მსგავს სტრუქტურებს. რნმ-ის მოლეკულაში ფუძეების შეწყვილება ხდება ისეთივე სახით, როგორც დნმ-ში, იმ გამონაკლისით, რომ ადენინ-თიმინის წყვილის ნაცვლად, წარმოიშობა ადენინ-ურაცილის წყვილი. კომპლემენტარული ფუძეები, როგორც დნმ-ში - ერთმანეთთან წყალბადური ბმებითაა შეერთებული.

არსებობს რნმ-ის სამი ძირითადი ტიპი:

- საინფორმაციო;

- რიბოსომული;
- სატრანსპორტო.

ტრანსკრიპციის სისწორეს, ე. ი. საჭირო ***საიტებში*** (სპეციფიკურ უბნებში) მისი დასაწყისი და დასასრული, განსაზღვრავს, დნმ-ში სპეციფიკურ ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა, ასევე ცილოვანი ფაქტორებიც. დნმ-ზე ტრანსკრიპცია ხორციელდება უჯრედის ბირთვში. საინფორმაციო რნმ-ის მოლეკულებს გადააქვთ ინფორმაცია ბირთვიდან ციტოპლაზმაში, სადაც ის გამოიყენება ცილების ტრანსლაციისათვის, რომელთა ამინომჟავური თანამიმდევრობა საინფორმაციო რნმ-ის ნუკლეოტიდების (ანუ საბოლოო ჯამში, დნმ-ის) თანამიმდევრობაშია კოდირებული. საინფორმაციო რნმ დაკავშირებულია *რიბოსომებთან,* რომლებშიც ხდება ამინომჟავების შეერთება და ცილების წარმოშობა. ***რიბოსომები*** - ნუკლეოტიდური ნაწილაკებია, რომელთა შემადგენლობაში შედიან მაღალპოლიმერული რნმ და სტრუქტურული ცილა. რიბოსომების ბიოქიმიური როლი ცილის სინთეზია. სწორედ რიბოსომებზე ხდება ცალკეული ამინომჟავების შეერთება პოლიპეპტიდებად, რაც მერე ცილის წარმოქმნით მთავრდება.

პროკარიოტების უმრავლესობაში ყველა რნმ-ის ტრანსკრიპცია ხორციელდება ერთი და იმავე რნმ-პოლიმერაზით. ეუკარიოტებში საინფორმაციო, რიბოსომული და სატრანსპორტო რნმ-ის ტრანსკრიბცია ხდება სხვადასხვა რნმ-პოლიმერაზით.

გენეტიკური თვალთახედვით, გენი არის რნმ-ში ტრანსკრიბირებადი სპეციფიკური ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა. დნმ-ის ტრანსკრიბირებული თანამიმდევრობების უმრავლესობა წარმოადგენს *სტრუქტურულ გენებს,* რომლებზეც სინთეზირდება საინფორმაციო რნმ. სტრუქტურული გენის საბოლოო პროდუქტია ცილა. პროკარიოტების სტრუქტურული გენი არის დნმ-ის მოლეკულის გაუწყვეტელი უბანი. ეუკარიოტებში სტრუქტურული გენების უმრავლესობა შედგება რამდენიმე ცალკეული (დისკრეტული) კოდირებული უბნისაგან - ***ეგზონისაგან***, რომლებიც გამიჯნულია არაკოდირებული უბნებით - ***ინტრონებით***. ეუკარიოტული სტრუქტურული გენის ტრანსკრიპციის დასასრულს ინტრონები ფერმენტებით ამოიჭრებიან ტრანსკრიპციის პირველადი პროდუქტიდან, ეგზონები ერთმანეთს მიეკერება ,,ტორსი (ტანი) ტორსში" (სფლაისინგი) და წარმოიშობა საინფორმაციო რნმ. ეგზონების სიგრძე, ჩვეულებრივ, 150-დან 200-მდე ნუკლეოტიდს მოიცავს, ინტრონებისა კი - 40-დან 10 000-მდე.

აქტიურად ფუნქციონირებად უჯრედში ჯამური რნმ-ის დაახლოებით 3-5% მოდის საინფორმაციო რნმ-ის წილად, 90% - რიბოსომული რნმ-ის წილად და 4% - სატრანსპორტო რნმ-ის წილად. საინფორმაციო რნმ შეიძლება ათეულობით სხვადასხვა ტიპის მოლეკულის სახით იყოს წარმოდგენილი, რიბოსომული რნმ - მხოლოდ ორი ტიპით. უფრო მსხვილი რიბოსომული რნმ ცილებთან *რიბონუკლეოტიდურ კომპლექსს* წარმოშობს, რომელიც დიდ რიბოსომულ სუბერთეულადაა წოდებული. უფრო პატარა ზომის რიბოსომული რნმ-ის კომპლექსს - მცირე რიბოსომული სუბერთეული ეწოდება. ცილის სინთეზისას ეს სუბერთეულები ერთიანდებიან და წარმოშობენ რიბოსომებს. რიბოსომული რნმ ასრულებს მთავარი კატალიზატორის როლს ცილის სინთეზის პროცესში, იგი რიბოსომის მასის 60%-ზე მეტს შეადგენს. ევოლუციურ ასპექტში რიბოსომული რნმ წარმოადგენს რიბოსომის ძირითად კომპონენტს.

გარდა ამისა, უჯრედში ათასობით რიბოსომასთან ერთად, რომლებიც ახდენენ ცილების აქტიურ სინთეზს, არსებობს 60 სხვადასხვა სახის სატრანსპორტო რნმ. სატრანსპორტო რნმ არის ხაზოვანი ერთჯაჭვიანი მოლეკულა სიგრძით 75-დან 95 ნუკლეოტიდამდე, რომელსაც აქვს რამდენიმე ურთიერთკომპლემენტარული, ერთმანეთთან შეწყვილებული უბანი. სპეციფიკური ფერმენტების (ამინოაცილ- ტრანსპორტული დნმ-სინთეტაზა) მეშვეობით 3` ბოლოსთან მას უერთდება შესაბამისი ამინომჟავა. ყველა ცილის სამშენებლო 20 ამინომჟავასაგან თითოეულისათვის არსებობს უკიდურეს შემთხვევაში, ერთი მაინც, სპეციფიკური სატრანსპორტო რნმ. სატრანსპორტო რნმ-ის მოლეკულის მეორე ბოლოზე განლაგებულია სამნუკლეოტიდიანი თანამიმდევრობა, რომელსაც უწოდებენ ***ანტიკოდონს***. იგი ამოიცნობს სპეციფიკურ ***კოდონს*** საინფორმაციო რნმ-ში და განსაზღვრავს, რომელი ამინომჟავა უნდა შეუერთდეს მზარდ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს.

ტრანსლაცია (ცილის სინთეზი) ხორციელდება საინფორმაციო რნმ-ის; შესაფერისი ამინომჟავებით დატვირთული სხვადასხვა სატრანსპორტო რნმ-ის; რიბოსომების და იმ მრავალრიცხოვანი ცილოვანი ფაქტორის მონაწილეობით, რომლებიც უზრუნველყოფენ პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზის ინიციაციას, ელონგაციას და ტერმინაციას.

ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას, რომელშიც ერთ ცილაზე მეტია კოდირებული, ეწოდება ***ოპერონი***. იგი იმყოფება ერთადერთი პრომოტორის კონტროლის ქვეშ, ხოლო მისი ტრანსკრიბციისას წარმოიშობა საინფორმაციო რნმ-ის ერთი გრძელი მოლეკულა, რომელსაც უნარი შესწევს მოახდინოს რამდენიმე ცილის კოდირება.

საინფორმაციო რნმ-ის და შესაბამისად, ცილის სინთეზი მკაცრადაა რეგულირებული, რამდენადაც უჯრედს არა აქვს საკმარისი რესურსები ერთდროულად აწარმოოს ყველა სტრუქტურული გენის ტრანსკრიბცია და ტრანსლაცია. პრო- და ეუკარიოტები გამუდმებით მხოლოდ იმ საინფორმაციო რნმ-ებს ასინთეზირებენ, რომლებიც აუცილებელია უჯრედის ძირითადი ფუნქციების შესასრულებლად. დანარჩენი სტრუქტურული გენების ექსპრესია ხდება რეგულატორული სისტემების მკაცრი კონტროლის ქვეშ, რომლებიც მაშინ ჩართავენ ტრანსკრიბციას, როცა წარმოიშობა ამა თუ იმ ცილის საჭიროების აუცილებლობა. ტრანსკრიპციის ჩართვასა და გამორთვაზე პასუხისმგებელია ტრანსკრიპციის დამატებითი ფაქტორები, რომლებიც უკავშირდებიან დნმ-ის შესაბამის უბნებს.

ცილის მოლეკულის სინთეზის დროს ცილის პოლიპეპტიდური ჯაჭვის წარმოქმნის პირველადი სტადიაა ადენოზინტრიფოსფატის მეშვეობით ამინომჟავების გააქტიურების პროცესი. აქტივაციის პროცესში მონაწილეობენ ფერმენტებიც, რის შედეგადაც წარმოიშობა ამინოაცილადენილატები. ამის შემდეგ, ფერმენტ ამინოაცილ-სატრანსპორტო რნმ- სინთეტაზებით (20 ამინომჟავასაგან თითოეულს აქვს თავისი განსაკუთრებული ფერმენტი) ,,გააქტივებული“ ამინომჟავა უერთდება სატრანსპორტო რნმ-ს. კომპლექსი ამინოაცილ-სატრანსპორტო რნმ, გადაიტანება რიბოსომაზე, სადაც ხდება პოლიპეპტიდის სინთეზი. პეპტიდური ბმა წარმოიშობა ერთი ამინომჟავას კარბოქსილურსა და მეორის ამინოჯგუფებს შორის. ცილის მოლეკულის პირველ ამინომჟავას აქვს თავისუფალი ამინოჯგუფი (N - ბოლო), უკანასკნელს კი - თავისუფალი კარბოქსილის ჯგუფი (C - ბოლო).

ფორმამიღებული ცილები გამოთავისუფლდებიან რიბოსომებიდან. რიბოსომებს კვლავ შეუძლიათ შეიერთონ ახალი ამინოაცილ-სატრანსპორტო რნმ და მოახდინონ ცილის ახალი მოლეკულის სინთეზი. რიბოსომები დაკავშირებული არიან საინფორმაციო რნმ-თან, რომელიც პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში ამინომჟავების მონაცვლეობის თანამიმდევრულობას განსაზღვრავს. ამგვარად, რიბოსომების მთლიანობა და ფუნქციონალური აქტიურობა უჯრედში არის ცილოვანი მოლეკულების სინთეზის ერთ-ერთი აუცილებელი პირობა.

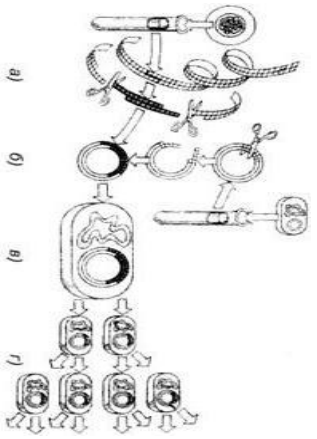
თავი 5. მოლეკულური კლონირება

რეკომბინანტული დნმ-ის ტექნოლოგია (ანუ გენური ინჟინერია, ანუ მოლეკულური კლონირება) - ეს არის ექსპერიმენტული პროცედურების ერთიანობა, რომლებიც საშუალებას გვაძლევენ განვახორციელოთ გენეტიკური მასალის (დნმ) გადატანა ერთი ორგანიზმიდან მეორეში. ამჟამად შესაძლებელია, მოიკვეთოს დნმ-ის ცალკეული უბნები, დნმ სინთეზორებზე მივიღოთ ნუკლეოტიდები პრაქტიკულად განუსაზღვრელი რაოდენობით, განვსაზღვროთ ნუკლეოტიდების თანამიმდევრობა, შევცვალოთ გამოყოფილი გენი, შევიყვანოთ იგი ისევ კულტივირებული უჯრედების გენომში ან ცხოველის ემბრიონში, სადაც ეს სახეცვლილი გენი იწყებს ფუნქციონირებას. რეკომბინანტულ დნმ-ზე ექსპერიმენტებს იყენებენ ბან-ებების სამრეწველო წარმოებაში.

კლონირების (ნახ. 4) ექსპერიმენტი მოიცავს შემდეგ ეტაპებს:

1. დონორი-ორგანიზმიდან ნატივური დნმ-ის (სინონიმები: კლონირებული დნმ, ჩაშენებული დნმ, ჩანერგილი დნმ, დნმ სამიზნე, უცხო დნმ) საჭირო გენების რესტრიქტაზული მოხლეჩა.
2. დნმ-ის გასუფთავებულ ფრაგმენტში ყველა ნუკლეოტიდის სწრაფი გაშიფვრა, რაც საშუალებას გვაძლევს განვსაზღვროთ გენის ზუსტი საზღვრები და გენის მიერ კოდირებული ამინომჟავური თანამიმდევრობა.
3. კლონირებისათვის საჭირო ვექტორის დამუშავება რესტრიქციული ენდონუკლეაზებით, რომელსაც შეეძლება მასპინძელ-უჯრედში რეპლიცირება.
4. დნმ-ლიგაზური დნმ-ის ორი ფრაგმენტის გადაკერება ახალი რეკომბინანტული მოლეკულის წარმოსაქმნელად. ეს იქნება კონსტრუქცია ,,მაკლონირებელი ვექტორი - ჩანერგილი დნმ“.

5. ამ კონსტრუქციის მასპინძლის (რეციპიენტის) უჯრედში შეყვანა, სადაც იგი რეპლიცირდება და გადაეცემა შთამომავლობას. ამ პროცესს ეწოდება ტრანსფორმაცია. ტრანსფორმაციის შემდეგ ბაქტერიული უჯრედი გაიმეორებს კლონირებული დნმ-ის ფრაგმენტს (ახდენს აღწარმოებას) მილიონობით იდენტური უჯრედით.
6. რეკომბინანტული დნმ-ის მატარებელი უჯრედების (ტრანსფორმირებული უჯრედების) იდენტიფიკაცია და გადარჩევა.
7. მასპინძელ-უჯრედების მიერ სინთეზირებული სპეციფიკური ცილოვანი პროდუქტების მიღება.



ნახ. 4 რეკომბინანტული დნმ-ის კლონირება

რეკომბინანტული მოლეკულების კონსტრუირება რიგი ფერმენტების დახმარებით. ფერმენტები ამ რთული პროცესის აუცილებელი და შეუცვლელი ინსტრუმენტია, ესენია უწინარეს ყოვლისა რესტრიქციის ფერმენტები - რესტრიქტ-ენდონუკლეაზები და რესტრიქტაზები. რესტრიქტაზები წარმოადგენენ რესტრიქციის - პროკარიოტული უჯრედების მოდიფიკაციის სისტემის შემადგენელ ნაწილს. ეს სისტემა დაკავშირებულია უჯრედების დაცვასთან უცხო დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავებისაგან. მოდიფიკაციის სისტემა ახორციელებს საკუთარი დნმ-ის მოდიფიკაციას რეპლიკაციის შემდეგ დაუყოვნებლივ; უცხო დნმ, რომელმაც შეაღწია უჯრედში, ბაქტერიის მიერ ნადგურდება რესტრიქტაზების მეშვეობით.

განასხვავებენ რესტრიქტაზების სამ ძირითად კლასს. პირველნი ახდენენ მოლეკულის დახლეჩას თვითნებურ წერტილებში, პირველი და მესამე კლასი ხასიათდება მეთილირებისა და ენდონუკლეაზური აქტივობით, მეორე კლასის ფერმენტები, რომლებიც გამოიყენება გენურ ინჟინერიაში, შედგებიან ორი ცალკეული ცილისაგან: რესტრიქციული ენდონუკლეაზისაგან და მოდიფიცირებული მეთილაზისაგან.

ამჟამად გამოიყენება 400-ზე მეტი სხვადასხვა რესტრიქტაზა. მათ ასინთეზირებენ სხვადახვა მიკროოგანიზმები, რომელთა კულტივირებას სჭირდება ოპტიმალური პირობები (ტემპერატურა, საკვები ნიადაგის შემადგენლობა და pH, ჟანგბადის კონცენტრაცია და ა. შ.). პროდუქტიულობის ასამაღლებლად აწარმოებენ მათ კლონირებას E. coli -ში.

რესტრიქტაზები ამოიცნობენ და გახლეჩენ დნმ-ის ორჯაჭვიანი მოლეკულის სპეციფიკურ ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობებს. მოლეკულური კლონირებისას მნიშვნელოვანია, რომ დონორული და ვექტორული დნმ-ის გახლეჩა წარიმართოს მკაცრად განსაზღვრულ უბნებში (საიტებში). ყოველი ფერმენტი ამოიცნობს დნმ-ში 4-6 ნუკლეოტიდისაგან შექმნილ სპეციფიკური თანამიმდევრობას. მრავალი მარესტრიცირებელი ენდონუკლეაზა გახლეჩს დნმ-ის ორ ჯაჭვს რამდენიმე ნუკლეოტიდის აცდენით, რომლებიც ერთმანეთისაგან ალმაცერადაა განლაგებული. შედეგად წარმოიშობა ერთჯაჭვიანი კომპლემენტარული ბოლოები თითოეულში ოთხნუკლეოტიდიანი ,,კუდებით". ამას ეწოდება ,,მწებვარე ბოლოები". ,,მწებვარე ბოლოების" წარმოშობით მიმდინარე პროცესების რესტრიქტაზების გარდა არსებობენ რესტრიქტაზები, რომლებსაც ჯაჭვში ნახევების გაჩენა შეუძლიათ ზუსტად ერთმანეთის მოპირდაპირედ და წარმოშობენ ბლაგვბოლოებიან დნმ-ებს.

მოლეკულური კლონირებისას მარტო ფერმენტები არაა საკმარისი, რამდენადაც იმ ოთხ ფუძეს შორის, რომლებიც მწებვარე ბოლოებს წარმოქმნიან, წყალბადური ბმები ისე საიმედო არ არის, რომ დნმ-

ის ორი გაერთიანებული ფრაგმენტი შეაკავოს. მოლეკულის საქაროფოსფატურ ჩონჩხში გაწყვეტის თავიდან ასაცილებლად გამოიყენება ფერმენტი დნმ-ლიგაზა. იგი კატალიზს უკეთებს ფოსფოდიეთერული ბმების წარმოქმნას პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვების ბოლოებს შორის, რომლებიც ერთად შეკავდებიან მწებვარე ბოლოების შეწყვილების დროს.

ამგვარად, დნმ-ის რეკომბინანტული მოლეკულის ერთი ნაწილი ატარებს საჭირო გენს, რომლის კლონირებაა ნავარაუდევი, მეორე კი - შეიცავს უჯრედში რეკომბინანტული დნმ-ის რეპლიკაციისათვის აუცილებელ ინფორმაციას. ამასთანავე დნმ-რესტრიქციისას სხვადასხვა ფრაგმენტები და მათი ლიგირების (ფოსფოდიეთერული ბმებით შეერთების) შემდეგ ვექტორულ დნმ-თან ფრაგმენტების მრავალრიცხოვანი კომბინაციები წარმოიშობა; ამ მოვლენის თავიდან ასაცილებლად რესტრიქციულ ვექტორულ დნმ-ს ამუშავებენ ტუტე-ფოსფატაზით.

რეკომბინანტული დნმ-ის შესაყვანად გამოიყენება ორი ძირითადი ვექტორი:

1. პლაზმიდები.
2. ბაქტერიოფაგები.

პლაზმიდები წარმოადგენენ ქრომოსომგარე გენეტიკურ ელემენტს დნმ-ის რგოლისებური მოლეკულების სახით, რომელიც შეიცავს ბაქტერიული უჯრედის გენომს 1-3%-ს. პლაზმიდები აქვს ყველა ბაქტერიას. F პლაზმიდები შეიცავენ ინფორმაციას, რომელიც უზრუნველყოფს მათ საკუთარ გადატანას ერთი უჯრედიდან მეორეზე, R პლაზმიდები ატარებენ ანტიბიოტიკებისადმი მდგრადობის გენებს ან გენების სპეციფიკურ ნაკრებს, რომლებიც მეტაბოლიტების (დეგრადაციის პლაზმიდების) უტილიზაციაზე არიან პასუხისმგებელნი. ყოველი პლაზმიდა შეიცავს რეპლიკაციის დაწყების საიტს, რომლის გარეშეც მასპინძელ უჯრედში პლაზმიდის რეპლიკაცია შეუძლებელია. თუ ორ და მეტ პლაზმიდას არ შეუძლია ერთი და იმავე უჯრედში თანაარსებობა, ისინი შეუთავსებლობის ერთ ჯგუფს მიეკუთვნებიან. პლაზმიდები, რომლებიც მიეკუთვნებიან შეუთავსებლობის სხვადასხვა ჯგუფს, დაბრკოლებების გარეშე თანაარსებობენ ერთ უჯრედში კოპიოების რაოდენობის მიუხედავად. ზოგიერთი მიკროორგანიზმის უჯრედში აღმოჩენილია 10 სხვადასხვა პლაზმიდა, რომელთაგან თითოეული ასრულებდა თავის ფუნქციას და მიეკუთვნებოდა შეუთავსებლობის თავის ჯგუფს. პლაზმიდების რეპლიკაცია ქრომოსომების რეპლიკაციისაგან დამოუკიდებლად მიმდინარეობს. კოპიოების რაოდენობა განისაზღვრება უჯრედის რეგულატორული სისტემით.

ამრიგად, პლაზმიდებს აქვთ ისეთი თვისებები, რომლებიც კლონირებული დნმ-ის გადატანისათვის მათი ვექტორად გამოყენების საშუალებას გვაძლევენ. ბაქტერიული კლონი, რომელიც ასეთ პლაზმიდას შეიცავს, შეიძლება ამ ფრაგმენტის მწარმოებელ ფაბრიკას შევადაროთ.

პლაზმიდურ ვექტორებს, როგორც წესი, ქმნიან გენური ინჟინერიის მეთოდით, რამდენადაც, ბუნებრივი არამოდიფიცირებული პლაზმიდები მოკლებული არიან ხარისხოვანი ვექტორის რიგ აუცილებელ თვისებებს - მათ არა აქვთ მცირე ზომა, რესტრიქციის საიტი, არა აქვთ გენეტიკური მარკერები იმ რეციპიენტული უჯრედების იდენტიფიკაციისათვის, რომლებიც ატარებენ რეკომბინანტულ დნმ-ს.

პლაზმიდები სომატურ უჯრედებში შეყავთ ქიმიური რეაგენტების საშუალებით, რომლებიც უჯრედის გარსის განლადობას ამაღლებენ, კერძოდ მას დაამუშავებენ კალციუმის ქლორიდის ყინულოვანი ხსნარით, აყოვნებენ 42^0 C-ზე 1,5 წუთით. ამ დამუშავებით ხდება უჯრედის გარსის ლოკალური დაშლა. ყოველ 1000 უჯრედზე მოდის ერთი ტრანსფორმაცია (ანუ ტრანსფორმაციის სიხშირეა 10^{-3}). ტრანსფორმაციის სიხშირე არაა 100%-იანი, იყენებენ გადარჩევის სქემებს, რომ დაადგინონ ტრანსფორმირებული უჯრედები.

მარკერების სახით პლაზმიდა შეიძლება შეიცავდეს გენებს, რომლებიც განსაზღვრავენ ბაქტერიების მდგრადობას ანტიბიოტიკების მიმართ. მარკერულ გენში უცხო (დონორული) გენის ჩასმას მივყავართ მარკერული გენის ინაქტივაციამდე. ეს იძლევა საშუალებას ტრანსფორმირებული უჯრედები, რომლებმაც მიიღეს ვექტორული პლაზმიდა და დაკარგეს ანტიბიოტიკების მიმართ მდგრადობა, გავარჩიოთ იმ უჯრედებისაგან, რომლებმაც მიიღეს რეკომბინანტული მოლეკულა და შეინარჩუნეს მდგრადობა ერთი ანტიბიოტიკის მიმართ, მაგრამ დაკარგეს მეორის მიმართ. ამ ხერხს *ჩანართის მარკერის ინაქტივაცია* ეწოდება.

ტრანსფორმირებული უჯრედების, რომლებიც შეიცავენ რეკომბინანტულ დნმ-ს ანუ ჰიბრიდულ პლაზმიდას, გადარჩევისათვის ახდენენ ტესტირებას რეზისტენტულობაზე განსაზღვრული ანტიბიოტიკის მიმართ. მაგალითად უჯრედები, რომლებიც ატარებენ ჰიბრიდულ პლაზმიდას მდგრადნი არიან ამპიცილინის მიმართ, მაგრამ მგრძნობიარენი არიან ტეტრაციკლინის მიმართ.

გენომური დნმ-ის კლონირებულ ელემენტებად დაყოფისა და ამ ელემენტების მასპინძელ-უჯრედებში შეტანის პროცესს ***გენომური ბიბლიოთეკის*** (კლონების ბანკის, გენების ბანკის) შექმნა ეწოდება.

კლონირების ყველა სისტემა უნდა პასუხობდეს ორ ძირითად მოთხოვნას:

1. რამდენიმე საიტის არსებობა კლონირებისათვის;
2. რეკომბინანტული დნმ-იანი უჯრედების საკმაოდ ადვილი იდენტიფიკაციის შესაძლებლობა.

მოლეკულური კლონირების ყველა ამ ურთულესი და შრომატევადი პროცედურის დროს მასპინძელი-უჯრედის სახით ფართოდ გამოიყენება E. coli. უჯრედებს, რომელთაც შეუძლიათ უცხო დნმ-ის შთანთქმა, უწოდებენ *კომპეტენტურს;* კულტივირების სპეციალური პირობების გამოყენებით ამაღლებენ E. coli-ის კომპეტენტურობას. E. coli-ის რეკომბინანტული შტამების საშუალებით დიდი რაოდენობით უცხო ცილების მისაღებად კონსტრუირებულია პლაზმიდა, რომელიც შეიცავს ძლიერ *პრომოტორს, სელექციურ მარკერულ გენს* და მოკლე მონაკვეთს რამდენიმე უნიკალური საიტით - მარესტრიქცირებელი ფერმენტების - *პოლილინკერებისათვის.*

პლაზმიდებით E. coli-ის ტრანსფორმაციის ეფექტურ მეთოდებს მიეკუთვნება ელექტროფორაცია (უჯრედის მემბრანაზე ელექტრული დენით ზემოქმედება მისი განლადობის გადიდების მიზნით). კლონირებული გენების სომატურ უჯრედებში შესაყვანად ასევე გამოიყენება მიკროინექციები და მიკროჩხვლეტები ანუ დნმ-ით დატვირთული უჯრედებისა და მემბრანული ვეზიკულების (ლიპოსომების) შერწყმა.

ბაქტერიოფაგების გამოყენება გენეტიკური ინფორმაციის მატარებლის სახით ემყარება იმას, რომ რეკომბინანტული გენი ჩაიდგმება ვირუსის გენომში და შემდეგში ვირუსის გენებთან ერთად რეპლიცირდება დასნებოვნებული მასპინძელი-უჯრედის გამრავლების დროს. ამ მიზნით გამოიყენება ბაქტერიოფაგი ლამბდა ვირუსი (λ-ვირუსი) ორჯაჭვიანის დნმ-ით, რომელიც უჯრედში შეღწევის შემდეგ რგოლად შეიკვრება. ბაქტერიოფაგი M -13 ძაფისებური ფორმის ვირუსია რგოლურად ჩაკეტილი დნმ-ით; იგი უჯრედში გადაიქცევა ორჯაჭვიან მოლეკულად და შვილეულ (შთამომავლობის) უჯრედებში რეპლიცირდება. ბიოლოგიურად აქტიური ცილების მისაღებად და ექსპრესიის ეუკარიოტული სისტემების ძიებაში, შეიქმნა ***ბაკმიდები*** **-** ექსპრესირებადი ვექტორები ბაკულოვირუსების ფუძეზე E. coli-ისათვის და მწერთა უჯრედებისათვის. ასეთ სისტემაში რეკომბინანტული ბაკულოვირუსების გამოსავლიანობა ამაღლდა 99%-მდე. ბაკულოვირუსებით მწერის დასნებოვნებული უჯრედები აწარმოებდნენ ჰეტეროლოგიური ცილის სინთეზს. ფაგის საფუძველზე დამყარებული ვექტორები მოსახერხებელია კლონეტების (გენების ბანკის) შესაქმნელად, მაგრამ არა დნმ-ის ფრაგმენტთან ფაქიზი მანიპულაციებისათვის. დნმ-ის ფრაგმენტების დეტალური შესწავლისა და გარდაქმნისათვის ახდენენ მათ გადაკლონირებას პლაზმიდებში.

აღნიშნულ ვექტორებთან ერთად გენურ ინჟინერიაში იყენებენ ***კოსმიდებს*** - პლაზმიდებს, რომლებიც λ ფაგის დნმ-ის cos-მონაკვეთს (კომპლემენტარული მწებვარე ბოლოები) ატარებენ. cos-მონაკვეთის არსებობა საშუალებას იძლევა ვაწარმოოთ დნმ-ის შეფუთვა ფაგში (ფაგის ,,გონებაში“) in vitro, რაც უზრუნველყოფს მათი შეყვანის შესაძლებლობას ინფექციის და არა ტრანსფორმაციის გზით.

ფაზმიდები ჰიბრიდებია ფაგებსა და პლაზმიდებს შორის - მათ უნარი აქვთ განვითარდნენ როგორც ფაგი და როგორც პლაზმიდა. ჩამორჩებიან-რა კოსმიდებს კლონირების ტევადობით, საშუალებას იძლევიან უარი ვთქვათ ფაგური ვექტორიდან პლაზმიდურ ვექტორად გენების გადაკლონირებაზე.

ამრიგად, ნებისმიერი ცილოვანი პროდუქტის მისაღებად აუცილებელია უზრუნველყოფილი იქნას მისი მაკოდირებელი გენის სწორი ტრანსკრიბცია და შესატყვისი სატრანსპორტო დნმ-ით ტრანსლაცია. საჭირო საიტში ტრანსკრიბციის ინიციაციისათვის (ცილის სინთეზისათვის) აუცილებელია პრომოტორი, მისი გაჩერებისათვის - *მატერმინირებელი კოდონი.*

კოდირებული გენებით კლონირებული სხვადასხვაგვარი ცილების სინთეზისათვის ინტენსიურად გამოიყენება ჩვეულებრივი საფუარი S. cerevisiae; ამ ერთუჯრედიანი ორგანიზმების გენეტიკა კარგადაა შესწავლილი. S. cerevisiae-ს ექსპრესიის სისტემებში სინთეზირებული რეკომბინანტული ცილები გამოიყენება ვაქცინებად და სამკურნალწამლო პრეპარატებად.

არსებული ცილებისათვის ახალი თვისებების მინიჭება, უნიკალური ფერმენტების შექმნა შესაძლებელია პლაზმიდების ან პოლიმერაზული სპეციფიკური ცვლილებების გატარებით ჯაჭვური რეაქციის მეშვეობით. კლონირებული გენები დავალებულ საიტებში საჭირო ამინომჟავების შემცველი ცილების მიღების საშუალებას იძლევა. დნმ-ის კოდირებულ თანამიმდევრობაში სპეციფიკური

ცვლილებების შეტანას, რომელთაც მივყავართ ცვლილებებამდე ამინომჟავურ თანამიმდევრობაში, უწოდებენ *მიმართულ მუტაგენეზს.*

თავი 6. ბიოტექნოლოგიური პროდუქტების სამრეწველო წარმოება

ბიოსინთეზის პროდუქტების სამრეწველო წარმოების საფუძველია ერთიანი ბიოტექნოლოგიური სისტემა (ებს), რომელიც მოიცავს სათანადო აპარატურის საშუალებით განსაზღვრული რეჟიმით ურთიერთქმედებაში მყოფ ძირითად კომპონენტებს.

ბიოლოგიური აგენტი

სუბსტრატი > აპარატურა პროცესის განხორციელებისათვის < პროდუქტი

ტექნოლოგიური რეჟიმი

ნახ. 5. **ბიოტექნოლოგიური პროცესის ძირითადი კომპონენტები**

ბიოტექნოლოგიური პროცესის ძირითადი ტექნოლოგიური სტადიებია:

1. საკვები ნიადაგების მომზადება და გასტერილება;
2. სათესი მასალის მომზადება;
3. კულტივირება;
4. კულტურალური სითხის დამუშავება;
5. ბიოპრეპარატის გამოყოფა და გასუფთავება;
6. მზა პროდუქტის მიღება.

ბიოტექნოლოგიური პროცესის განმსაზღვრელ ფაქტორებს მიეკუთვნება:

- გამოყენებული ბიოტექნოლოგიური პროცესის სახეობა;
- სუბსტრატი მისი ბიოქიმიური და ბიოფიზიკური დახასიათებით;
- აპარატურული გაფორმება მართვის კონტროლის სისტემის ჩათვლით;
- ტექნოლოგიური რეჟიმი;
- GMP-ის (სათანადო საწარმოო პრაქტიკის) მოთხოვნებთან შესაბამისობა.

რეკომბინანტული მიკროორგანიზმების საშუალებით კომერციული პრეპარატების მისაღებად აუცილებელია ორი დარგის - მოლეკულური ბიოლოგიისა და ბიოტექნოლოგიის სპეციალისტების თანამშრომლობა. *მოლეკულური ბიოლოგების ამოცანაა* სამრეწველო სინთეზში გამოყენებული ამა თუ იმ პროდუქტის იდენტიფიკაცია, თვისებების შესწავლა, საჭირო გენების მოდიფიკაცია, მიკროორგანიზმების უჯრედში მათი ექსპრესიის ეფექტური სისტემების შექმნა. ბიოტექნოლოგების ამოცანაა - მიზნობრივი პროდუქტის უფრო დიდი გამოსავლიანობის მიზნით რეკომბინანტული მიკროორგანიზმების ზრდის ოპტიმალური პირობების უზრუნველყოფა.

6.1. საკვები ნიადაგი

საკვები ნიადაგის შემადგენლობა უნდა იყოს ოპტიმალური, რამდენადაც იგი განსაზღვრავს მიკროორგანიზმების გამრავლებას, ზრდას და სხვადასხვა ბან (ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების) სინთეზს. საკვები ნიადაგი შეიძლება იყოს რთული - 50-მდე და მეტი კომპონენტის შემცველი, და საკმარისად მარტივი, რომელიც შეიცავს არაუმეტეს 5 კომპონენტს.

საკვები ნიადაგების დანიშნულება:

- უჯრედების ოპტიმალური ზრდისათვის ფიზიკო-ქიმიური პირობების შენარჩუნება (pH, eH (ჟანგვა აღდგენითი მახასიათებელი), pO_2, pCO_2 და ა. შ.);

- ბიომასისა და ცხოველმოქმედების სხვა პროდუქტების სინთეზისათვის უჯრედის უზრუნველყოფა საკვები ნივთიერებებით.

ცნება ,,ნიადაგი კულტივირებისათვის“ მოიცავს არა მხოლოდ ორგანიზმის კონსტრუქციული და ენერგეტიკული ცვლისათვის აუცილებელი (აზოტი, ნახშირბადის, ფოსფორი, რიგი მიკროელემენტები, ვიტამინები, ზრდის ნივთიერებები) კომპონენტებისა და ცალკეული ელემენტების თვისობრივსა და რაოდენობრივ შედგენილობას, არამედ ფიზიკო-ქიმიურ და ფიზიოლოგიურ ფაქტორებს (მჟავიანობა, ჟანგვა-აღდგენითი პოტენციალი, ტემპერატურა, აერაცია და სხვა). როგორც წესი, ნიადაგის ერთ-ერთი ამ ფაქტორის ცვლილებას შედეგად მოაქვს მეორის ცვლილება. მიკროორგანიზმების მიერ წარმოქმნილი საჭირო პროდუქტის გამოსავლის მნიშვნელოვნად მომატებას აღწევენ სუბსტრატის კომპონენტების თანაფარდობისა და მათი თვისებების მათემატიკური გაანგარიშების მეთოდის გამოყენებით.

მიღებულია საკვები ნიადაგების ორ ჯგუფად დაყოფა:

1) ნიადაგები, რომლებიც მოითხოვენ ბუნებრივი შრატების (ადამიანის სისხლიდან ან მსხვილფეხა რქოსანი ცხოველების ემბრიონული ექსტრაქტებიდან) შეტანას 5-10%-ის ოდენობით;

2) განსაზღვრული შემადგენლობის სინთეზური ქიმიური ნიადაგები.

საკვები ნიადაგების საფუძველს წარმოადგენენ ამინომჟავების ნარევი, ცილებისა და ნუკლეინის მჟავების სინთეზში მონაწილე პურინები, პირიმიდინები.

შრატები (სისხლის ემბრიონული შრატი, ცხენის შრატი ან ქათმის ემბრიონის გაწმენდილი ექსტრაქტი), მათი მაღალმოლეკულური ფრაქციები (α და β გლობულინები) უჯრედს იცავენ დაზიანებისაგან და ასტიმულირებენ დნმ-ის სინთეზს. ამ უკანასკნელის სინთეზს აინდუცირებენ პეპტიდური ბუნების ნივთიერებები - ზრდის ფაქტორები (მიტოგენებიც). ნახშირბადისა და ენერგიის წყაროდ გამოიყენება **გლუკოზა** ან მისი კომბინაციები ასპარაგინის ან რძის მჟავასთან. მიკროორგანიზმების ზრდა-განვითარებისათვის აუცილებელია **წყალსა და ცხიმში ხსნადი ვიტამინები, მიკრო- და მაკროელემენტები:** ფოსფორი, კალიუმი, კალციუმი, მაგნიუმი, გოგირდი, რკინა, მანგანუმი, თუთია, სპილენძი, მოლიბდენი და სხვა. ისინი მონაწილეობენ აუცილებელი ოსმოსური წნევისა და pH-ის, ბუფერული ტევადობის (ფოსფატურ-ბიკარბონატული ბუფერი) შენარჩუნებაში ან არეგულირებენ უჯრედის ციტოპლაზმის ჰიდროფილურობას.

ფოსფორი შედის უჯრედის უმნიშვნელოვანესი ნაერთების - ნუკლეოპროტეიდების, ნუკლეინის მჟავების, პოლიფოსფატების, ფოსფოლიპიდების შემადგენლობაში.

გოგირდის ნაერთები მონაწილეობენ უჯრედის ენერგეტიკულ პროცესებში, შედიან მრავალი ფიზიოლოგიურად აქტიური ნაერთების (ცილა და ზოგიერთი ფერმენტისა და კოენზიმ A-ს -SH ჯგუფები პროსთეტიკური --SH ჯგუფები) შემადგენლობაში. გოგირდის გარეშე შეუძლებელია ცილის სრულფასოვანი სინთეზი. გოგირდის წყაროა არაორგანული სულფატები, ცილისათვის სულფატი აღდგება სულფატ-რედუქტაზების, სულფურილაზების, პიროფოსფატაზების და სხვა ფერმენტების მეშვეობით. უჯრედის ყველაზე მნიშვნელოვანი გოგირდშემცველი კომპონენტია ცისტეინი.

კალიუმი ორგანიზმში ასრულებს, უწინარეს ყოვლისა, კატალიზატორის როლს, გამოდის-რა ზოგიერთი ფერმენტის (ამილაზის, ინვერტაზის) აქტივატორი, ხელს უწყობს ციტოპლაზმის ჰიდრატაციის გადიდებას.

კალციუმის იონები აწესრიგებენ pH-ს, გამოდიან როგორც ფოსფორმჟავას ნაშთების შემაერთებელი რეაგენტები.

მაგნიუმის ძირითადი ფუნქციაა მიკროორგანიზმების ნორმალური ზრდისა და ნივთიერებათა ცვლისათვის აუცილებელი ფერმენტების აქტივაცია.

მიკროელემენტები (რკინა, სპილენძი, თუთია, მანგანუმი, მოლიბდენი, კობალტი, და სხვ.) შედიან ფერმენტების შემადგენლობაში, რომლებიც მონაწილეობენ მეტაბოლიზმსა და უჯრედშიგა ნივთიერებათა ცვლის პროცესებში. მიკროელემენტების კატალიზური აქტივობა იზრდება რამდენიმეჯერ, როცა მეტალის იონები უერთდებიან ორგანული ნივთიერებების მოლეკულებს და ორგანომინერალურ კომპლექსებს - ***ხელატებს*** წარმოქმნიან. რკინა შედის ფერმენტების შემადგენლობაში, რომლებიც ააქტივებენ ციტოქრომების სისტემის ჟანგბადს. სპილენძი, სპეციფიკურ ცილებთან შერწყმული, წარმოქმნის რიგ ფერმენტულ სისტემებს (პოლიფენოლოქსიდაზები, ასკორბინოოქსიდაზები, ნიტრატრედუქტაზები, ალდეჰიდოქსიდაზები და სხვ.). ***თუთია*** მონაწილეობს ჟანგვა-აღდგენით პროცესებში, ფოსფატაზების, ენალაზების, პოლიპეპტიდაზების მშენებლობაში, რომლებიც აწესრიგებენ რიგი ორგანიზმების აზოტოვან, ფოსფოროვან, ნახშირწყლოვან ცვლას. მრავალი

ფერმენტული სისტემის (კარბოქსილაზები, პროტეინაზები, ფოსფორილაზები) შემადგენელი ნაწილია ***მანგანუმი***. მიკროორგანიზმების, მეტაბოლიზმზე გავლენას ახდენს ***კობალტიც.***

ასეპტიკური პირობების შესანარჩუნებლად ნიადაგი შეიცავს აგრეთვე მცირე კონცენტრაციით ანტიბიოტიკებსაც.

ჩამოთვლილი კომპონენტები საკმაოდ ძვირია, ამიტომ მსხვილმასშტაბიანი წარმოების დროს, უწინარეს ყოვლისა, ნახშირწყლები იცვლება ღირებულებით უფრო ხელმისაწვდომი ბადაგსახამებლის წარმოების პროდუქტებით (მელასა, ჰიდროლი, სიმინდის ექსტრაქტი, სოიოს ფქვილი, ჭარხლის ნაწნეხი).

საკვები ნიადაგების შეუცვლელი ელემენტია ***წყალი,*** რომელიც უჯრედულ ელემენტებთან ქმნის ერთიან სისტემას. წყალი-გამხსნელი ხელს უწყობს უჯრედში აუცილებელი ნივთიერებების შეღწევას და იქედან ნივთიერებათა ცვლის პროდუქტების გამოტანას. უჯრედში წყალი იმყოფება აგრეთვე ნახშირწყლებთან, ცილებთან და სხვა მაკრომოლეკულებთან შენაერთის სახით. ციტოპლაზმის ქიმიური კომპონენტების გარდაქმნაში უმთავრესი ეტაპია ორგანული მოლეკულების ჰიდრატირება და დეჰიდრატირება. წყალი მონაწილეობს ჰიდროლიზისა და კონდენსაციის რეაქციებში, ჰიდროსტატიკური წნევის არსებობისას უნარჩუნებს უჯრედს მოცულობით ფორმას.

საკვები ნიადაგებისათვის გამოიყენება სპეციალურად დამზადებული წყალი. წყლის გაწმენდა გაივლის 4 სტადიას:

1. ფოროვან მინაზე ან ელექტროკოაგულაციით წყალს შორდება მექანიკური დაბინძურება, ხდება პროფილტრაცია;
2. გაწმენდა ორგანული დაბინძურებისაგან (გააქტივებული ნახშირი);
3. დეიონიზაცია იონმცვლელი ფისების - კათიონიტებისა და ანიონიტების გამოყენებით;
4. სტერილიზაცია 0,22-0,45 მკმ ფორების მქონე მემბრანულ ფილტრებზე.

საკვები ნიადაგების სტერილიზაციისათვის გამოიყენება სტერილიზაციის თერმული მეთოდი (ნაჯერი ორთქლით, წნევის ქვეშ) და მასტერილებელი ფილტრაცია. საკვები ნიადაგების სტერილიზაციის მიზანია ბაქტერიული სპორების მოსპობა. საკვები ნიადაგების ზოგიერთი კომპონენტი (ვიტამინები, ჰორმონები და სხვა ბან) უკიდურესად მგრძნობიარენი არიან ხანგრძლივი ტემპერატურული ზემოქმედების მიმართ, ამიტომ დადგენილია, საკვები ნიადაგების თერმული სტერილიზაციის პერიოდული და უწყვეტი რეჟიმები. მასტერილებელი ფილტრაცია (ანუ ფილტრაციით სტერილიზაცია) გვთავაზობს მემბრანული საფილტრი მასალების გამოყენებას.

6. 2. სათესი მასალის მომზადება

ბიოლოგიური პრეპარატების წარმოებისათვის მიკროორგანიზმების შტამები გამოშვეულია ამპულებში, სადაც ისინი სუფთა კულტურების სახით არიან დაკონსერვებული. ყოველ კულტურას აქვს პასპორტი, სადაც აღწერილია საკვები ნიადაგები, მორფოლოგიური, ფიზიოლოგიური და სხვა მახასიათებლები, მათი დაცვის პირობები, გამოზრდა (მოყვანა) და შენახვის ვადები. კულტურების შენახვის რეჟიმი გულისხმობს გაცივებას, გაყინვას ან გაუწყლოებას; ყველა ამ შემთხვევაში მკვეთრად უნდა იყოს შემცირებული, ან მთლიანად უნდა იყოს შეწყვეტილი უჯრედული ნივთიერებათა ცვლა. შტამების კულტურები ინახება:

ა) დახრილ აგარზე 1-5° C;

ბ) გაყინულ მდგომარეობაში - 20° C (დაუშვებელია გალღობა და ხელმეორედ გაყინვა;

გ) ამპულებში ლიოფილიზებული, კულტურა ინახება რამდენიმე წლით.

ძუძუმწოვრების უჯრედული კულტურების უმრავლესობა, მათ შორის ადამიანისა, შესაძლებელია შევინახოთ სპეციალურ არეში, გაყინული -180^{0} C ტემპერატურაზე განუზომლად დიდი დროის განმავლობაში.

განსაზღვრული დროის შემდეგ კულტურას გადათესავენ.

ტექნოლოგიური პროცესის დაწყებამდე კულტურას ამრავლებენ სპეციალურ ნიადაგში, სტერილურ პირობებში და მისთვის დამახასიათებელ რეჟიმის დაცვით. გამოზრდის სტადიის ხანგრძლივობაა 24 საათი.

6.3. კულტივირება

მიკროორგანიზმების კულტივირების სტადია ყველაზე რთული და საპასუხისმგებლოა.

ბიომასის ზრდა და კულტივირება ითხოვს სპეციალურ პირობებს:

- სათესი მასალის სიცოცხლისუნარიანობა;
- ენერგიის წყაროს (სითბოს) არსებობა;
- .საკმარისი რაოდენობით შესაფერისი საკვები ნიადაგი;
- ცხოველმოქმედებისათვის აუცილებელი ფიზიკო-ქიმიური პირობები.

1950-იანი წლებიდან ვაქცინის წარმოებისათვის პოლიომიელიტის ვირუსის გამოზრდა ხდებოდა ძუძუმწოვრების უჯრედულ კულტურაში, მათ შორის ადამიანის ემბრიონის ფიბრობლასტების კულტურაში. ამ დროიდან ემბრიონის ფიბრობლასტები შეუცვლელი გახდა რიგი სხვა ვირუსების გამოყოფისა და გამოზრდისათვის ,,მაღალსპეციფიკური ცილების (ანტისხეულების, ინტერფერონების) წარმოებისათვის, კიბოს გამოკვლევებისა და ვირუსული ქიმიოთერაპიისათვის.

უშუალოდ ორგანიზმის ქსოვილებიდან (ემბრიონული ან ახალშობილთა ქსოვილებიდან) მომზადებულ კულტურებს ***პირველადი კულტურები*** ეწოდება. უმეტეს შემთხვევაში პირველადი კულტურების უჯრედები გადააქვთ კულტურალური ფინჯნებიდან და იყენებენ დიდი რაოდენობის ***მეორადი კულტურების*** მოსამზადებლად, რომლებიც შეიძლება თანამიმდევრულად გადავთესოთ (повивать) კვირის ან თვის განმავლობაში, ანდა ერთ ან რამდენიმე ცილოვანი ზრდის ფაქტორში.

უჯრედული ხაზები შეიძლება გამოყენებული იქნეს ***კლონების*** მისაღებად, რომლებიც წარმოდგებიან ერთი უჯრედ-წინამორბედისაგან.

ბიოტექნოლოგია იყენებს მიკროორგანიზმების კულტივირების ***ზედაპირულ და სიღრმულ მეთოდებს.***

ზედაპირული კულტივირებისას (მონოშრეში) უჯრედების სუსპენზიას მიიღებენ ემბრიონის დაწვრილმანებული ქსოვილის ტრიფსინით დამუშავებით. კულტურალური ნიადაგიანი ჭურჭლის მკვრივ ზედაპირზე ილექებიან უჯრედები ამ სუსპენზიიდან. ისინი ბრტყელდებიან და იყოფიან, რის შედეგადაც ჭურჭლის ზედაპირზე წარმოშობენ მონოშრეს. კულტივირების ამ მეთოდის გამოყენებისას სარგებლობენ ცილინდრული ბოთლებით, რომლებსაც ნელა აბრუნებენ სიგრძული ღერძის გარშემო. უჯრედების ზრდა და ბიომასის გამოსავალი შეიძლება გავადიდოთ, თუ სუსპენზიას დავუმატებთ მატარებელს - ინერტული სინთეზური პოლიმერის მიკროსკოპულ გრანულებს, რომლებზეც უჯრედები ჩაემაგრებიან და პროლიფერირდებიან. სუსპენზიური კულტურები შეიძლება მივიღოთ 1000 ლიტრი მოცულობის ჭურჭელში მორევის ქვეშ.

უმჯობესი მეთოდია კულტივირების *სიღრმული მეთოდი,* რომელიც საკვები ნიადაგის მთელი მოცულობის გამოყენებას ითვალისწინებს.

მიკროორგანიზმების ზრდა-განვითარებაზე მოქმედებენ უჯრედშიგა და უჯრედგარე ფაქტორები. უჯრედშიგა ფაქტორებია: უჯრედის სტრუქტურა, მეტაბოლიზმის მექანიზმი და გენეტიკური მახასიათებლები. უჯრედგარე (გარეგანი) ფაქტორები ანუ უჯრედის გარემო ფაქტორები ბიოტექნოლოგიის შედარებით რეგულირებად ფაქტორებს წარმოადგენენ.

მიზნობრივი პროდუქტის სამრეწველო კულტივირება და გაწმენდა მრავალსაფეხურიანი წარმოებაა. იგი შედგება ***შემდეგი სტადიებისა და ოპერაციებისაგან:*** პროცესი იწყება კულტურალური ნიადაგისა და აპარატურის მომზადებით და სტერილიზაციით. ჯერ გამოიყვანენ საწყის კულტურას (5-10 მლ), აწარმოებენ მის ინკუბირებას შესანჯღრევ კოლბაში (200-1 000 მლ), გადააქვთ სათესი მასალისათვის განკუთვნილ ფერმენტიორში (10-100 ლ), ბოლოს სამრეწველო ფერმენტიორში (1 000-10000 ლ). ფერმენტაციის დასასრულს გამოყოფილი პროდუქტი იმყოფება უჯრედში ან კულტურალურ ნიადაგში, და არა ორივე ფრაქციაში ერთდროულად, ამიტომ შემდეგი მანიპულაციები რომელიმე ერთზე მიმდინარეობს.

მიკროორგანიზმების გამოზრდა (მოყვანა) შეიძლება:

- პერიოდული მოქმედების ფერმენტიორებში;
- პერიოდული მოქმედების ფერმენტიორებში სუბსტრატის დამატებით;
- უწყვეტ კულტურაში.

პირველ შემთხვევაში მიკროორგანიზმებს გამოზრდიან სტერილურ პირობებში, ფერმენტაციის მსვლელობაში არ უმატებენ ახალ კულტურალურ ნიადაგს. განასხვავებენ ზრდის ექვს ძირითად ფაზას:

ლაგ-ფაზა, აჩქარების ფაზა, ექსპონენციალური ანუ ლოგარითმული ფაზა, შენელების ფაზა, სტაციონარული ფაზა და კვდომის ფაზა.

როგორც წესი, სტერილური კულტურალური ნიადაგის ინოკულაციის შემდეგ უჯრედების რიცხვის სწრაფი ზრდა არ შეინიშნება. ლაგ-ფაზაში უჯრედები ახალ პირობებში ადაპტირდებიან. ამ ფაზის ხანგრძლივობა იმ დროზეა დამოკიდებული, რა დროის მანძილზეც სათესი მასალის უჯრედები იმყოფებოდნენ სტაციონარულ ფაზაში და იმაზე, რამდენად განსხვავდებოდა ნიადაგი, სადაც გამოიზარდა კულტურა, ამ ახალი კულტურალური ნიადაგისაგან. ლაგ- და ექსპონენციალურ ფაზებს შორის არის ხანმოკლე პერიოდი აჩქარების ფაზა, როცა უჯრედების ზრდის სიჩქარე იზრდება, სანამ არ მიაღწევს მუდმივ სიჩქარეს. ექსპონენციალურ ფაზაში უჯრედები რამოდენიმეჯერ განიცდიან დაყოფას. როცა სუბსტრატი ჭარბადაა, კულტურის ზრდის ტემპი მაქსიმალურია, ნიადაგი ამ ფაზის ბოლოს ძალიან სწრაფად იხარჯება და დგება შემდეგი ფაზა - შენელების ფაზა. ლიმიტირებული სუბსტრატის გამოფიტვის ან მეტაბოლიზმის პროდუქტების დაგროვების შედეგად შენელდება ზრდა, კულტურა თანდათან გადადის სტაციონარულ ფაზაში. სწორედ ამ დროს ხდება კომერციული ღირებულების პროდუქტების - მეორადი მეტაბოლიტების, მაგალითად, ანტიბიოტიკების წარმოქმნა. ამ ფაზის ხანგრძლივობა ინდივიდუალურია ყველა მიკროორგანიზმისათვის და დამოკიდებულია ზრდის პირობებზე. კვდომის ფაზაში მეტაბოლიზმი წყდება, რადგან უჯრედის ენერგეტიკული მარაგი ამოწურულია. სამრეწველო მიზნებისათვის, ჯერ კიდევ კვდომის ფაზის დადგომამდე, ფერმენტაციას აჩერებენ.

მეორე შემთხვევაში, პერიოდული კულტურა სუბსტრატის დამატებით გულისხმობს ფერმენტიორში სუბსტრატის პერიოდულ ჩამატებას კულტურის ზრდის კვალობაზე. ეს იწვევს ექსპონენციალური და სტაციონარული ფაზების დაგრძელებას, სტაციონარულ ფაზაში სინთეზირებული ბიომასისა და მეტაბოლიტების რაოდენობის გადიდებას. რეკომბინანტული ცილის უწყვეტი სინთეზის უზრუნველსაყოფად და მისი სტაბილურობისათვის აუცილებელია პროცესის გულდასმით მეთვალყურეობა და სუბსტრატის (ნახშირბადის წყაროს, აზოტის, ვიტამინების, მიკროელემენტების, ბან და სხვ.) დამატება მაშინვე, როგორც კი ამის საჭიროება წარმოიშობა. მიკროორგანიზმის გენოტიპისა და რეკომბინანტული ცილის ბუნების მიხედვით, პერიოდული მოქმედების ფერმენტიორებში სუბსტრატის დამატებით ფერმენტაცია ადიდებს პროდუქტის გამოსავალს 25-1 000%-ით მარტივ პერიოდულ ფერმენტაციასთან შედარებით.

პერიოდული ფერმენტაცია სუბსტრატის დამატებით გამოიყენება აგრეთვე ძუძუმწოვრებისა და მწერების უჯრედების კულტივირებისათვის; ეს კულტურების ფართოდ გამოიყენება სამედიცინო მნიშვნელობის ცილოვანი პროდუქტების მისაღებად.

უნდა ითქვას, რომ სტაციონარულ ფაზაში მიკროორგანიზმები ასინთეზირებენ პროტეოლიზურ ფერმენტებს - *პროტეინაზებს,* რომლებიც შლიან წარმოშობილ ცილებს; სწორედ ამიტომ, თუ საბოლოო მიზანია ცილის მიღება, პროცესი მანამ უნდა შევაჩეროთ, სანამ გადავა სტაციონარულ ფაზაში.

უწყვეტი ფერმენტაციისას ახალი კულტურალური ნიადაგი მიეწოდება ფერმენტიორში განუწყვეტლივ, პარალელურად გადმოიცლება ისეთივე მოცულობის უჯრედული სუსპენზია. ამასთანავე მკაცრადაა კონტროლირებული კულტურალური ნიადაგის მიწოდების სიჩქარე და ბიორეაქტორში კულტურის მუდმივი მოცულობა.

უნდა აღინიშნოს, რომ სამრეწველო მიზნებისათვის უწყვეტი ფერმენტაცია იშვიათად გამოიყენება, თუმცა პროდუქცია იაფი ჯდება. ეს სიიაფე განპირობებულია შემდეგით:

1) ამ დროს არაა საჭირო უზარმაზარი რეაქტორები და აღჭურვილობები არც ერთი სტადიისა და ოპერაციისათვის.
2) პერიოდული მოქმედების რეაქტორს დროდადრო გადმოტვირთავენ, ასტერილებენ, არემონტებენ და ეს ღირებულებას ადიდებს. ესენი ნაკლებად სჭირდება უწყვეტი მოქმედების ბიორეაქტორებს.
3) უწყვეტი ფერმენტაციისას მიზნობრივი პროდუქტის სინთეზი უფრო შეთანხმებულად მიმდინარეობს, რადგან უჯრედების უმრავლესობის ფიზიოლოგიური სტატუსი ერთნაირია.

უწყვეტი ფერმენტაცია გამოიყენება ერთუჯრედიანი მიკროორგანიზმების ცილებისა და ანტიბიოტიკების წარმოების დროს, თუმცა მიკროორგანიზმების გამოზრდის ეს მეთოდიც გარკვეულ სიძნელეებთანაა დაკავშირებული:

- უწყვეტი ფერმენტაციის ხანგრძლივობა ზოგჯერ 500-1 000 საათია; ამ დროს ზოგიერთმა უჯრედმა შეიძლება დაკარგოს რეკომბინანტული პლაზმიდები;

- სამრეწველო პირობებში ძნელდება ხანგრძლივი დროით სტერილური პირობების შენარჩუნება; საჭირო ხდება სტერილური სათადარიგო აპარატურის შეძენა, რაც ძალიან ადიდებს დანახარჯებს.

მაღალი სიმჭიდროვის კულტურები. კულტურის მაქსიმალური საბოლოო სიმჭიდროვისას მიიღება საბოლოო პროდუქტის მაქსიმალური რაოდენობა. პერიოდული მოქმედების ფერმენტორებში სუბსტრატის დამატებით E. coli-ის რეკომბინანტული უჯრედების კონცენტრაცია აღწევს 50 გრამ მშრალ ნივთიერებას 1 ლ საკვებ ნიადაგზ (ზოგიერთ შემთხვევებში 100 გ/ლ-ზე). კულტურის სიმჭიდროვის გადიდების ერთ-ერთი მეთოდია კულტურალური ნიადაგის ოპტიმიზაცია.

უნდა გვახსოვდეს, რომ ზოგიერთი საკვები ნივთიერების, მათ შორის - ნახშირბადისა და აზოტის წყაროების, მაღალი კონცენტრაციისას - ნელდება უჯრედების ზრდა. მაგ., გლუკოზის 50 გ/ლ-ზე მაღალი კონცენტრაციისას; ამონიაკის - 3 გ/ლ-ზე მაღალი კონცენტრაციისას; რკინის, მაგნიუმის, ფოსფორის, თუთიის - შესაბამისად: 1,15 გ/ლ. 10 გ/ლ, 0,038 გ/ლ-ზე მაღალი კონცენტრაციებისას.

ამგვარად, კულტურალურ ნიადაგში საკვები ნივთიერებების შემცველობის უბრალო გადიდება პერიოდული ფერმენტაციის დროს, არ იძლევა სასურველ შედეგს.

ჟანგბადის უკმარისობის თავიდან ასაცილებლად მაღალი სიმჭიდროვის კულტურაში ზრდიან შემომდინარე დისპერჰირებული ჰაერის რაოდენობას და გადაადგილების სიჩქარეს. შესაძლებელია კულტურაში სუფთა ჟანგბადის მიწოდებაც, და არა მხოლოდ 20% ჟანგბადის შემცველი ჰაერისა, ასევე შესაძლებელია - ჟანგბადის ხსნადობის გაუმჯობესების მიზნით - უჯრედების გამოზრდა განსაზღვრული წნევის ქვეშ.

უჯრედების ზრდის მაღალი სიმჭიდროვე მიიღწევა პერიოდულ რეჟიმში სუბსტრატის დამატებით. საკვები ნივთიერებების მიწოდების რეჟიმი შეიძლება იყოს: უწყვეტი, საფეხურეობრივი, ექსპონენციალური.

უწყვეტი რეჟიმისას კულტურალურ ნიადაგში მთელი ფერმენტაციის მანძილზე შეაქვთ ერთიდაიმავე რაოდენობის საკვები ნივთიერებები. *საფეხურეობრივი რეჟიმისას* უჯრედების რაოდენობის ზრდის კვალობაზე ადიდებენ საკვები ნივთიერებების რაოდენობასაც. *ექსპონენციალური რეჟიმისას* საკვები ნივთიერებები ემატება იმდენი, რამდენიც უზრუნველყოფს უჯრედების ზრდის მუდმივ სიჩქარეს.

ფერმენტაციის პროცესში იზომება საკვები ნიადაგის (მაგალითად გლუკოზის) კონცენტრაციის ცვლილება და ამ შედეგებით ახდენენ საკვები ნივთიერებების პერიოდულ მიწოდებას.

მსხვილმასშტაბიანი ფერმენტაციისას უნდა გავითვალისწინოთ კიდევ ერთი რამ. არ უნდა დავუშვათ რეკომბინანტული მიკროორგანიზმების მოხვედრა გარემოში; ამისათვის გამოიყენება საიმედო სისტემები, რომლებიც თავიდან აგვაცილებს ცოცხალი რეკომბინანტული ორგანიზმების გაჟონვას ან მოსალოდნელი გაჟონვის შემთხვევაში შეზღუდავენ მათ გავრცელებას.

დანადგარებიდან საბოლოო მოშორებამდე უნდა მოხდეს ყველა რეკომბინანტული მიკროორგანიზმის ინაქტივაცია განსაზღვრული ინსტრუქციების შესაბამისად. გამოყენებულ კულტურალურ ნიადაგს გულდასმით შეამოწმებენ მასში სიცოცხლისუნარიანი მიკროორგანიზმების არსებობაზე - რომ არ მოხდეს მათ მიერ გარემოს დაბინძურება.

6.4. ბიოტექნოლოგიური პროცესის აპარატურა. ბიორეაქტორები

ბიოპრეპარატების სამრეწველო წარმოება წარმოადგენს რთული ურთიერთდაკავშირებული ფიზიკური, ქიმიური, ბიოფიზიკური, ბიოქიმიური, ფიზიკო-ქიმიური პროცესების კომპლექსს და იყენებს დიდი რაოდენობით სხვადასხვა ტიპის აღჭურვილობას, რომლებიც ერთმანეთთან დაკავშირებულია მატერიალური, ენერგეტიკული ნაკადებით და წარმოშობენ ტექნოლოგიურ ხაზებს.

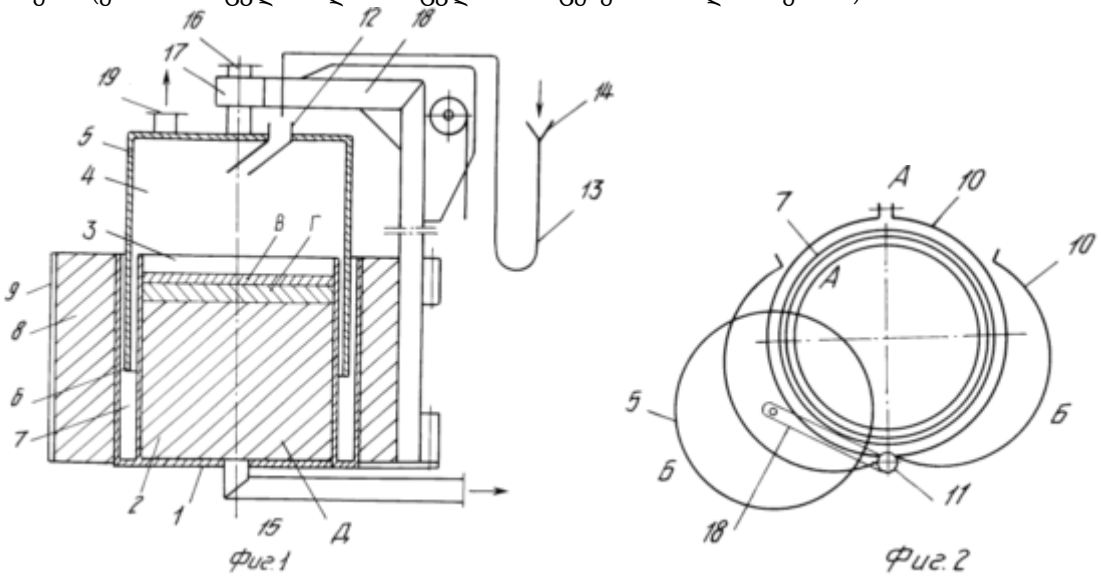
ბიოტექნოლოგიური პროცესის ძირითად აპარატურულ ელემენტს **ბიორეაქტორი - ფერმენტიორი** წარმოადგენს. (ნახ. 6; 8; 9).

ნახ. 6. ბიორეაქტორი ნახ. 7. ფერმენტიორი

ბიორეაქტორები გამოიყენება მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის, ბიომასის დაგროვებისათვის, მიზნობრივი პროდუქტის სინთეზისათვის. ბიორეაქტორები მზადდება ლიგირებული ფოლადის მაღალი ხარისხის მარკებისაგან, ზოგჯერ ტიტანისაგან. ბიორეაქტორის შიდა ზედაპირი უნდა იყოს გაპრიალებული (პალირებული).

ტიპიური ფერმენტიორები წარმოადგენენ სხვადასხვა (პატარები 1-10 ლ, მრავალ-ტონიანები 1000 ლ და მეტი) ტევადობის ვერტიკალურ საცავებს შტუცერებისა და გადამცემი მოწყობილობების მინიმალური რიცხვით. ბიორეაქტორებში უზრუნველყოფილი უნდა იყოს ოპტიმალური ჰიდროდინამიკური და მასათცვლითი პირობები.

ფერმენტიორები (ნახ. 7) აღჭურვილი არიან ორთქლის პერანგით, სარეველებით, ხუფხუფებით (ბარბოტიორებით), მასტერილებელი საჰაერო ფილტრებით, ამრიდებით (ასაქცევებით), რომლებიც უზრუნველყოფენ ბიორეაქტორში აუცილებელ ტემპერატურულ, გაზურ რეჟიმებს, ჰიდროდინამიკურ ვითარებას (ე. ი. მასათცვლისა და თბოცვლის პროცესების მიმდინარეობას).



ნახ. 8. ბიორეაქტორის სიგრძივი ჭრილი

ნახ. 9. ბიორეაქტორის ჩატვირთვა და გადმოტვირთვა (განტვირთვა)

ბიორეაქტორი შეიცავს კორპუსს (1) ფერმენტაციის კამერით(2) და საჰაერო ღრუს (3) კორპუსის ზედა ნაწილში; იგი უკავშირდება გაზშემკრებს (4). რეაქტორი აღჭურვილია ორთქლის პერანგით (8).

ბიორეაქტორებში არის ბიოსინთეზის პროცესში კულტურალური სითხისაგან სინჯის ამღები და სხვა კონსტრუქციული განსაკუთრებულობები - გამომდინარე ამა თუ იმ ტექნოლოგიური პროცესის სპეციფიკიდან. სხვადასხვა კვანძების მუშაობა კონტროლდება გამზომი ხელსაწყოებით, რომლებიც

აფიქსირებენ როგორც ტექნოლოგიური პროცესის პარამეტრებს, ასევე ცალკეულ კულტივირებათა ფიზიკო-ქიმიურ მაჩვენებლებს (კულტივირებისა და სტერილიზაციის ტემპერატურა, სარეველას ბრუნვის სიჩქარე, აერაციაზე ჰაერის ან გაზების ხარჯი, ქაფწარმოქმნა, ნიადაგის (pH, eH, pO_2, pCO_2 და ა. შ.).

ბიორეაქტორის ტიპი, აპარატისა და მისი ცალკეული კვანძების დამუშავების სიწმინდე, შევსების კოეფიციენტი, თბოგადაცემის ზედაპირი, სითბოს არინების (გადაგდების) ხერხი, გადაადგილებისა და აერაციის მოწყობილობების ტიპი, არმატურა და ჩამკეტი მოწყობილობები, ქაფჩაქრობის ხერხი - სრული ჩამონათვალი არ არის ცალკეული ელემენტებისა, რომლებიც ცალ-ცალკე და ურთიერთკავშირში ზეგავლენას ახდენენ მიკროორგანიზმებისა და უჯრედების კულტივირების პროცესზე.

ბიორეაქტორებს სამ ძირითად ჯგუფად ყოფენ:

1. ***რეაქტორები მექანიკური მორევით;***
2. ***ხუფხუფებიანი სვეტები (ბარბოტაჟიანი კამერები),*** რომლებშიც შიგთავსის მორევისათვის გაუშვებენ ჰაერს;
3. ***ერლიფტური რეაქტორები*** შიდა ან გარე ცირკულაციით; კულტურალური ნიადაგის არევა და ცირკულაცია მათში უზრუნველყოფილია ჰაერის ნაკადით, რომლის ხარჯზე კულტურალური ნიადაგის შიგა და გარე ფენებს შორის წარმოიშობა სიმკვრივის (სიმჭიდროვის) გრადიენტი (სხვაობა).

პირველი ტიპის ბიორეაქტორები გამოიყენება ყველაზე ხშირად, რადგან საშუალებას იძლევიან ადვილად შევცვალოთ ტექნოლოგიური პირობები და მზარდ უჯრედებს ეფექტურად მივაწოდოთ ჰაერი, რომელიც განსაზღვრავს მიკროორგანიზმების განვითარების ხასიათს და მათ ბიოსინთეზურ აქტივობას. ასეთ რეაქტორებში კულტურალურ ნიადაგში ჰაერს მიაწოდებენ გამფრქვევის საშუალებით წნევის ქვეშ. გამფრქვევი წარმოადგენს რგოლს მრავალი პატარა ხვრელით; ამ დროს წარმოიქმნება ჰაერის წვრილი ბუშტუკები და მექანიკური არევის ხარჯზე უზრუნველყოფილია მათი თანაბარი განაწილება. ამავე მიზნით გამოიყენება ერთი ან რამდენიმე სარეველაც. სარეველები ჰაერის მსხვილ ბუშტუკებს დაშლიან, გაფანტავენ მათ მთელს რეაქტორში და ადიდებენ მათი დაყოვნების დროს კულტურალურ ნიადაგში. ჰაერის განაწილების ეფექტურობა დამოკიდებულია სარეველის ტიპზე, ბრუნთა რიცხვზე, ნიადაგის ფიზიკო-ქიმიურ თვისებებზე.

კულტურალური ნიადაგის ინტენსიური მორევისას ხდება მისი აქაფება, ამიტომ ბიორეაქტორის მუშა მოცულობა არ უნდა აჭარბებდეს საერთო მოცულობის 70%-ს. ხსნარის ზედაპირის ზემოთ თავისუფალი სივრცე გამოიყენება როგორც ბუფერული, სადაც გროვდება ქაფი და თავიდანაა აცილებული კულტურალური სითხის დანაკარგი. აქაფებულ სითხეში აერაცია უმჯობესია, ვიდრე მკვრივ სითხეებში. ამასთანავე აქაფება იწვევს ფილტრების დატენიანების გაძლიერებას ხვრელებში, რომელთა გავლითაც ჰაერი გამოდის ბიორეაქტორიდან, ჰაერის ნაკადის შემცირებას და ფერმენტიორში გარეშე მიკროორგანიზმების მოხვედრას.

ბარბოტაჟური სვეტებისა და ერლიფტური ბიორეაქტორების კონსტრუქციული თავისებურებები ამ ტიპის ფერმენტიორებს მექანიკური მორევის რეაქტორების წინაშე აძლევს ზოგიერთ უპირატესობას. ბარბოტაჟური სვეტები მეტად ეკონომიურია, რამდენადაც მათში მორევა წარმოებს ჰაერის აღმავალი ნაკადებით თანაბრად მთელს მოცულობაში. მექანიკური სარეველას არარსებობა გამორიცხავს ბიორეაქტორში გარეშე მიკროორგანიზმების მოხვედრის ერთ-ერთ გზას. ბარბოტაჟურ ბიორეაქტორებში არ წარმოიშობა ძლიერი ჰიდროდინამიკური შეშფოთებები (კულტურალური ნიადაგის სითხის ფენების ერთმანეთის მიმართ გადანაცვლება).

გადანაცვლებითი ფაქტორების შემცირება მნიშვნელოვანია შემდეგ მიზეზთა გამო:

- რეკომბინანტული მიკროორგანიზმების უჯრედი ნაკლებად მდგრადია, ვიდრე არატრანსფორმირებულისა (ნატივურისა);
- გარეგან ზემოქმედებაზე უჯრედი პასუხობს სინთეზირებული ცილების, მათ შორის რეკომბინანტულის, რაოდენობის შემცირებით;
- გადანაცვლებითი (ძვრის) ეფექტების ზეგავლენით შეიძლება შეიცვალოს უჯრედის ფიზიკო-ქიმიური თვისებები, რაც მათთან შემდგომ მუშაობას ართულებს (უარესდება რეკომბინანტული ცილების გამოყოფა და გაწმენდა.

ბარბოტაჟულ სვეტებში ჰაერი მიეწოდება მაღალი წნევის ქვეშ ბიორეაქტორის ქვემო ნაწილში; ასვლის დროს ჰაერის წვრილი ბუშტუკები ერთიანდებიან, რასაც მოაქვს მისი არათანაბარი

მიმართულებით მოძრაობა. ამას გარდა ჰაერის მიწოდებას მაღალი წნევის ქვეშ, მივყავართ ძლიერ ქაფწარმოქმნამდე.

ერლიფტურ რეაქტორებში ჰაერი მიეწოდება ვერტიკალური არხის ქვემო ნაწილში. ადის-რა ჰაერი არხის ზემო ნაწილში, თან წარიტაცებს სითხეს. უფრო მკვრივი, დეაერირებული სითხე ეშვება მეორე ვერტიკალური არხით რეაქტორის ფსკერისაკენ და პროცესი მეორდება. ამგვარად, ერლიფტურ ბიორეაქტორში კულტურალური ნიადაგი უჯრედებთან ერთად რეაქტორში განუწყვეტლად ცირკულირებს.

ერლიფტური რეაქტორი გამოდის ორი კონსტრუქციული ვარიანტით. პირველში - რეაქტორს აქვს ცენტრალური მილი, რომელიც უზრუნველყოფს სითხის შინაგან ცენტრალურ ცირკულაციას. მეორე ტიპის რეაქტორში კულტურალური ნიადაგი გადის ცალკეულ არხებში; ამას ეწოდება რეაქტორი ცირკულაციის შიგა სისტემით.

ერლიფტური ბიორეაქტორები უფრო ეფექტურია, ვიდრე ბარბოტაჟული სვეტები, განსაკუთრებით მაღალი სიმკვრივის ან სიბლანტის მქონე მიკროორგანიზმებიან სუსპენზიებში. ერლიფტურ ფერმენტიორებში არევა უფრო ინტენსიურია და ბუშტუკების შეწებების ალბათობა მინიმალურია.

ბიორეაქტორის სტერილიზაციისათვის გამოიყენება ნაჯერი ორთქლი. რეაქტორის შიგნით არ უნდა იყოს ,,მკვდარი ზონები", რომელიც მიუღწეველი იქნება ორთქლისთვის სტერილიზაციის პროცესში. სტერილიზაციას ექვემდებარება ყველა სარქველი, გადამწოდი, შემავალი და გამომავალი ნახვრეტი.

სტერილობის მიღწევა ხდება ასეპტიკურ პირობებში მომუშავე ბიოტექნოლოგიური აღჭურვილობის ჰერმეტიზაციითაც. სითხის სტერილური გადაცემა ხორციელდება ორთქლის საკეტის შტუცერებით. ბიორეაქტორის ტექნიკური შემოკვრა (სარტყელი) გამორიცხავს გარეშე მიკროფლორით კულტურალური სითხის კონტამინაციას და ბიოსინთეზის პროდუქტებით გარემოს დაბინძურებას. უჯრედული კულტურის ძირითადი **კონტამინანტები არიან: ბაქტერიები, საფუვრები, სოკოები, უმარტივესები, საკვები ნიადაგები, სამუშაო ხსნარები, აღჭურვილობა, პერსონალი.**

ჰაერის გაწმენდა მიკროორგანიზმებისაგან და აეორზოლური ნაწილაკებისაგან ხორციელდება წინასწარი გაწმენდის ფილტრებით (ესაა კომბინირებული სიღრმული ფილტრები - ქაღალდი, მუყაო, ქსოვილები), რომელთაც აყენებენ ამწოვ ხაზზე კომპრესორის წინ (ჰაერი იწმინდება 5მკმ და მეტი ზომის ნაწილაკებისაგან) და ნაზი გაწმენდის ფილტრებით (ფოტორეზისტენტული ქსოვილი ФП, რომელიც აცილებს 0,3 მკმ ზომის ნაწილაკებს, მეტალოკერამიკული და მემბრანული ფილტრები).

მეტალოკერამიკული ფილტრები მზადდება დაკალიბრებული მეტალის ფხვნილებისაგან (ბრინჯაო, ნიკელი, უჟანგავი ფოლადები, ტიტანი), შეცხობის, დაწნეხვის, გლინვის ხერხებით; ფორების ზომა მერყეობს 2-დან 100 მკმ-მდე. მეტალის ფილტრებს ასტერილებენ 150^0 C 50 წუთის განმავლობაში. ისინი გამძლე არიან ძლიერი მჟავების, ტუტეების, დამჟანგავების, სპირტების მიმართ. მათი გამოყენება შესაძლებელია -250-დან $+200^0$ C ტემპერატურის პირობებში.

მეტალოკერამიკული ფილტრების უპირატესობაა - რეგენერაციის სიმარტივე, მუშაობის დიდი ვადა (5-10 წელი). ბოჭკოვანი, უქსოვი, და ფტოროპლასტის ფილტრებისაგან განსხვავებით მეტალოკერამიკულ მასალებს აქვთ უცვლელი სტრუქტურა, არიან ქიმიურად ინერტული, ექვემდებარებიან სტერილიზაციის ნებისმიერ მეთოდს, გამოირჩევიან მაღალი მექანიკური სიმტკიცით, დასამზადებლად ადვილია.

ვაზნიანი და კასეტური ტიპის მემბრანული ფილტრები, მიუხედავად მუშაობის მცირე ვადისა (1 წელი), არიან მაღალეფექტური, სწრაფად დასახსნელია, საიმედოა მუშაობაში. აღინიშნება უარყოფითად დამუხტული რიგი საფილტრავი მასალების უნარი შეაკავონ ცოცხალი უჯრედები, ბაქტერიები, ვირუსები, ერითროციტები, ლიმფოციტები და თრომბოციტები. ნაწილაკები, რომელთა ზომა საფილტრავი მასალის ფორების ზომაზე მეტია, რჩება ფილტრზე, თუ ნაწილაკებისა და ფილტრის ფორების ძეტა-პოტენციალებს აქვთ საპირისპირო მუხტი. ამ მოვლენას ადგილი აქვს, როცა მფილტრავი ელემენტების სახით ხდება ელექტროსტატიკური თვისებების მქონე მემბრანების გამოიყენება. მფილტრავი მასალის არჩევანი ფილტრაციის ობიექტზე და სუსპენდირებული ნაწილაკების ძეტა-პოტენციალზეა დამოკიდებული.

ნამუშევარი, ლაბორატორიული და სამრეწველო სათავსებიდან გამოტანილი, ჰაერი კონტროლდება მიკრობიოლოგიურ სისუფთავეზე.

სიღრმული კულტივირების დანადგარების მომსახურეობისათვის გამოიყენება ავტომატიზებული მოდულური სისტემა, რომელიც მოიცავს:

- ჰაერისა და ორთქლის სტერილიზაცია მეტალოკერამიკული და ტიტანის გამფილტრავი ელემენტებით;
- ტექნოლოგიური სარტყელის მოდულებს, რომლებიც შეიცავენ თერმოსტატირების ავტომატურ სისტემას, ჩამკეტ და მარეგულირებელ არმატურას, ინდივიდუალურ შემავალ და გამომავალ ფილტრებს, ელექტროპნევმოწარმომქმნელებს და სხვა რეგულირების მოწყობილობებს.
- ავტომატური კონტროლისა და მართვის ბლოკს, პროგრამული მოწყობილობით, გამზომი ელექტროდებიდან სიგნალების გარდამქმნელებით, გაზოანალიზატორებით O_2,, CO_2 , eH, pO_2, pCO_2, ტემპერატურის გასაზომად.
- კულტივირების მიმდინარე პარამეტრების ციფრული და დიაგრამული ინდიკაციის სისტემებს.

სიღრმული კულტივირების დანადგარები აღჭურვილია ბიორეაქტორში და მის პერანგში წნევის დისტანციური გაზომვის დანადგარებით, ჰაერით ან გაზების ნარევით (ჟანგბადი და აზოტი, ჟანგბადი და ნახშირორჟანგი, ჰაერი და ნახშირორჟანგი, აზოტი და ნახშირორჟანგი), ინტენსიური აერაციის დისტანციური კონტროლის ბლოკებით.

ავტომატური მართვის ბლოკი საშუალებას იძლევა გავაკონტროლოთ და შევინარჩუნოთ ბიორეაქტორისა და არმატურის პროგრამული სტერილიზაციის დონე, სარეველას ბრუნვის სიჩქარე და ვენტილებისა და მარეგულირეიბელი სარქველების გაღება-დახურვის დისტანციური კონტროლი.

ზოგი ქვეყანა გაწაფულია სხვადასხვა დანიშნულების კულტივირების აპარატურის ფართო ასორტიმენტის გამოშვებაში; ასე მაგალითად: ფირმა NBS - აშშ; პოლიფერმი; ბიოტეკი - შვეცია, მარუბიში - იაპონია; LH ფერმენტეიშნ - დიდი ბრიტანეთი; ბრაუნი - გერმანია; ბიორ - რუსეთი; ელექტრო ხელსაწყომშენებელი ინსტიტუტი საცდელი ქარხნით - რუსეთის ფედერაციის მეცნიერებათა აკადემია და სხვა .

6.5. ფერმენტაციის ეფექტურობის მაჩვენებლები

ბიორეაქტორის ტიპის მიუხედავად ფერმენტაციის პროცესი მკაცრადაა კონტროლირებადი შემდეგი მაჩვენებლებით:

- გახსნილი ჟანგბადი კონცენტრაცია;
- წყალბადიონების კონცენტრაცია;
- ტემპერატურა;
- ბიომასის არევის ინტენსიურობა.

ნებისმიერი ამ პარამეტრის არსებითი ცვლილება მკვეთრად ამცირებს უჯრედების ზრდის ტემპსა და ცილოვანი პროდუქტის სტაბილობას. E. coli-ისა და სხვა მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის, რომლებიც რეკომბინანტული ცილების ექსპრესიისათვის გამოიყენება, საჭიროა კარგად აერირებული კულტურალური ნიადაგი. ჟანგბადი წყალში ცუდად იხსნება (0, 0084 გ/ლ 25^0 C), ამიტომ იგი ნიადაგში მუდმივად უნდა მიეწოდებოდეს. ფერმენტაციის პროცესში სპეციალური გადამწოდი აკონტროლებს არეში გახსნილი ჟანგბადის შემადგენლობას, მის თანაბარ განაწილებას მთელს მოცულობაში, კულტურის მორევის გულმოდგინებას, რაც უზრუნველყოფს ბუშტუკების დისპერჰირების ეფექტურობას

სივრცეს, სადაც ურთიერთქმედებენ მიკროორგანიაზმები და საკვები ნიადაგი, უწოდებენ მიკროგარემოს. კულტურას თვლიან ჰომოგენურად, თუ მისი მიკროგარემო ყოველ წერტილში ერთნაირია. ჰომოგენურობა შეუძლებელია მორევისა და აერაციის გარეშე; აერაცია კი - ხორციელდება სხვადასხვა კონსტრუქციის ბარბოტიორების საშუალებით, მაგალითად, დაცხრილული რგოლური ღარის, პერფორირებული მილის ან ფრქვევანას საშუალებით.

უმრავლეს მიკროორგანიზმთა ოპტიმალური ზრდა მიმდინარეობს, როცა pH არის 5,5-დან 8,5-მდე; უჯრედულ მეტაბოლიტებს შეუძლიათ pH-ის შეცვლა. გულდაგულ აკონტროლებენ pH-ს და აუცილებლობის შემთხვევაში, ფერმენტიორში უმატებენ მჟავას ან ტუტეს, გამუდმებით ურევენ რომ მთელს მოცულობაში თანაბრად განაწილდეს.

ფერმენტაციის წარმატება ტემპერატურაზეა დამოკიდებული. თუ იგი ოპტიმალურზე (37 ^{0} C-ზე) დაბალია, მიკროორგანიზმების ზრდა შენელდება, მათი მეტაბოლიზმის ინტენსივობა მცირდება. ტემპერატურის 38 ^{0} C-ზე მაღლა აწევამ შეიძლება გამოიწვიოს ცილის სინთეზის ვადამდელი ინდუქცია

ან სითბური შოკის ცილების ინდუქცია, რაც ააქტიურებს უჯრედულ პროტეინაზებს და ამცირებს ცილოვანი პროდუქტის გამოსავალს. სითბოს არინებისათვის იყენებენ გამაგრილებელ პერანგს. კულტურალური ნიადაგის გულდასმით მორევა ბიოტექნოლოგიაში ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული პროცესია. მორევა აუცილებელია:

- უჯრედებისათვის საკვები ნივთიერებების თანაბარზომიერი მიწოდების მიზნით;
- ბიორეაქტორის ერთ რომელიმე კუნჭულში მეტაბოლიზმის ტოქსიკური გვერდითი პროდუქტების დაგროვების თავიდან ასაცილებლად .

მექანიკური მორევა და აერაცია მოზარდ კულტურას ჟანგბადით და აზოტით ამარაგებენ, გამოაქვთ უჯრედიდან გაზთა ცვლის პროდუქტები და ფიზიოლოგიური სითბო, რომელიც მიკროორგანიზმების მიერ გამოიყოფა ბიოსინთეზის პროცესში, ხელს უწყობენ სუსპენზიის ჰომოგენიზაციას, ადიდებენ მასათცვლისა და თბოცვლის პროცესების სიჩქარეს.

სარევალას კონსტრუქცია დიდ როლს თამაშობს ბიორეაქტორის მუშაობაში. სარეველები არსებობს ჩქარმავალი და ნელმავალი. დიდ- და მცირე ცირკულაციური მწარმოებლურობის ჩქარმავალი აპარატები გამოიყენება ამრეკლტიხრიან (არინების მქონე) აპარატებში; ტიხრების უქონლობას მივყავართ სითხის ჭავლის აგრიგალებამდე, აპარატის კედელთან სიჩქარის დაცემამდე და ბოლოს, ძაბრის წარმოშობამდე.

ჩქარმავალი სარეველებია - ტურბინული, პროპელერიანი, ფრთიანი (იგივე - ნიჩბიანი) , დისკოსებრი; ნელმავალი სარეველებია - ღუზისებური, ჩარჩოსებური, ლენტური, ვიბრაციული, ხვეტია (იგივე - საფხეკიანი), უკანასკნელი გამოიყენება საშუალო და მაღალი სიბლანტის ნიადაგების შერევისათვის. სიღრმული კულტივირებისათვის უფრო ხშირად გამოიყენება ტურბინული სარეველა რადიალურად განლაგებული სწორი ფრთებით.

კულტურალური ნიადაგის მორევა სხვა პარამეტრებზეც მოქმედებს:

- ჟანგბადის გადატანის სიჩქარეზე გაზის ბუშტუკებიდან თხევად ნიადაგში და ნიადაგიდან უჯრედებში;
- თბოგადაცემის ეფექტურობაზე;
- კულტურალური სითხის მეტაბოლიტების კონცენტრაციის გაზომვის სიზუსტეზე;
- დამატებული რეაგენტების (მჟავების, ფუძეების, საკვები ნიადაგების) დისპერჰირების ეფექტურობაზე.

უნდა ითქვას, რომ ზედმეტ მორევას ნიადაგში შეუძლია გამოიწვიოს ჰიდრომექანიკური ეფექტები, რომლებიც დამღუპველია ბაქტერიული უჯრედისათვის.

ყველა პარამეტრის გამუდმებული მონიტორინგი საშუალებას იძლევა ფერმენტაციის მიმდინარეობაში შეიცვალოს პირობები. როგორც წესი, ოპტიმალური პირობები იცვლება ბიორეაქტორის მოცულობის ყოველი ათჯერადი გადიდების შემდეგ.

6.6. ბიომასისა კონტროლის მეთოდები. უჯრედების აპოპტოზი და ნეკროზი

განმარტების ქვეშ *„ბიომასა“,* იგულისხმება კულტივირებისას მიკროორგანიზმების ან უჯრედების საერთო კონცენტრაცია მყარ ან თხევად საკვებ ნიადაგზე. ბიომასის კონტროლის ყველაზე მგრძნობიარე მეთოდია - უჯრედების დათვლა (გამოთვლა, შეჯამება) სიგრძივი (ხაზოვანი) ზომების ანუ სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების განსაზღვრით (შეღებვის მეთოდი) *მიკროსკოპის საშუალებით.* ბიომასაში უჯრედების რაოდენობა შეიძლება ვაკონტროლოთ ცენტრიფუგის ჭიქაში დალექვის მოცულობის მიხედვით. გამოიყენება აგრეთვე ბიომასის განსაზღვრის *ირიბი მეთოდები* სუნთქვის ინტენსივობით (CO_2, -ის კონცენტრაციის გაზომვით ინფრაწითელი გაზური ანალიზატორით) ან ცილის შემცველობის განსაზღვრით (ყველაზე მგრძნობიარე მეთოდი - ბრომსულფალეინის სინჯი, რომელიც ეყრდნობა ცილის ფუძოვანი ჯგუფების მიერ ბრომსულფალეინის შეკავშირებას). მიკროორგანიზმებისა და უჯრედების რაოდენობა შეიძლება განვსაზღვროთ ფიზიკო-ქიმიური მეთოდებითაც - კონდუქტომეტრულად (ხვედრითი ელექტროგამტარობით), სპექტროფოტომეტრულად, კოლორიმეტრულად, ნეფელომეტრულად.

უჯრედების დაღუპვას მივყავართ ფილტრისა და საცობების დამაბინძურებელი უჯრედული ფრაგმენტების, გამოთავისუფლებული უჯრედშიგა ფერმენტების გამოყოფამდე. უჯრედების დაღუპვა ხდება ორი მექანიზმით: ***აპოპტოზი და ნეკროზი.***

შეიძლება დაიღუპოს სრულიად სიცოცხლისუნარიანი უჯრედები, ე. ი. ისინი, რომლებმაც ჯერ კიდევ ვერ მოასწრეს ამოეწურათ სასიცოცხლო რესურსები. ხშირად თავის დაღუპვაში აქტიურ როლს თამაშობს თვითონ უჯრედი - მათში არსებული მექანიზმებით, რომლებიც ამოქმედდებიან მხოლოდ უჯრედის ამა თუ იმ - შიდა და გარე ფაქტორებით. აქედან წარმოიშვა წარმოდგენა აპოპტოზზე - უჯრედულ პროგრამებირებულ დაღუპვაზე. აპოპტოზი განიმარტება, როგორც - უჯრედული პროგრამებირებული სიკვდილი; ამ ტერმინის ქვეშ იგულისხმება უჯრედის ისეთი დაღუპვა, რომელშიც აქტიურ როლს თამაშობს სპეციალური და გენეტიკურად ჩაპროგრამებული უჯრედშიგა მექანიზმები.

სიტყვა აპოპტოზი ბერძნულიდან ქართულად ნათარგმნი, ნიშნავს ფოთოლცვენას.

გარემოებები, რომლის დროსაც უჯრედში ჩაირთვება აპოპტოზი, მრავალფეროვანია, ისინი შეიძლება დავყოთ ორ ჯგუფად:

1. თვითონ უჯრედის არადამაკმაყოფილებელი მდგომარეობა, რაც იწვევს აპოპტოზს შიგნიდან;
2. ,,ნეგატიური“ სიგნალიზაცია გარედან, რომლებიც გადაეცემა უჯრედის სპეციალური რეცეპტორებით (,,აპოპტოზი განკარგულებით“).

თვითონ უჯრედის არადამაკმაყოფილებელი მდგომარეობის შესახებ მოწმობს ქრომოსომებისა და უჯრედშიგა მემბრანების სერიოზული დაზიანება. ამ აზრით აპოპტოზი დეფექტური უჯრედების განადგურების ფუნქციას ასრულებს. აპოპტოზის მნიშვნელოვანი ინსტრუმენტია ციტოპლაზმატური პროტეაზები, ბირთვული ენდონუკლეაზები, უკანასკნელნი შლიან დნმ-ს არა ნუკლეოტიდებამდე, არამედ მხოლოდ მეტ-ნაკლებად მხვილ ფრაგმენტებმდე. აპოპტოზის შემდეგი ,,იარაღია“ ძლიერი დამჟანგველების ერთობლიობა - არა მარტო აზოტის ოქსიდის, არამედ სხვა რეაქციააქტიური ნივთიერებების - სუპეროქსიდური და ჰიდროქსიდული რადიკალების, პეროქსინიტრიტის, ნიტრიტების, ნიტრატებისა და ა. შ. ჭარბად დაგროვება. ცნობილია, რომ ნორმალურ უჯრედში არსებობს რადიკალებისა და დამჟანგველებისაგან დაცვის მექანიზმი. ესენია ანტიოქსიდანტური სისტემის ფერმენტები: სუპეროქსიდდისმუტაზა (სუპეროქსიდი გადაყავს წყალბადის პეროქსიდში), კატალაზა და პეროქსიდაზა, რომლებიც ნიადაგიდან წყალბადის ზეჟანგის ელიმინაციას აწარმოებენ.

უჯრედების დაზიანება შეიძლება გამოიწვიოს ტემპერატურამ, კვების დარღვევამ. თუ უჯრედის დაზიანება მეტისმეტია, მისი დაღუპვის პროცესი ხდება უმართავი - ეს უკვე არის ***ნეკროზი.***

ამრიგად, დამაზიანებელი ზემოქმედების ინტენსივობისა და ხასიათის მიხედვით უჯრედების დაღუპვა შეიძლება წავიდეს აპოპტოზის ან ნეკროზის გზით.

6. 7. ბიოსინთეზის პროდუქტების გამოყოფის მეთოდები

თუ ბიოსინთეზის პროდუქტი: ა) უჯრედის **შიგნითაა** ლოკალიზებული, უჯრედს შლიან, მოაცილებენ უჯრედის დაშლილ ნაწილებს და პროდუქტს გამოყოფენ გაკამკამებული (დამწდარი) ნიადაგიდან; ბ) თუ პროდუქტის სეკრეცია ხდება, **სეკრეტირებულ** პროდუქტს გამოყოფენ უშუალოდ ნიადაგიდან.

უჯრედების ბიომასის ან კულტურალური სითხის გამოცალკევებისათვის გამოიყენება სეპარატორები, დამლექი ცენტრიფუგები, ფილტრ-წნეხები, ვაკუუმ-დოლისებრი ფილტრები, როტაციულ-ვაკუუმური ფილტრები, სალექარები. აპარატურის ამორჩევა დამოკიდებულია კულტივირების მასშტაბზე, უჯრედების ტიპზე, კულტურალური სითხის თვისებებზე.

კულტურალური ნიადაგის დიდი მოცულობებიდან უჯრედების გამოსაყოფად (სამრეწველო მასშტაბებში) გამოიყენება მაღალსიჩქარული ცენტრიფუგირება ნახევრადუწყვეტი მოქმედების შესაბამისი ცენტრიფუგების საშუალებით. უჯრედების სუსპენზიას უწყვეტად მიაწოდებენ ცენტრიფუგის დოლში, მასში უჯრედები კონცენტრირდებიან, გაკამკამებულ სითხეს მოაშორებენ. როცა დოლი გაივსება დანალექი უჯრედებით, ცენტრიფუგას გააჩერებენ და უჯრედებს აიღებენ. ამ პროცესის მოუხერხებლობა არის ის, რომ აუცილებელია პროცესის შეჩერება, არსებობს მიკროორგანიზმების გაჟონვის საშიშროება გარემოში, შეუძლებელია ნიადაგიდან უჯრედების სრულად გამოცალკევება.

ალტერნატიული მეთოდია გაფილტვრა მემბრანაში, მაგრამ ფილტრაციის პროცესი ფილტრის ზედაპირზე უჯრედების თავმოყრის გამო მალე ფერხდება. წნევის გადიდება დროებით ეფექტს იძლევა, რადგან უჯრედები გაჭედავენ ფილტრის ფორებს და წარმოიშობა ნაკლებგამტარი შრე.

უჯრედების დაშლა (დეზინტეგრაცია). ამ მიზნით იყენებენ მრავალ ქიმიურ, ბიოლოგიურ, ფიზიკურ მეთოდს. ყველა პროცედურა ერთდროულად საკმარისად *ხისტი* უნდა იყოს, რომ დაირღვეს უჯრედის კედელი და საკმარისად *ნაზიც* - ცილის დენატურაციის თავიდან ასაცილებლად (რამაც შეიძლება საბოლოო პროდუქტის სტრუქტურის ცვლილება გამოიწვიოს).

მიკროორგანიზმების უჯრედის კედელი შედგება სხვადასხვა პოლიმერებისაგან, ამიტომ მათი დაშლის უნივერსალური მეთოდი არ არსებობს.

გრამდადებითი ბაქტერიების უჯრედის კედელი შედგება N აცეტილგლუკოზამინის სქელი პეპტიდოგლიკანური შრისაგან და N აცეტილმურამის მჟავასაგან, რომლებიც პეპტიდური ხიდებით არიან შეერთებული.

გრამუარყოფითი ბაქტერიების უჯრედის კედელი უფრო თხელია და გარედან დაფარულია ლიპიდების ფენით.

საფუვრის უჯრედების კედელი შედგება ნაწილობრივ ფოსფორილირებული მანატების მკვრივი ფენისაგან და β გლუკანებისაგან.

უმდაბლეს სოკოებს აქვთ უჯრედის მრავალფენიანი გარსი, რომელიც შედგება α და β გლუკანების, გლიკოპროტეიდებისა და ქიტინისაგან.

უჯრედის კედლის შემადგენლობა და სიმტკიცე დამოკიდებულია კულტივირების პირობებზე, უჯრედების ზრდის სისწრაფეზე, ფაზაზე, რომელშიც ისინი გროვდება, კონცენტრირებული უჯრედების შენახვის პირობებზე და იმაზე - გამოყოფილი მიკროორგანიზმი აწარმოებდა თუ არა კლონირებული გენის ექსპრესიას.

უჯრედის კედლის დაშლის *ქიმიური მეთოდის* ქვეშ იგულისხმება ტუტით დამუშავება. თუ ცილოვანი პროდუქტი არ იშლება pH 10,5 – 12,5, შეიძლება ყოველგვარი შრომის გარეშე მოვახდინოთ დიდი რაოდენობით ბაქტერიული უჯრედების ლიზისი. მაგ. ადამიანის რეკომბინანტული ზრდის ჰორმონი ძალიან ადვილად გამოიყოფა E. coli-ის უჯრედებიდან ნატრიუმის ჰიდროკარბონატით დამუშავებით pH=11. ტუტით დამუშავების შემდეგ არ რჩება არც ერთი სიცოცხლისუნარიანი უჯრედი, რაც ხსნის რეკომბინანტული მიკროორგანიზმების გაჟონვის პრობლემას.

მიკროორგანიზმების უჯრედის დაშლის *ძირითადი ბიოქიმიური მეთოდი* არის ლიზისი ფერმენტების დახმარებით. ასე მაგალითად, კვერცხის ცილის ლიზოციმი ადვილად ახდენს გრამდადებითი ბაქტერიების უჯრედის კედლის ჰიდროლიზს. გრამუარყოფითი ბაქტერიების უჯრედის კედლის დაშლისათვის იყენებენ ლიზოციმს და ეთილენდიამინოტეტრაძმარმჟავას - EDTA-ს. საფუვრებისა და ობის სოკოების უჯრედის კედლების ჰიდროლიზი ხერხდება ერთი ან რამდენიმე ფერმენტით: ფოსფომანაზით, β 1,3 და β 1,6 გლუკანაზით, ქიტინაზით ან საფუვრის დამშლელი კომპლექსური პრეპარატით. ფერმენტული გადამუშავება მაღალსპეციფიკურია და ლიზისი მიმდინარეობს რბილ პირობებში.

უჯრედის დაშლა შეიძლება *ფიზიკური მეთოდებითაც: ა)* არამექანიკურით (ოსმოსური შოკი, მრავალჯერადი სწრაფი გაყინვა-გადნობა) და ბ) მექანიკურით (ულტრაბგერით დამუშავება, შეჯახება, წნევის ქვეშ ჰომოგენიზაცია). მექანიკური დამუშავება მაღალეფექტურია, განსაკუთრებით ულტრაბგერითი გამომსხივარებით, რომლებიც აწარმოებენ მაღალსიხშირულ ბგერით ტალღებს. ულტრაბგერითი დეზინტეგრატორები შედგება ულტრაბგერის ტალღების ტრანზისტორული გენერატორისაგან, პიეზოელექტრული ან მაგნიტოსტრიქციული გარდამქმნელისაგან და სამუშაო კამერების ნაკრებისაგან.

უჯრედების დიდი რაოდენობისას გამოიყენება ბალისტიკური დეზინტეგრაცია. იგი ტარდება მაღალსიჩქარულ ბურთულებიან წისქვილებში, სადაც ათავსებენ უჯრედების კონცენტრირებულ სუსპენზიას. წისქვილის დოლი სავსეა ინერტული აბრაზიული (ამფხეკი) მასალით - მინის ან პოლიმერული 1 მმ დიამეტრის ბურთულებით. შიგთავსს სწრაფად აურევენ ფრთები, რომლებიც დარგებულია ღერძზე. (ფირმების აპარატები: Willi A. Bachhotem - შვეიცარია, Gifford Wood Co - აშშ.).

შეჯახება. დიდი სიბლანტის უჯრედოვან სუსპენზიას მიმართავენ უძრავი ზედაპირისაკენ წნევით, შეხების ადგილას გამოიყოფა დიდი რაოდენობით ენერგია, რომელიც შლის უჯრედებს. უჯრედების შეჯახების მეთოდით დაშლა უჯრედული ცილების აქტივობას უმნიშვნელოდ ამცირებს.

ექსტრუზიული მეთოდები (უჯრედების სუსპენზიის გამოწნეხა კაპილარული ხვრელებით) განკუთვნილია უჯრედების თხევადი ან გაყინული სუსპენზიებისათვის. მუშა მატრიცების ხვრელების დიამეტრი მერყეობს რამდენიმე მილიმეტრიდან მის მეათედ ნაწილებამდე. ჰიდროექსტრუდერებში წნევა აღწევს 2000-4000 კგ/სმ^3, მყარფაზიან ექსტრუდერებში კი - 10 000-50 000 კგ/სმ^3-ს. ექსტრუზიის დასასრულს წნევას მკვეთრად დააგდებენ, რაც უჯრედების ლიზისს იწვევს. ექსტრუზიულ დეზინტეგრატორებს აწარმოებს ფირმა ,,Manton Gaulin" (აშშ), LKB (შვეცია).

<u>შემდეგი დამუშავება.</u> უჯრედების დაშლის შემდეგ მათ ნატეხებს მოაშორებენ დაბალსიჩქარიანი ცენტრიფუგირებით ან მემბრანული მიკროფილტრაციით.

ლიზატიდან ცილოვან პროდუქტს გამოყოფენ გამომარილების მეთოდით - ნეიტრალური მარილების მაღალკონცენტრირებული ხსნარებით დალექვით, უმეტესად, ნატრიუმის ან ამონიუმის სულფატით. ცილის სედიმენტაცია შესაძლებელია გამოვიწვიოთ ორგანული გამხსნელებითაც (ეთანოლით, აცეტონით).

6. 8. მზა პროდუქციის მიღება

მზა პროდუქციის მიღება დაკავშირებულია ბიოპრეპარატის შრობასა და კონცენტრირებასთან. შრობის ობიექტია მიკროორგანიზმები, უჯრედები, ფერმენტები, ჰორმონები და სხვა ბან-ებები. ბიოპრეპარატები ბიოლოგიურად აქტიური შემადგენლობის გარდა შეიცავენ ორგანულ ნივთიერებებს და წყლის საკმაო რაოდენობას. წყალი ბიოსინთეზის პროდუქტებში შეიძლება იყოს თავისუფალი ან შეკავშირებული სახით; წყლის მნიშვნელოვანი რაოდენობა სუბსტრატში კავდება ფიზიკო-მექანიკური და ადსორბციული კავშირებით (ვანდერვაალსის ბმები). ფიზიკო-მექანიკურად შეკავშირებული წყალი იმყოფება მასალის ფორებსა და კაპილარებში.

ბიოპრეპარატების გამოშრობის დროს გამოიყენება ნაზი მეთოდები; აქ დომინირებს სუბლიმაციური შრობა (ასეთი აპარატებია რუსული წარმოების ,,Иней", ფრანგული - ,,იუზეფრუა", დანიური ,,Heto Helton").

საფრქვევი მაშრობის გამოყენება, შრობის შედარებით უხეში პირობების გამო შეზღუდულია.

თერმოლაბილური და არამდგრადი სუსპენზიები გამოშრობისას განიცდიან არსებით სტრუქტურულ და მორფოლოგიურ გარდაქმნებს. ამას შეიძლება თან ახლდეს სიცოცხლისუნარიანობის დაკარგვა და უჯრედული სტრუქტურების დაშლა. ამის თავიდან ასაცილებლად არსებობს დამცავი ნიადაგები.

დამცავი ნიადაგები (გამომშრობი ნიადაგები) - ანუ კრიოპროტექტორები. გაყინვის მადენატურირებელი ზეგავლენა შეჩერებული შეიძლება იქნას დამცავი აგენტების საშუალებით:

- მაღალმოლეკულური კომპონენტების (პოლივინილპიროლიდონი - მოლეკულური მასა 2600-6400, დექსტრანი, ჟელატინი, პეპტონი);
- დაბალმოლეკულური და ბუფერული კომპონენტების (გლუტამატი, ტრისბუფერი).

დამცავი ნიადაგი იცავს ბიოპრეპარატებს გაყინვის, გამოშრობისა და შემდეგი შენახვის პროცესში შეუქცევადი ცვლილებებისაგან. დამცავი ნიადაგები, როგორც წესი, შედგებიან რამდენიმე კომპონენტისაგან. ასე მაგალითად, უჯრედული კულტურების კონსერვირებისათვის გამოიყენება გლიცერინის და დიმეთილსულფოქსიდის ანუ დიმექსიდის (DMSO) კრიოდამცავი თვისებები, მათ ამატებენ საკვებ ნიადაგში 5-10% კონცენტრაციით. მინუს 180-196^0 C ტემპერატურის დროსაც კი, დაკონსერვებული კულტურის სიცოცხლისუნარიანობა შეიძლება განუსაზღვრელი დროით იქნას შენარჩუნებული.

მზა პროდუქციის ჩამოსხმა, თავის დაცობა, ეტიკეტირება, შეფუთვა წარმოებს ცალკე აპარატებში (მცირე წარმოების დროს); ესენი არიან კომპაქტური დანადგარები ამპულებისათვის, ჭურჭლები ინფუზიისათვის, მანქანები ჩაწყობისა და შეფუთვისათვის.

მსხვილმასშტაბიანი წარმოების მოწყობისას საჭიროა ტექნოლოგიური ხაზები. აქ შედის: ულტრაბგერითი მეთოდით სარეცხი მანქანები; ესენია სასტერილიზაციო მაშრობი გვირაბები ცხელი ჰაერის ლამინარული ნაკადებით; ამპულების შესავსები და მისარჩილავი მანქანები; ვენაში გადასხმის ხსნარების ჭურჭლის შესავსები და მისარჩილავი მანქანები (როგორც GMP მოითხოვს, უნდა ხდებოდეს ელექტრონულ-ტურბინული ჩამოსხმა); ფხვნილისებური პრეპარატებით შესავსები და თავმისარჩილავი მანქანები; მისახრახნსაცობიანი და სპეციალურსაცმიანი ფლაკონების შესავსები და დასაცობი მანქანები; ფერადრგოლიანი ნიშანდების (კოდის) დასატანი მანქანები; ჰერმეტულობაზე საკონტროლო მანქანები;

ეტიკეტირების მანქანები; ფხვნილების კაფსულირების აპარატები; შპრიც-ტუბიკების ასაწყობი, შესავსები და მისარჩილავი მანქანები და ა.შ.

ცალკეულ დანადგარებსა და ტექნოლოგიურ ხაზებს უშვებენ ამერიკის, შვეიცარიის, საფრანგეთის, გერმანიის, ფინეთის ფირმები; ამ ფირმების დანადგარები პასუხობენ სათანადო საწარმოო პრაქტიკის (GMP) მოთხოვნებს.

თ ა ვ ი 7. მზა სამკურნალწამლო საშუალებები

ამჟამად რეკომბინანტული დნმ-ის საშუალებით კლონირებულია ადამიანის სხვადასხვა ცილების 400-ზე მეტი გენი, რომლებიც არიან, ან შეიძლება გახდნენ სამკურნალწამლო საშუალებები. მჯო-ს მონაცემებით, სამკურნალო პრეპარატების მსოფლიო ბაზრის მოცულობიდან ყოველწლიურად 150 მილიარდი დოლარი მოდის ადამიანის ცილების საფუძველზე მომზადებულ პრეპარატებზე და ეს ციფრი განუხრელად იზრდება.

რეკომბინანტული დნმ-ის ტექნოლოგიის განვითარებამ, მონოკლონური ანტისხეულების მიღების ხერხების დამუშავებამ, იმუნოგლობულინების სტრუქტურისა და ფუნქციის დადგენამ მიგვიყვანა სხვადასხვა დაავადებების სამკურნალოდ სპეციფიკური ანტისხეულების გამოყენებამდე. ანტისხეულების გენებთან მუშაობა მსუბუქდება იმით, რომ ანტისხეულის ცალკეული მოლეკულები ასრულებენ სხვადასხვა ფუნქციებს. სპეციფიკური ანტისხეულების თერაპევტული საშუალებების სახით გამოყენების მიმზიდველობა კი იმით აიხსნება, რომ მათი გამოყენება შესაძლებელია ტოქსინების ნეიტრალიზაციისათვის; ბაქტერიებთან, ვირუსებთან ბრძოლისათვის; ონკოლოგიური დაავადებების სამკურნალოდ. ანტისხეული შეიძლება შევადაროთ თვითმიმხვედრელ რაკეტას, რომელიც ან ანეიტრალებს უცხო აგენტს, ან ანადგურებს სამიზნე უჯრედებს.

7.1. მონოკლონური ანტისხეულები, როგორც სამკურნალწამლო საშუალებები

ანტისხეულის (იმუნოგლობულინის) მოლეკულა შედგება ორი ,,მსუბუქი“ (L) და ორი ,,მძიმე“ (H) ცილოვანი ჯაჭვისაგან, რომლებიც წყალბადური ბმებით და დისულფიდური ხიდებით არიან დაკავშირებული. ეს ხიდები განლაგებულია მკაცრად განსაზღვრულ ადგილებში. L და H ჯაჭვების N-ბოლო მონაკვეთები წარმოშობენ ანტიგენშემაკავშირებელ საიტს, ანტისხეულის მოლეკულის ცალკეული *უბნები (დომენები) ასრულებენ სხვადასხვა ფუნქციებს.* ანტიგენშემაკავშირებელი საიტები შედგებიან სამი უბნისაგან, რომლებიც განსაზღვრავენ ანტისხეულის კომპლემენტარობას ანტიგენის მიმართ (Complementaring Determining Region) და რომლებიც წარმოქმნიან H და L ჯაჭვების N-ბოლოებზე ვარიაბელურ უბნებს (V_H და V_L). ვარიაბელურის გარდა, ყოველი L ჯაჭვი შეიცავს ერთ კონსტანტურ უბანს ანუ დომენს C_1, ყოველი H-ჯაჭვი კი - სამ კონსტანტურ უბანს ანუ სამ დომენს - C_{H1}, C_{H2}, და C_{H3}. ანტისხეულის პროტეოლიზური ფერმენტით - პაპაინით დამუშავების დროს - წარმოიქმნება სამი ფრაგმენტი: *ორი იდენტური (Fab) და ერთი (Fc).*

ორი იდენტური Fab-ფრაგმენტთაგან თითოეული მათგანი შეიცავს ინტაქტურ L ჯაჭვს. იგი დისულფიდური ხიდებით შეკავშირებულია H ჯაჭვის V_H და C_H დომენებთან. *ერთი Fc ფრაგმენტი* შედგება დისულფიდური ბმებით დაკავშირებული H ჯაჭვის C_{H2} და C_{H3} ორი დომენისაგან.

Fab-ფრაგმენტს, უფრო სწორად, მისი N-ბოლო ნაწილს, ეწოდება *Fv-ფრაგმენტი,* მას *აქვს ანტისხეულის მოლეკულისათვის დამახასიათებელი ანტიგენშემაკავშირებელი აქტივობა.*

ანტიგენის ინტაქტურ ანტისხეულთან შეკავშირების შემდეგ ჩაირთვება იმუნური საპასუხო რეაქციები:

1. აქტივდება კომპლემენტის სისტემა; ა მ სისტემის კომპონენტები არღვევენ უჯრედის მემბრანას, ააქტივებენ ფაგოციტებს და ახდენენ იმ სიგნალების გენერირებას, რომლებიც ახდენენ იმუნური პასუხის სხვა კომპონენტების მობილიზებას.

2. ანტისხეულის Fc უბნის ეფექტორული უჯრედის Fc რეცეპტორთან შეკავშირების შედეგად ჩაირთვება ანტისხეულებით გამოწვეული უჯრედული ციტოტოქსიკურობის რეაქცია. გააქტივებული ეფექტორული უჯრედი გამოათავისუფლებს ნივთიერებებს, ისინი დაშლიან უცხო უჯრედს, რომელთანაც დაკავშირებულია ანტისხეულის მოლეკულის Fab-მონაკვეთი.
3. გახსნილი ანტიგენის Fab-მონაკვეთის გადაბმის შემდეგ, ანტისხეულის Fc უბანი შეიძლება შეუერთდეს ფაგოციტების რეცეპტორებს, რომლებიც დაიტაცებენ და დაშლიან ანტიგენ-ანტისხეულის კომპლექსს.

მისი მოქმედების ადგილას სამკურნალო ნივთიერების მიტანის გაადვილების მიზნით იყენებენ რამდენიმე ხერხს:

- ლიპოსომებში ჩართვა, რომელთა ლიპიდურ გარსს დიდი მსგავსება აქვთ საჭირო ორგანოს უჯრედებთან.
- სპეციფიკური ტოქსინების გენების ლიმფოციტებში ჩანერგვა, რომლებიც ინფილტრირებენ სიმსივნეს და გამოათავისუფლებენ ამ ტოქსინებს უშუალოდ სიმსივნეში.
- სამკურნალწამლო ნივთიერების მოლეკულების მიერთება მონოკლონურ ანტისხეულებთან ან მათ Fv-ფრაგმენტებთან, რომლებიც სპეციფიკურები არიან ცილებთან დამოკიდებულებაში და იმყოფებიან მკაფიოდ განსაზღვრული, მაგალითად, სიმსივნური უჯრედების, ზედაპირზე.
- სამკურნალწამლო ნივთიერებების არააქტიურ ფორმაში გამოყენება, გადაიყვანენ-რა მათ აქტიურ მდგომარეობაში ფერმენტების საშუალებით. ასეთი გარდასახვა მხოლოდ სამიზნე უჯრედის ახლოს რომ მოხდეს, ფერმენტს მიუერთებენ მონოკლონურ ანტისხეულს, რომელიც ამ უჯრედის ზედაპირული ანტიგენის მიმართაა სპეციფიკური.

ორივე შემთხვევაში მონოკლონური ანტისხეული უკავშირდება ერთ სპეციფიკურ ცილას სამიზნე-უჯრედის ზედაპირზე.

7. 2. თრომბოლიტიკები და ანტიკოაგულანტები

სისხლის შედედების სისტემა შედგება თრომბოციტებისა და მასში არსებული ფირფიტებიანი ფაქტორებისაგან (ადენოზინტრიფოსფატის, ქსოვილოვანი თრომბოპლასტინის, სეროტონინის, ანტიპლაზმინის, ფიბრონექტინის, თრომბოსპონდინის, და სხვ.), პლაზმის ცილებისაგან, რომლებიც ღვიძლის უჯრედებში სინთეზირდებიან (პროთრომბინის, პროკონვერტინის, ანტიჰემოფილური გლობულინების, თრომბოტროპინის, ფიბრინოგენის და სხვა).

შედედების საწინააღმდეგო სისტემა წარმოდგენილია პლაზმინით (ფიბრინოლიზინით) - პროტეოლიტური ფერმენტით, რომელიც სისხლში იმყოფება არააქტიურ მდგომარეობაში (პლაზმინოგენის სახით), სისხლის პლაზმის ცილებით (C და S პროტეინებით, ანტითრომბინი III-ით, რომელიც ამუხრუჭებს ფიბრინის წარმოშობის პროცესს), ასევე ნივთიერებებით, რომლებიც პროდუცირებულია ან ფიქსირებულია ენდოთელიალურ უჯრედებზე (ჰეპარინი).

ამ ორ სისტემას შორის წონასწორობის დარღვევისას შეიძლება წარმოიშვას ან გაძლიერებული სისხლდენა, ან თრომბწარმოშობა ანდა ორივე ერთად.

სიკვდილის მიზეზი ხშირად ხდება ტვინის ან გულის არტერიების თრომბოემბოლია. ცნობილია, რომ თრომბი შედგება ფიბრინის მოლეკულებისაგან, სისხლის შედედების სისტემის ფაქტორისაგან, რომელიც სისხლძარღვის კედლის დაზიანების საპასუხოდ წარმოშობს ქსელს. ნორმაში, წარმოშობილ თრომბში ფიბრინის მოლეკულები ფერმენტით დაიხლიჩება; ფერმენტი ხელს უწყობს ფიბრინის გახსნას in vivo. ეს ფერმენტია სერინული პროტეინაზა და იგი წარმოიშობა პლაზმინოგენისაგან აქტივატორის ზემოქმედებით.

ხშირად ეს ბიოლოგიური სისტემა არასაკმარისი ეფექტურობით მუშაობს, რასაც მივყავართ არტერიების დაცობამდე. ასეთ შემთხვევებში სისხლში პლაზმინის დონის ასაწევად შემოთავაზებულია გამოყენებული იყოს **პლაზმინოგენის აქტივატორი (აპგ),** როგორც თერაპიული საშუალება. პლაზმინს შეუძლია დაშალოს ფიბრინის წინამორბედიც (ფიბრინოგენიც), და თუ ფიბრინოგენის დონე აპგ-თერაპიის შედეგად მნიშვნელოვნად დაიწევს, შეიძლება დაიწყოს დიდი შინაგანი სისხლდენები.

ფიბრინის მიმართ სპეციფიკურ მონოკლონურ ანტისხეულს შეუერთეს აპგ. ეს კომპლექსი შეუკავშირდება-რა თრომბში არსებულ ფიბრინს, იწვევს პლაზმინის დაგროვებას თრომბის სიახლოვეს და პლაზმინი ახდენს თრომბის ლიზისს.

ქსოვილოვანი აქტივატორები პლაზმინოგენისა (ქაპგ) ფართოდ გამოიყენება თრომბოლიტიკური თერაპიისათვის მიოკარდის მწვავე ინფარქტის, ტვინისა და კორონარული სისხლძარღვების დაცობის, ფილტვის ემბოლიის მკურნალობის დროს.

ადამიანის პლაზმინოგენი წარმოადგენს ერთჯაჭვიან გლიკოპროტეინს მოლეკულური მასით 90 000; მისი შემადგენლობა პლაზმაში არის 2 მკ მოლი/ლიტრზე. პლაზმინოგენს უნარი აქვს გარდაიქმნას პლაზმინად - პლაზმინოგენის ან ბუნებრივი აქტივატორების დახმარებით, რომელიც იმყოფება ორგანოებსა და ქსოვილებში, ან ბაქტერიული სტრეპტოკინაზის საშუალებით. პლაზმინოგენის ქსოვილოვანი ტიპის აქტივატორების ერთ-ერთი მთავარი თვისებაა ფიბრინოლიზის პროცესში მონაწილეობა. ამ ფერმენტებს, რომლებიც წარმოადგენენ ბუნებრივ თრომბოლიზურ აგენტებს, დიდი მნიშვნელობა აქვთ კორონარული და ცერებრალური თრომბოზებისა და ფილტვის თრომბოზების წინააღმდეგ ბრძოლაში.

პლაზმინოგენის გააქტიურება სტრეპტოკინაზით მდგომარეობს საწყის სტადიაზე კომპლექსის ,,პლაზმინოგენი-სტრეპტოკინაზა“ წარმოშობაში, რომელსაც აქვს პლაზმინოგენის მოლეკულის გააქტიურების უნარი; ეს კომპლექსი შემდეგში ფერმენტული მექანიზმის საშუალებით უზრუნველყოფს პლაზმინოგენის გარდაქმნას პლაზმინად.

პლაზმინი (ფიბრინოლიზინი) მოქმედების ფართო სპექტრის ენდოპეპტიდაზაა. როგორც პლაზმინოგენი, ასევე პლაზმინი შეიცავენ 5-5 დისულფიდურ ხიდს, რის ხარჯზეც ფორმირდება სპეციფიკური დომენები. პრეპარატი წარმოადგენს ადამიანის სისხლში არსებული პლაზმინოგენის ტრიფსინით გააქტიურების შედეგად მიღებულ პროტეოლიტურ ფერმენტს. იგი იწვევს თრომბის მხოლოდ გარეგან ლიზისს, უპირატესად, ვენებში, რადგან სწრაფად ნეიტრალიზდება ანტიპლაზმინით, რომელიც ჭარბადაა სისხლში.

პლაზმინს აქვს აქტივატორის თვისებები, რომელსაც გადაყავს ენდოგენური პლაზმინოგენი პლაზმინში. ფიბრინის დეგრადაციის პროდუქტები, რომლებიც წარმოიშობიან მისი დაშლის პროცესში, ხელს უშლიან ფიბრინის მონომერების პოლიმერიზაციას და თრომბოპლასტინის წარმოქმნას. თუმცა, პლაზმინს შეუძლია გამოიწვიოს სისხლის შედედების სისტემის აქტივაცია და სისხლის ანტიფიბრინოლიტიკური თვისებების გაუმჯობესება. ამიტომ იგი შეყავთ ჰეპარინთან ერთად.

პლაზმინოგენის აქტივატორით გენერირებულ (წარმოებულ, აგზნებულ) პლაზმინს თრომბების გახსნის გარდა შეუძლია მოახდინოს არა მარტო უჯრედების დაყოფის სტიმულაცია, სახე შეუცვალოს უჯრედის ზედაპირს, გააააქტიუროს სპეციფიკური პროტეაზები, არამედ პროინსულინი და პროადრენოკორტიკოტროპინი გარდაქმნას შესაბამისად, ინსულინად და ადრენოკორტიკოტროპულ ჰორმონად.

მოლეკულური მასების, ენზიმატური და სეროლოგიური თვისებების გათვალისწინებით, პლაზმინოგენის აქტივატორები იყოფა ორ ჯგუფად: ქსოვილოვანი და უროკინაზური ტიპის აქტივატორები.

პლაზმინოგენის ქსოვილოვანი აქტივატორები (ქაპგ).

მათი შედგენილობა სხვადასხვაგვარია სხვადასხვა ორგანოებსა და ქსოვილებში: ადამიანის საშვილოსნოს ქსოვილიდან მიღებული პრეპარატი ხასიათდება მოლეკულური მასით 69 000 და შედგება ორი პოლიპეპტიდური ჯაჭვისაგან მოლეკულური მასებით 31 000 და 38 000; ადამიანის გვამის სისხლძარღვებიდან გამოწვლილულ ფერმენტს აქვს მოლეკულური მასა 60 000 და შედგება ორი, ზომით თითქმის თანაბარი პოლიპეპტიდისაგან. პლაზმინოგენის ქსოვილოვანი აქტივატორები (ქაპგ) შეიძლება არსებობდნენ როგორც პროტეოლიტურად დეგრადირებადი ორჯაჭვიანი, ასევე ერთჯაჭვიანი ფორმით.

ბუნებრივ ***პლაზმინოგენის ქსოვილოვან აქტივატორებს (ბ-ქაპგ)*** მიიღებენ უჯრედების კულტივირების მეთოდით. პრეპარატის მიღების ძირითადი წყაროა ადამიანის მელანომის უჯრედების ხაზი (უჯრედების ხაზი არის უჯრედების ჯგუფი, რომელიც დაცულია კულტურაში პროცესების გზით). ასეთი ფერმენტი მ-ქაპგ ხასიათდება მოლეკულური მასით 72 000 და კულტივირებისა და გაწმენდის პირობებთან დამოკიდებულებით შეიძლება მიღებული იქნას ერთ- ან ორჯაჭვიანი ფორმის სახით. მელანომის კულტურის უჯრედებიდან მიღებული ქაპგ-ის გაწმენდისათვის გამოიყენება აფინური ქრომატოგრაფია 5 აფინური სორბენტის გამოყენებით: კონკანავალინ A, n ამინობენზამიდინი, იმიდინოდიძმარმჟავა, ბორის მჟავა და 5 PW მარკის ლიზინი.

რეკომბინანტული ***პლაზმინოგენის ქსოვილოვანი აქტივატორების (რ-ქაპგ)*** მიღების მეთოდი XX საუკუნის 80-იან წლებში დამუშავდა. ქაპგ გენი ადამიანს აქვს ქრომოსომა 8-ში. რ-ქაპგ -ის კლონირებისა და ექსპრესიის ტექნოლოგებმა შემლეს მიეღოთ რ-ქაპგ E. coli -ის, S. Cerevisiae-ს,აგრეთვე ცხოველურ უჯრედებში სამრეწველო მასშტაბით; ჩატარდა ფართო კლინიკური კვლევები რომ გაეტანათ იგი თრომბოლიტიკების მსოფლიო ბაზარზე.

დამტკიცებულია, რომ ბ-ქაპგ და რ-ქაპგ მიოკარდის ინფარქტის და სხვა ტიპის თრომბოზების დროს თრომბოლიზისური აქტივობით მათი ბიოლოგიური თვისებების აბსოლუტურად იდენტურია. რ-ქაპგ-ს (ალტეპლაზას) დამუშავების ლიდერია ფირმები Genentech და Boehinger Ingelheim, რომლებიც უშვებენ მას სახელწოდებებით - Activase და Actilyse.

პლაზმინოგენის უროკინაზური ტიპის აქტივატორები (უაპგ).

უროკინაზა არის პლაზმინოგენის აქტივატორი, იგი არის ადამიანის შარდში და შედგება ორი პოლიპეპტიდური ჯაჭვისაგან (A და B), რომლებიც შეერთებულია ერთმანეთთან დისულფიდური ხიდით, გვხვდება მაღალ- და დაბალმოლეკულური ფორმები (მ. მ. შესაბამისად - 55 000 და 34 000).

პრეპარატი მიიღება ადამიანის ემბრიონის თირკმლის უჯრედული კულტურისაგან. უროკინაზა ააქტიურებს პლაზმინოგენს და გარდაქმნის მას პლაზმინად. ფიბრინოლიზური ეფექტი უფრო მალე მიიღება, ვიდრე სტრეპტოკინაზისაგან. პრეპარატს უნარი აქვს გააქტიუროს ფიბრინოლიზი როგორც თრომბსშიგნით (ენდოთრომბოლიზი) ასევე მის ზედაპირზე (ეგზოთრომბოლიზი). კლინიკო-ფარმაკოლოგიური დახასიათებით უროკინაზა ახლოსაა სტრეპტოკინაზასთან. უროკინაზას არა აქვს გამოხატული ანტიგენური თვისებები, მისი გამოყენებისას ალერგიული რეაქციების გამოვლინების ნაკლები საშიშროებაა, ამიტომ შეიძლება მისი დანიშვნა განმეორებით.

უროკინაზის ერთჯაჭვიანმა ფორმამ მიიღო პროუროკინაზის სახელწოდება. იგი უროკინაზის პროფერმენტია, არსებობს სხვადასხვა ორგანოებსა და ქსოვილებში, მათ შორის, სისხლის პლაზმაშიც. პროუროკინაზა ერთჯაჭვიანის გლიკოპროტეიდია, შედგება 411 ამინომჟავასაგან. ერთ-ერთი პეპტიდური ბმის პლაზმინით ჰიდროლიზი იწვევს მის ტრანსფორმაციას უროკინაზად.

დიდი მნიშვნელობა აქვს პლაზმინოგენის უროკინაზური ტიპის აქტივატორების მიღებას გენური ინჟინერიის მეთოდით. უროკინაზის/პროუროკინაზის გენი იმყოფება ადამიანის ქრომოსომა 10-ში; E. coli-ში კლონირებული უროკინაზის გენის ექსპრესიის პროდუქტი, შეიცავს ერთ ან ორ ჯაჭვს იმისდა მიხედვით პროტეაზის ინჰიბიტორი იყო თუ არა ფერმენტის გაწმენდის პროცესში. რეკომბინანტული უროკინაზა და პროუროკინაზა ხასიათდებიან უკეთესი თრომბოსელექტიურობით და აქვთ უფრო მცირერიცხოვანი გვერდითი მოვლენები, ვიდრე უროკინაზას.

სტრეპტოკინაზა პირდაპირი მოქმედების თრომბოლიტიკია; იგი არის პლაზმინოგენის აქტივატორი და მიეკუთვნება პირველი თაობის თრომბოლიტიკებს. ფოროვანი მასაა, უსუნო, თეთრი ფერის, ადვილად იხსნება წყალში, მ. მ. 40-50 ათასი.

პრეპარატი მიიღება C ჯგუფის β-ჰემოლიტიკური სტრეპტოკოკისაგან. ეს არის არაპირდაპირი ფიბრინოლიტიკი. აღწევს თრომბის შიგნით და ააქტივებს მასში ფიბრინოლიზს.

თრომბოლიზურ პრეპარატებს შორის სტრეპტოკინაზას უჭირავს მყარი პოზიცია, ხელმისაწვდომია, აქვს დაბალი რეაქტოგენურობა (მის შემდეგ ანტისხეულები 6 თვეში ქრებიან, ამ ცილის იმუნოლოგიური რეაქტოგენულობა გამოუვლინდებათ დამძიმებული ანამნეზის მქონე პაციენტებს).

მედიკამენტების მსოფლიო ბაზარზე ლიდერობენ სტრეპტოკინაზას პრეპარატები მიკრობული ნედლეულიდან: <u>კაბიკაზა (ფირმა Kabi Vitrum), სტრეპტაზა (ფირმა Hoechst), სტრეპტოკინაზა (ფირმა Smith Kline).</u>

ფირმამ Phillips Petrolium (აშშ) დააპატენტა სტრეპტოკინაზას ექსპრესიის მეთოდი S. cerevisiae-ში. იგი იდენტურია Streptococcus equisimilis-ში მიღებული სტრეპტოკინაზისა.

რეკომბინანტული დნმ-ის მეთოდით მიღებულია ვექტორი, რომელიც ატარებს სტრეპტოკინაზას გენს, იგი ადაპტირებულია ბაქტერიულ გენომში ტრანსფორმაციისათვის (აშშ პატენტი). რეკომბინანტული დნმ-ის მეთოდმა საშუალება მოგვცა მიგვეღო საძიებო პროდუქტის მაღალი გამოსავალი - 1გ/ლ ნიადაგზე.

გერმანელების მიერ დაპატენტებულია სტრეპტოკინაზის ფერმენტაციული მიღების მეთოდიც.

სტრეპტოდეკაზა. სტრეპტოკინაზის პროლონგირებული პრეპარატია, მიეკუთვნება იმობილიზებული ფერმენტების რიცხვს, რომელიც პოლისაქარიდული ბუნების წყალში ხსნად მატრიცაზეა დატანილი. საშუალო თერაპიული დოზის ერთჯერადი შეყვანა უზრუნველყოფს სისხლის ფიბრინოლიტიკური აქტივობის გადიდებას 48-72 საათში.

პლაზმინოგენის რეკომბინანტული ქსოვილოვანი აქტივატორი *(აქტილიზე)* წარმოადგენს გლიკოპროტეინს (ენდოთელიუმის მიერ გამომუშავებული ენდოგენური ნივთიერების გლიკოპროტეინის სრული ანალოგს), რომელიც სისტემური შეყვანის შემდეგ პლაზმაში იმყოფება არააქტიურ ფორმაში ფიბრინთან შეკავშირების მომენტამდე. გააქტივების შემდეგ ხელს უწყობს პლაზმინოგენის გადასვლას პლაზმინში და მხოლოდ თრომბის ქსოვილში ფიბრინოლიზის გადიდებით იწვევს ფიბრინული კოლტის გახსნას.

სტრეპტოკინაზასა და პლაზმინოგენის აცილირებული კომპლექსი (სავაჭრო დასახელებაა ემინაზა) მეორე თაობის თრომბოლიტიკია, შემუშავებულია და დაპატენტებულია ინგლისური ფირმის Beecham-ის მიერ. კომპლექსის შემადგენლობაში შემავალი აცილის ჯგუფი იცავს თრომბოლიტიკს ბუნებრივი ინჰიბიტორით - L_2 ანტიპლაზმინით ინაქტივაციისაგან. შევა-რა ემინაზა სისხლის მიმოქცევაში, იწყება აცილის ჯგუფის სწრაფი ჰიდროლიზური მოხლეჩა, აქტიური კომპლექსის გამოთავისუფლება მიმდინარეობს მუდმივი სიჩქარით. კომპლექსი მოქმედებს თითქმის მხოლოდ სისხლის კოლტის ფიბრინზე ისე, რომ არ ეხება ფიბრინოგენს. საზოგადოდ, თრომბოლიტიკების უფრო საშიში გვერდითი მოქმედებაა - მოულოდნელი სისხლდენების წარმოშობა და იგი ემინაზას გამოყენებისას მჟღავნდება ძალიან იშვიათად. ემინაზას საერთაშორისო კლინიკური გამოკვლევების წარმატებამ უზრუნველყო ამ თრომბოლიზური საშუალების აღიარება საერთაშორისო ბაზარზე.

თრომბოლიტიკების სახით მოწოდებულია ქიმერული (ჰიბრიდული) მოლეკულები, რომლებიც შეიცავენ ქაპგ-ის და უროკინაზას დომენებს; ეს ჰიბრიდული მოლეკულები ფიბრინთან ისეთივე ნათესაობით და თრომბების ლიზისის ისეთი უნარით ხასიათდებიან, როგორც რეკომბინანტული ქაპგ. ქიმერული მოლეკულები მიიღება დნმ-ების შერწყმით; იგი იმდენად აქტიურია, მისი სამკურნალო დოზა შეიძლება 4-ჯერ იქნას შემცირებული ქაპგ-სა და უროკინაზასთან შედარებით.

კონსტრუირებულია ქიმერული მოლეკულები, რომლებიც შეიცავენ ქაპგ-ის,პროუროკინაზასა და უროკინაზას ფრაგმენტებს და კლონირებულია ცხოველურ უჯრედებში (ფირმა Ciba-Geigi შვეიცარია).

დამუშავებულია თრომბოლიტიკების მიწოდების გენურ-ინჟინერული სისტემები (აშშ). აღწერილია იმ მონოკლონური ანტისხეულის აგებულება, რომელსაც შეუძლია თრომბოლიზური ცილა მიიტანოს თრომბის წარმოშობის ადგილამდე, გარდა ამისა, ასეთ გააქტივებულ ცილას შეუძლია გააააქტივოს პლაზმინოგენი (ფირმა Genentech).

ანტიკოაგულანტები. ჰეპარინი და მისი წარმოებულები მიეკუთვნებიან ყველაზე უსაფრთხო პრეპარატების რიცხვს. ჰეპარინი მიეკუთვნება სისხლის თხევადი მდგომარეობის რეგულაციის ჰუმორალურ ფაქტორს. იგი ანეიტრალებს სერინული პროტეინაზებისა და ფიბრინული სისტემების მოქმედებას ანტითრომბინ-III ჰეპარინის კომპლექსის წარმოქმნის ხარჯზე (ათ-III ჰეპარინი). ჰეპარინის პრეპარატები ჰეტეროგენულია და შეიცავს მაღალ- და დაბალშეკავშირებად ათ- III-ს, რომელიც პლაზმინოგენის აქტივატორების ინჰიბიტორს წარმოადგენს.

სამედიცინო პრაქტიკაში გამოიყენება დაბალმოლეკულური ან ფრაქციული ჰეპარინის პრეპარატები - *ლოგიპარინი, ფრაქსიპარინი, დალტეპარინი, კლივარინი.* ისინი მიეკუთვნებიან II თაობის ჰეპარინებს. დაბალმოლეკულური ჰეპარინების მიღება ხდება მაღალმოლეკულური ჰეპარინების ფერმენტული დეპოლიმერიზაციით ბაქტერიული ჰეპარინაზის საშუალებით. ჰეპარინი ფიბრინოლიზური სისტემის აქტივობას ამაღლებს ანტიპლაზმინთან კომპლექსის წარმოქმნის ხარჯზე. ჰეპარინი გროვდება ენდოთელიალური უჯრედებისა და სისხლის უჯრედების ზედაპირზე, ქმნის მათ მემბრანებზე 100-ჯერ მეტ კონცენტრაციას, ვიდრე სისხლის პლაზმაში. ამით იგი ენდოთელიუმისა და თრომბოციტების ზედაპირს აძლევს უარყოფით მუხტს და ხელს უშლის მათ ადჰეზიას და აგრეგაციას.

დაბალმოლეკულური ჰეპარინები არ ახდენენ გავლენას კოაგულაციის სიჩქარეზე, ე.ი. ისინი არ ცვლიან სისხლის შედედების დროს, მაგრამ მათი თერაპიული ეფექტი უფრო მაღალია, ვიდრე მაღალმოლეკულური ფორმებისა. ეს იმას მოწმობს, რომ ჰეპარინის მოქმედებაში ძირითადია თრომბოციტების აგრეგაციისა და ადჰეზიის შეზღუდვა. ამ მექანიზმის დამადასტურებელია აგრეთვე, კორელაციის არარსებობა ჰეპარინის კლინიკურ აქტივობასა და სისხლის შედედების დროის გადიდებას შორის.

ანტიკოაგულანტი *ფრაგმინი* (ფირმა Kabi Vitrum, შვეცია) მიიღეს სტანდარტული ჰეპარინისაგან - მისგან გამოწვლილეს ყველაზე მეტი ანტიკოაგულანტური მოქმედების მქონე შემადგენლობა. Fragmin-ს აქვს საკმაოდ დიდი ნახევარდაშლის პერიოდი, რაც იძლევა ერთჯერადი კანქვეშა ინექციის სახით მისი გამოყენების შესაძლებლობას. იგი ამცირებს სისხლში ტრიგლიცერიდების დონეს. მჯო რეკომენდაციას

იძლევა გამოვიყენოთ ფრაგმინი, როგორც სტანდარტი ახალი თაობის ანტიკოაგულანტების სამკურნალო ეფექტისა და უსაფრთხოების შეფასების დროს.

ორგანული სინთეზის მეთოდით (ფირმები Organon, ნიდერლანდები და Choy, საფრანგეთი) მიღებულია ჰეპარინოიდი - ჰეპარინის ანალოგი; ამ პრეპარატის აქტიური საწყისია სულფატირებული ოლიგოსაქარიდები.

ჰირუდინი - პირდაპირი სწრაფი მოქმედების ანტიკოაგულანტია. ეს არის ცილა, რომელსაც გამოიმუშავებს სამედიცინო წურბელის Hirudo medicinalis სანერწყვე ჯირკვალი. იგი ახლაც გამოიყენება წვრილი სისხლძარღვების თრომბოემბოლიების თავიდან ასაცილებლად. ჰირუდინი არის თრომბინის სპეციფიკური და ძლიერი ინჰიბიტორი, მიეკუთვნება პირდაპირი სწრაფი მოქმედების შედედების საწინააღმდეგო პრეპარატების ჯგუფს, რომელიც იწვევს ფიბრინის ძაფების წარმოშობასა და დაგროვებას. იგი თრომბებში ინაქტივაციას უკეთებს ფიბრინთან შეკავშირებულ თრომბინს. არსებობს ჰირუდინის რამდენიმე ვარიანტი HV_1, HV_2, HV_3. უფრო შესწავლილია HV_1., რომელიც წარმოადგენს ცილას მოლეკულური მასით დაახლ. 7 000 და 65 ამინომჟავური ნაშთით. ჰირუდინი ახდენს მხოლოდ თრომბინის ინაქტივაციას და არაა აქტიური ტრიფსინთან და პლაზმინთან დამოკიდებულებაში. ჰირუდინის შეყვანა ზეგავლენას არ ახდენს გულის, სუნთქვის ორგანოების, იმუნური სისტემის მუშაობაზე.

ამჟამად ჰირუდინს ღებულობენ რეკომბინანტული დნმ-ის ტექნოლოგიის გამოყენებით. ჰირუდინის გენი ექსპრესირებულია S. cerevisiae-ში (ფირმები Francgene, Sanofi - საფრანგეთი); პრეპარატის გაწმენდისათვის გამოიყენება მაღალეფექტური სითხოვანი ქრომატოგრაფიის მეთოდი (მესქ, High-performance liquid chromatography, ВЭЖХ).

ფირმა Ciba-Geigi-ის მიერ დამუშავებულია ჰირუდინის ნაწილობრივ დესულფატირებული ვარიანტის (დესულფატოჰირუდინის) S. cerevisiae-ში ექსპრესიის მეთოდი. ერთი სულფოჯგუფის უქონლობის გამო რეკომბინანტული ჰირუდინი ანტიკოაგულანტური აქტიურობით უსწრებს ჰეპარინს.

***C* და *S* ცილები** ანტიკოაგულანტური სისტემის მნიშვნელოვანი ფაქტორებია. C ცილა პირველად იქნა აღწერილი 1960 წელს, როგორც ავტოპროთრომბინი II-ა და მხოლოდ 1976 წელს იქნა გამოყოფილი სუფთა სახით. C ცილა-გლიკოპროტეინი მ. მ. 62000, შედგება ორი ქვეერთეულისაგან, რომლებიც ერთმანეთს უკავშირდებიან დისულფიდური ხიდით; იგი შეიცავს γ- კარბოქსიგლუტამინის მჟავას დაახლოებით 10 ამინომჟავურ ნაშთს.

C ცილა შედედების სისტემის ვიტამინ-K-დამოკიდებული ინჰიბიტორია. არსებობს მონაცემები, რომ C ცილის დონის შემცირება სისხლში თრომბოზების წარმოშობის რისკთანაა დაკავშირებული, ამასთანავე ამ ცილის დეფიციტი არსებობს მემკვიდრული და შეძენილი; ასე მაგალითად, ცილა C-ს უკმარისობა შეინიშნება ღვიძლის დაავადებების დროს და ისიც არაა გამორიცხული, რომ მისი სინთეზი ღვიძლში მიმდინარეობდეს.

S ცილა ცილა C-ს კოფაქტორია და მასთან წარმოშობს გააქტივებულ კომპლექსს თრომბოციტების, ენდოთელიალური და სხვა უჯრედების ფოსფოლიპიდური მემბრანების ზედაპირზე; ამის შედეგად ცილა C-ს კატალიზური აქტივობა იზრდება. S ცილის მ.მ. არის 69 000 .

ფირმა Eli Lilly -ის მიერ დამუშავებულია რეკომბინანტური ცილა C-ს მიღების ტექნოლოგია ადენოვირუსებით ტრანსფორმირებული თირკმლის უჯრედების კულტურაში. გაწმენდილი ცილა 90%-ში წარმოადგენს ორპეპტიდურ კომპონენტს და 10%-ში - ერთპეპტიდურს. იგი აქტივობით არ ჩამორჩება ცილა C-ს, რომელიც იმყოფება ადამიანის სისხლის პლაზმაში. ცილა C-ს გენური ინჟინერიით მიღებული პრეპარატი შემოთავაზებულია ორთოპედიული და აბდომინალური ქირურგიის, აგრეთვე ფილტვის ემბოლიის შედეგების სამკურნალოდ.

ცილა C-ს ანტიკოაგულანტური და ფიბრინოლიტიკური აქტივობის ორი რეკომბინანტული ჰიბრიდი (ფირმა Hoechst Japan) ადამიანის სისხლის ცილა C-ს არ ჩამორჩება, იცავენ მიოკარდის მწვავე ინფარქტისა და ოპერაციისშემდგომი თრომბოზებისაგან.

1982 წელს გამოყოფილია და გააქტივებულია ცილა C-ს აქტივაციის კიდევ ერთი კოფაქტორი - თრომბომოდულინი, განლაგებული ენდოთელიალური უჯრედების მემბრანებში და წარმოადგენენ თრომბოციტების კოაგულაციისა და აგლუტინაციის კალციუმ-დამოკიდებულ ინჰიბიტორს. თრომბომოდულინი დაუტოტავი ჯაჭვის გლუკოპროტეიდია მოლ. მასით 68 000-77 000, შეიცავს 117 ამინომჟავას ნაშთს. გამოყოფილია თრომბომოდულინის სტრუქტურული გენი, გენი კლონირებულია შემდგომი ექსპრესიით მაიმუნის თირკმლის უჯრედებში (ფირმა Asahi Chemical იაპონია).

7. 3. ამინომჟავები

ამინომჟავები ფართოდ გამოიყენება **მედიცინაში** ოპერაციის შემდგომი თერაპიისათვის, ცნს, კუჭისა და თორმეტგოჯა ნაწლავის წყლულოვანი დაავადების, ღვიძლის (სეროტონინი, ასპარაგინი, ვალინი, ჰისტიდინი, გლიცინი, გლუტამინი და გლუტამინის მჟავა, იზოლეიცინი, ლეიცინი, მეთიონინი, პროლინი, თიროზინი, ტრიფტოფანი, ფენილალანინი, ცისტეინი) დაავადებების სამკურნალოდ; **კვების მრეწველობაში,** როგორც საგემოვნო თვისებების გამაუმჯობესებელი, ანტიოქსიდანტი და საკვები დანამატი (ალანინი, ასპარაგინის მჟავა, გლიცინი, გლუტამინის მჟავა, ლიზინი, ცისტეინი); **სოფლის მეურნეობაში** (ლიზინი, ტრეონინი), **ქიმიურ მრეწველობაში** - საწყის ნედლეულად პოლიმერების სინთეზისა და კოსმეტიკური საშუალებების წარმოებისათვის.

მსოფლიოში ყოველწლიურად 80 000 ტონაზე მეტი, 5 და მეტი მილიარდი დოლარის ღირებულების ამინომჟავას წარმოება ხდება; ამასთანავე საერთო მოცულობის ნახევარზე მეტი მოდის L გლუტამინის მჟავას წილად, რომელიც გამოიყენება ფართოდ გამოყენებული გემოსა და სურნელების ნატრიუმის გლუტამატის მისაღებად.

ამინომჟავებს სამრეწველო მასშტაბით ღებულობენ ექსტრაქციით ცილოვანი ჰიდროლიზატიდან ან ორი არასპორირებადი ნიადაგის გრამ-დადებითი ბაქტერიის - Corinebacterium ან Brevi bacterium spp მეტაბოლიზმის პროდუქტების გაწმენდით. ამ მიკროორგანიზმების პროდუქტიულობის ასამაღლებლად იყენებენ მუტაგენეზს შტამების შემდგომი გადარჩევით, რომლის დროსაც იღებენ გარკვეული, სასურველი ამინომჟავას მაღალმწარმოებლურ შტამს. ამ მეთოდის ეფექტურობა დაბალია. ალტერნატიული მიდგომაა - იმ სპეციფიკური გენის გამოყოფა და შეცვლა, რომელიც ახდენს განსაზღვრული ბიოქიმიური რეაქციის საკვანძო ფერმენტების კოდირებას. მაგალითად, ამინომჟავა ტრიფტოფანის მიღების გენურ-ინჟინრული მეთოდი, რომლის მასინთეზირებელია C. Glutamicum-ის (Corynebacyerium-ის ერთ-ერთი ტიპია), მდგომარეობს შემდეგში: ველური ტიპის C. Glutamicum-ის უჯრედებში შეიყვანეს იმ გენის ასლი, რომელიც ახდენს ფერმენტ ანტრანილატსინთაზის კოდირებას, ეს ფერმენტი კი, ტრიფტოფანის სინთეზის ლიმიტირებას აწარმოებს.

ტრიფტოფანის ბიოსინთეზის მაღალ დონეს აღწევენ C. Glutamicum-ის უჯრედებში სამი საკვანძო ფერმენტის (3- დეზოქსი- დ- არაბინოჰეპტულოზონატ-7-ფოსფატსინთაზის, ანტრანილატსინთატაზის და ანტრანილატფოსფორიბოზილტრანს-ფერაზის) მოდიფიცირებული გენების შეყვანით. ამინომჟავების სინთეზისათვის ალტერნატივის სახით შეიძლება გამოვიყენოთ E. coli.

ცნობილია, რომ უჯრედების, ქსოვილებისა და ორგანოების ფუნქციის მნიშვნელოვან რეგულატორს, რომელიც ხორციელდება ორგანიზმის თხევადი არის საშუალებით, წარმოადგენს α_2 მაკროგლობულინი (მგ). ამ ცილას უნარი აქვს მოახდინოს პროტეოლიტური ფერმენტების ინჰიბირება, ციტოკინების ტრანსპორტირება, ენდოციტოზის პროცესების რეგულირება, სისხლის სხვადასხვა უჯრედების კოოპერირება, მიკროორგანიზმებისა და გენების პრეზენტირება.

ადამიანის სისხლის პლაზმიდან α_2 მაკროგლობულინის გაწმენდით (გაწმმენდა მოიცავდა პოლიეთილენგლიკოლით დალექვას, ანიონმიმომცვლელი და მეტალხელატური აფინური ქრომატოგრაფიების გამოყენებას) მიღებულია ნატივური ცილა α_2 მაკროგლობულინი, რომელსაც პროტეინებთან დამოკიდებულებაში აქვს უნიკალური რეგულატორული - მაღალი ინჰიბირების თვისება.

რუსული წარმოების პრეპარატის, რომელსაც უშვებს სამეცნიერო-საწარმოო გაერთიანება ,,ვექტორი", ჩვენებაა ანთებითი პროცესები, პროტეინაზების დოზის გადაჭარბება, მიკროორგანიზმებით გამოწვეული სეპსისური მდგომარეობა. ნატივური α_2 მაკროგლობულინისაგან მიღებულია სტაბილური, პლაზმინთან და α- იფ-2 ინტერფერონთან ბიოლოგიურად თავსებადი კომპლექსები. α_2- მაკროგლობულინ-α-იფ-2 კომპლექსის მიწოდება უშუალოდ სიმსივნეში ძალიან პერსპექტიულია ონკოლოგიაში. ნებისმიერი წარმოშობის ბუნებრივი პეპტიდები უნივერსალურია, ისინი, ასტიმულირებენ-რა იმუნურ სისტემას, ასრულებენ დაცვით ფუნქციებს ძუძუმწოვრების ორგანიზმში. პოლიპეპტიდების მისაღებად ძვირფას ნედლეულს წარმოადგენენ ჰიდრობიონტები. ჰიდრობიონტების პირველი პრეპარატი იყო განგლინი, რომელიც 1981 წელს იყო მიღებული რუსული წარმოების ,,ბიომედ"-ის მიერ წყნარი ოკეანის არქიტევტისების (Кальмар, Squir, გიგანტური მოლუსკია) განგლიებისაგან ულტრაფილტრაციული გაწმენდით და პეპტიდების გამოყოფით. განგლინი შეიცავს 45 პეპტიდურ ფრაქციას.

განგლინის იმუნომოდულირების თვისებამ განაპირობა მისი გამოყენება ნებისმიერი მეორადი იმუნოდეფიციტების დროს. პრეპარატი ახდენს მარეგულირებელ გავლენას იმუნიტეტის უჯრედული

და ჰუმორალური რგოლების რეაქციებზე და ორგანიზმის არასპეციფიკურ რეზისტენტობაზე, სისხლის შრატში სპეციფიკური ანტისხეულების სინთეზზე, ამცირებს ავტოიმუნური პროცესების განვითარებას, აქვს ანტიჰისტამინური, ანტისეროტონინური, ანთების საწინააღმდეგო და სხვა თვისებები.

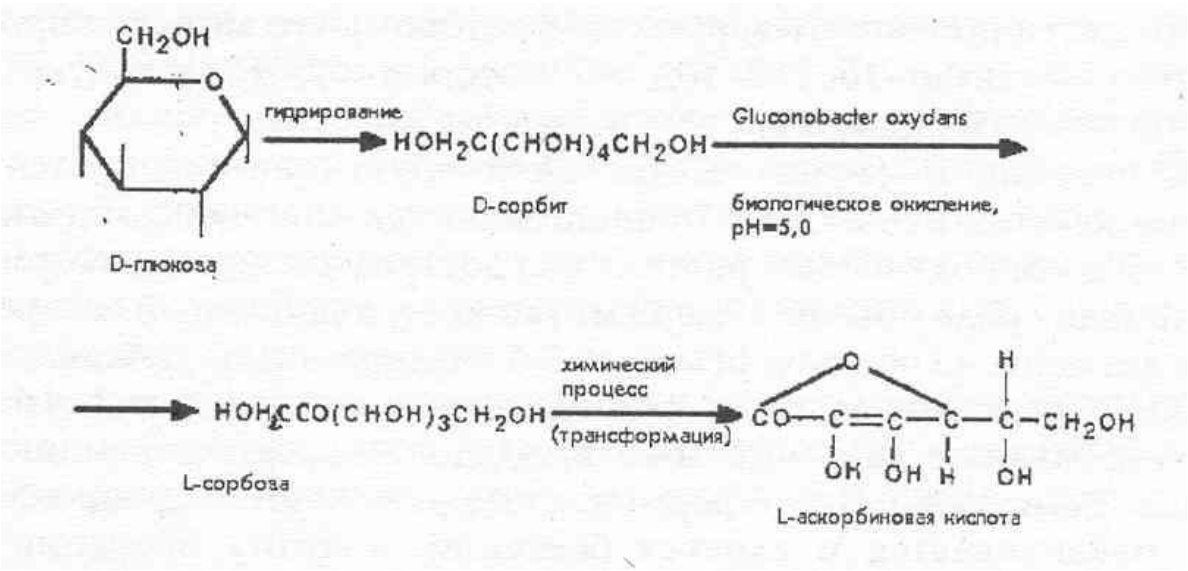
განგლინი დარეგისტრირებულია ვეტერინარული საკვები დანამატის სახით; იგი ახდენს იმუნოდეფიციტების კორიგირებას და ჰომოპოეზზე დადებით გავლენას.

ჰიდრობიონტების პრეპარატია - *მოლოკინი* - მიღებულია ორაგულის ჯიში თევზების თესლისაგან. იმუნომარეგულირებელი თვისებების გარდა აქვს გონადოტროპული მოქმედებაც.

პრეპარატი *ვერმინი* (რუს. „ბიომედ“-ი) წარმოადგენს ჭია Eisenia foetida-დან გამოწვლილული ჰომოგენატის სტერილური, ლიოფილურად გამომშრალი ცილებისა და პეპტიდების ნარევს. პრეპარატი არატოქსიკურია, არ ავლენს მუტაგენურ აქტივობას; აქვს ოქსიდორედუქტაზების, ტრანსფერაზებისა და ჰიდროლაზების ფერმენტაციული აქტივობა, იმუნომოდულირების თვისება. მალამო ვერმინის შემადგენლობით მოწოდებულია ხანგრძლივად შეუხორცებელი ჩირქოვანი ჭრილობების სამკურნალოდ.

7. 4. L - ასკორბინის მჟავას სინთეზი

L - ასკორბინის მჟავას (ვიტამინი C) მსხვილმასშტაბიანი წარმოებისათვის ახლახან იყენებდნენ და ისევ გამოიყენება შრომატევადი პროცესი, რომელიც მოიცავდა ერთ მიკრობიოლოგიურ და რამდენიმე ქიმიურ სტადიას. საწყის სუბსტრატად გვევლინებოდა D გლუკოზა. ასკორბინის მჟავას სამრეწველო სინთეზის სქემა მოცემულია ნახ. 10-ზე



ნახ. 10. ასკორბინის მჟავას სამრეწველო სინთეზი

ამ პროცესის ბოლო ეტაპზე 2-კეტო-L-გულონის მჟავა (2KLG), მჟავა არეში გარდაიქმნება L-ასკორბინის მჟავად.

სხვადასხვა მიკროორგანიზმების ბიოქიმიურმა შესწავლამ გვიჩვენა, რომ 2KLG შეიძლება მივიღოთ, მიკროორგანიზმების Corinebacterium და Erwinica herbicola-ს თანაკულტივირების ჩართვით გლუკოზის 2KLG-ად გარდაქმნის პროცესში. მაგრამ ერთი ორგანიზმის კულტივირების პირობები მიუღებელია მეორისათვის. ამას მივყავართ ერთ-ერთი მათგანის გამორეცხვამდე ნიადაგიდან. ამგვარ შემთხვევებში შეიძლება მოვახდინოთ მიკროორგანიზმების კულტივირება თანმიმდევრობით, თუმცა ძნელია ეს პროცესი უწყვეტი გავხადოთ, რამდენადაც მიკროორგანიზმების ზრდა-განვითარებისათვის აუცილებელია სხვადასხვა ნიადაგები.

უფრო მარტივი ხერხია, შეიქმნას ერთი მიკროორგანიზმი, რომელსაც უნარი ექნება გარდაქმნას D გლუკოზა 2KLG-ად; ეს არის Corinebacterium 2,5-DKG-რედუქტაზის გენის გამოყოფა და მისი შეყვანა Erwinica herbicola-ში.

COOH-CO-CHOH-CHOH-CO-CH_2OH **CHO-CHOH-CHOH-CHOH-CHOH-CH_2OH**

Erwinica herbicola-ს ტრანსფორმირებული უჯრედები აქტიურად გარდაქმნიან D გლუკოზას უშუალოდ 2KLG-ად. ამ დროს ბაქტერიული უჯრედის შიდა მემბრანაში განლაგებული საკუთარი ფერმენტები გარდაქმნიან გლუკოზას 2,5-DKG-დ (2, 5- დიკეტოგლუკანის მჟავა), ხოლო 2,5-DKG-რედუქტაზა, რომელიც ციტოპლაზმაშია ლოკალიზებული, ახდენს 2,5-DKG-ის 2KLG-ად გარდაქმნის პროცესის კატალიზს.

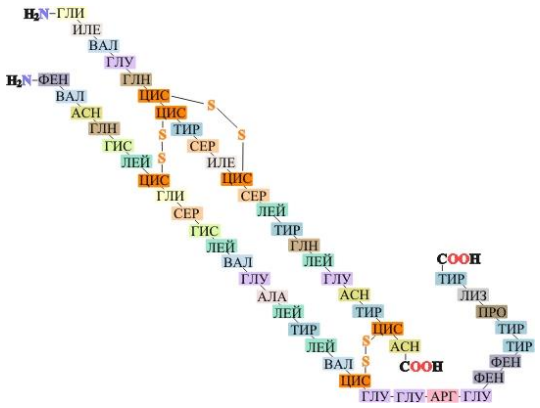
გენეტიკური მანიპულაციების საშუალებით შესაძლებელი გახდა ერთ ორგანიზმში განხორციელებულიყო ყველა ის მეტაბოლური რეაქცია, რომლებიც მრავალ სხვადასხვა მიკროორგანიზმში მიმდინარეობდა. ამ ჰიბრიდმა შეიძინა საბოლოო პროდუქტის სინთეზირების უნარი. ასეთი ორგანიზმი გამოიყენება, როგორც ფაბრიკა 2KLG-ის წარმოებისათვის, რომელიც L-ასკორბინის მჟავას ამჟამადაც ყველაზე მიღებული სინთეზის ამ პროცესში, სამ სტადიას ცვლის.

7. 6. ჰორმონალური პრეპარატები

7.6. 1. ინსულინი

ინსულინი კუჭქვეშა ჯირკვლის ლანგერჰარსის კუნძულების β უჯრედების მიერ სინთეზირდება; ადამიანის ინსულინი მ. მ. 5808, შედგება 51 ამინომჟავასაგან (ნახ. 11), რომლებიც წარმოშობენ ორ - ერთმანეთთან დისულფიდური ხიდით დაკავშირებულ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს (ერთი A ჯაჭვი შედგება 21, ხოლო მეორე - B ჯაჭვი 30 ამინომჟავას ნაშთისაგან). ჯაჭვების ამინომჟავური შემადგენლობა სახეობრივსპეციფიკურია. პროინსულინი სინთეზირდება დნმ-ისა და რნმ-ის მიერ მართული სინთეზით β უჯრედებში. პროინსულინის გრძელი ჯაჭვი გოლჯის აპარატის გრანულებში ჩალაგდება, სადაც ჰიდროლიზის შედეგად, მას მოწყდება 4 ამინომჟავა, წარმოიშობა ინსულინი და C პეპტიდი. β უჯრედების გრანულებში ინსულინი დეპონირდება კრისტალების სახით, რომლებიც შედგებიან 2 ატომი თუთიისა და 6 მოლეკულა ინსულინისაგან. ადამიანის კუჭქვეშა ჯირკვალი მთლიანად შეიცავს 8 მგ ინსულინს, რაც მიახლოებით 200 ბიოლოგიურ ერთეულს უდრის (ერთეულების რაოდენობა პრეპარატის მასის მიხედვით განისაზღვრება; ინსულინის არსებული სტანდარტი შეადგენს 28 ერთ/მგ).

ინსულინს აქვს მძლავრი მოქმედება, რაც მოიცავს ნუკლეინის მჟავებისა და ცილების ბიოსინთეზს; ნახშირწყლების, ლიპიდების, ცილების ცვლას; მაღალენერგეტიკული ნაერთების პროდუცირებას. ინსულინი არეგულირებს ნახშირწყლების ცვლას, აუმჯობესებს ქსოვილების მიერ გლუკოზის შეთვისებას და ხელს უწყობს მის გარდაქმნას გლიკოგენად, ამსუბუქებს გლუკოზის შეღწევას ქსოვილების უჯრედებში; ამცირებს ჰიპერგლიკემიას და გლუკოზურიას, კუნთებსა და ღვიძლში ავსებს გლიკოგენის დეპოს, ამცირებს გლუკოზის წარმოშობას, ხსნის დიაბეტურ ლიპემიას, აუმჯობესებს ავადმყოფის საერთო მდგომარეობას.



ნახ.11. ინსულინი

ნახ. 12. ინსულინის სამრეწველო წარმოება

პირველი ტიპის შაქრიანი დიაბეტით (ინსულინდამოკიდებული დიაბეტი - იდშდ) ოფიციალურადაა დაავადებული მსოფლიო მოსახლეობის დიდი პროცენტი და იგი იკავებს გულსისხლძარღვთა და ონკოლოგიური დაავადებების შემდეგ ერთ-ერთ წამყვან ადგილს; დიაბეტი არის ინვალიდობისა და მაღალსიკვდილიანობის მიზეზი. მეორე ტიპის დიაბეტი - ინსულინარადამოკიდებული დიაბეტი გულისხმობს დიაბეტის უფრო მარტივ ფორმებს. ამ ტიპის დიაბეტით ხშირად ავადობენ მსუქანი ადამიანები.

1922 წელს ცხოველის კუჭქვეშა ჯირკვლიდან გამოყოფილი ინსულინი ტორონტოში (კანადა) პირველად შეუყვანეს 10 წლის ბავშვს. შედეგი ძალიან კარგი იყო. ერთი წლის შემდეგ ამერიკულმა ფირმამ Eli Lilly გამოუშვა ცხოველური ინსულინის პირველი პრეპარატი. მხვილფეხა რქოსანი ცხოველისა და ღორის კუჭქვეშა ჯირკვალს გაყინავენ -70^0 C-ზე და ვაგონ-მაცივრებით (რეფრეჟერატორებით) გააგზავნიან ფარმაცევტულ საწარმოში (ორგანოპრეპარატების ქარხანაში). 100 გრამი კრისტალური ინსულინის მისაღებად 1 ტონა კუჭქვეშა ჯირკვალი მაინც არის საჭირო (ერთი კუჭქვეშა ჯირკვლის წონაა - 200-250 გრამი). ინსულინი საჭირო იყო შეყვანილი ყოფილიყო დღე-ღამეში ოთხჯერ.

1935 წელს დანიელმა მკვლევარმა ხაგედორნმა შემოგვთავაზა პროლონგირებული პრეპარატი - პროტამინ-ცინკ-ინსულინი (შეიყვანება ყოველ 24 საათში).

ინსულინის პირველი კრისტალები 1952 წელს იქნა მიღებული; დაიხვეწა მისი გაწმენდის მეთოდები (იმუნოელექტროფორეზი, მაღალეფექტური სითხოვანი ქრომატოგრაფია) სხვა ჰორმონალური ნივთიერებებისაგან, როგორიცაა გლუკონი, სომატოსტატინი და ინსულინის დეგრადაციის პროდუქტები. ასე მიიღეს ჰომოგენური ერთკომპონენტიანი ინსულინი.

1954 წელს ინსულინის სტრუქტურის გაშიფვრისათვის ინგლისელმა ბიოქიმიკოსმა გ. სენჯერმა მიიღო ნობელის პრემია.

ინსულინის სინთეზი პირველად მოხდა 1963-65 წლებში. მეოცე საუკუნის 80-იან წლებამდე გამოიყენებოდა ცხოველის კუჭქვეშა ჯირკვლიდან მიღებული ინსულინი. ცოტა განსხვავებულია საქონლისა და ღორის ჯირკვლებიდან მიღებული ფარმაცევტული პროდუქტები. ადამიანის თერაპიისათვის ყველაზე უკეთესია ჰომოლოგიური ანუ ამ შემთხვევაში, ადამიანის ინსულინი.

1980 წელს საბავშვო ფარმაცევტულმა კომპანიამ Novo დაამუშავა ღორის ინსულინის ადამიანის ინსულინად გარდაქმნის მეთოდი; მოხდა B ჯაჭვის 30 ამინომჟავიანი ფრაგმენტის ალანინის ჩანაცვლება ტრეონინის ფრაგმენტით და გაწმენდის მიზნით პროდუქტის შემდგომი ქრომატოგრაფირება. შედეგად მიიღეს ადამიანის - 99% სიწმინდის მქონე ინსულინი.

მოლეკულური ბიოლოგიის მიღწევებმა საშუალება მისცა მეცნიერებს დაედგინა კუჭქვეშა ჯირკვლის ლანგერჰარსის კუნძულების β უჯრედებში ინსულინის ბიოსინთეზის ეტაპები:

ა) კოდირებული ინფორმაცია ჰორმონის სტრუქტურის შესახებ მოთავსებულია ინსულინის გენში (დნმ-ის მონაკვეთი) მე-11 ქრომოსომაში;

ბ) ეს ინფორმაცია რნმ-პოლიმერაზით გადმოიწერება ინსულინის გენიდან რიბოსომებზე. აქ მიმდინარეობს ამინომჟავების შეერთება ცილების წარმოქმნისათვის. რიბოსომებზე მიმდინარეობს 109 ამინომჟავასაგან პოლიპეპტიდური ჯაჭვის აწყობა, რომლის დროსაც რესტრიქტაზების გავლენით

წარმოიშობა პრეპროინსულინი და ასობით და ათასობით ნუკლეოტიდური ფრაგმენტები, მათგან მხოლოდ 23 ამინომჟავა მონაწილეობს პეპტიდ პროინსულინის სინთეზში, რომელიც სულ 86 ამინომჟავასაგან შედგება. პროინსულინი დაიგრიხება ისე, რომ მისი თავი და ბოლო ერთმანეთს მიუახლოვდებიან, ამასობაში შუა ნაწილიდან ფრაგმენტი მოწყდება რესტრიქციის ფერმენტის მონაწილეობით (შუა ნაწილის ამინომჟავური ფრაგმენტი ასრულებდა იმ მოვალეობას, რომ ინსულინის ორი ჯაჭვი ერთმანეთის მიმართ იჭერდეს სწორ მდებარეობას). შუა ფრაგმენტის მოწყვეტის შემდეგ დარჩენილი ნაწილი დალაგდება ინსულინის ორჯაჭვიან მოლეკულად.

დიდ ბრიტანეთში E. coli-ის საშუალებით მოხდა ადამიანის ინსულინის ორივე ჯაჭვის სინთეზი; ეს ჯაჭვები შემდეგ შეაერთეს ბიოლოგიურად აქტიური ჰორმონის მოლეკულად. ერთუჯრედიანმა ორგანიზმმა თავის რიბოსომებზე შეძლოს ბიოლოგიურად აქტიური ჰორმონის სინთეზი, იგი უნდა აღიჭურვოს საჭირო პროგრამით, ე. ი. მას უნდა შეუყვანონ ჰორმონის გენი. ქიმიური მეთოდით მიიღებენ გენს, რომელიც აპროგრამებს ინსულინის წინამორბედის გენს (ან ინსულინის ჯაჭვებს ცალ-ცალკე), ოპერაციას ატარებენ ბიოქიმიკოსი-სპეციალისტები. შემდეგი ეტაპია ინსულინის წინამორბედის გენის ჩართვა E. coli-ის გენომში, ამ ამოცანას ასრულებს გენური ინჟინერია. E. coli-იდან ცალკე გამოყოფენ პლაზმიდას, რომელიც რესტრიქტაზას შეესაბამება. სინთეზური გენი ჩაინერგება პლაზმიდაში, რის შედეგადაც E. coli იძენს ცილოვანი ჯაჭვის სინთეზირების უნარს, რომელიც შედგება გალაქტოზიდაზისა და ინსულინისაგან. სინთეზირებულ პოლიპეპტიდებს მოახლეჩენ ფერმენტს ქიმიური გზით და ასუფთავებენ. ერთ ბაქტერიულ უჯრედში სინთეზირდება დაახლ. 100 000 მოლეკულა ინსულინი.

E. coli-ის მიერ პროდუცირებული ჰორმონალური ნივთიერების ბუნება განპირობებულია იმით, რომელი გენი ჩაინერგება ერთუჯრედიანი ორგანიზმის გენომში. თუ კლონირებულია ინსულინის წინამორბედის გენი, ბაქტერია ახდენს ინსულინის წინამორბედის სინთეზს, რომელიც განიცდის შემდეგ გადამუშავებას რესტრიქტაზებით პრეპეპტინის მოწყვეტით და C პეპტიდის გამოცალკევებით, რის შემდეგაც მიიღება ბიოლოგიურად აქტიური ინსულინი. ადამიანის გასუფთავებული ინსულინის მისაღებად, ბიომასიდან გამოყოფილი ჰიბრიდული ცილა განიცდის ქიმიურ-ფერმენტაციულ ტრანსფორმაციას, რასაც მოსდევს ქრომატოგრაფიული (ფრონტალურ, გელშემჟონი, ანიონმცვლელი ქრომატოგრაფიული მეთოდებით) გაწმენდა.

რუსეთის მეცნიერებათა აკადემიის ბიოორგანული ქიმიის ინსტიტუტში მიღებულია რეკომბინანტული ინსულინი E. coli-ის გენურ-ინჟინერული შტამების გამოყენებით. გამოზრდილი ბიომასიდან გამოიყოფა წინამორბედი, ჰიბრიდული ცილა, რომელიც პრეპროინსულინის შემცველი მთელი უჯრედული ცილების 40%-ის რაოდენობით სინთეზირდება. მისი ინსულინად გადაქცევა in vitro ხორციელდება იმავე თანმიმდევრობით, რაც in vivo, გაივლის მრავალსაფეხურიან ქრომატოგრაფიულ გასუფთავებას (იონმცვლელი, გელური, მესქ ქრომატოგრაფიით), მიიღება ბუნებრივი აქტივობისა და მაღალი სიწმინდის ადამიანის ინსულინი.

აფინური ქრომატოგრაფიის გამოყენებამ საგრძნობლად შეამცირა პრეპარატში მაღალი მოლეკულური მასის მქონე დამაბინძურებელი ცილების არსებობა. ასეთ ცილებს მიეკუთვნება პროინსულინი და ნაწილობრივ ის პროინსულინები, რომლებსაც აქვთ უნარი აწარმოონ ანტიინსულინური ანტისხეულების გამომუშავება. ინსულინის სტანდარტიზაცია დაბინძურების მიხედვით მოიცავს: ა) ჩვეულებრივი და ბ) გაუმჯობესებული პრეპარატების მიღებას.

ადამიანის ინსულინის გამოყენებას თერაპიის დასაწყისიდანვე მივყავართ ალერგიული რეაქციების წარმოშობის მინიმუმამდე. ინსულინური თერაპიის ყველაზე გავრცელებული გართულებებია ჰიპოგლიკემიური მდგომარეობა, ინსულინის გამოყენების სიჭარბის ნიშნებია ცნს ფუნქციის დარღვევა (ცნობიერების არევა, უცნაური ქცევა, კომა).

კომპანია ,,ელი ლილი“ ადამიანის ინსულინის მასობრივი წარმოებისათვის (ნახ. 12) იყენებს რეკომბინანტული დნმ-ის ტექნოლოგიას. იგი ადამიანის პროინსულინის კომპლემენტარულ-დნმ გენს ათავსებს E. coli-ში ან S. cerevisiae-ში და გამომუშავებულ პროინსულინს გარდაქმნის ინსულინის მოლეკულად. ამ ფირმის მიერ გამოშვებულ ადამიანის ინსულინებს ჰუმულინები ჰქვია; გამოდის დასახელებებით: რეგულარული, ჰნპ, ლენტე, ულტრალენტე და მათი კომბინაციები. ადამიანის ინსულინი სწრაფად აბსორბირდება, მაგრამ აქვს ხანმოკლე მოქმედება, ვიდრე ცხოველურ ინსულინს.

ინსულინის მოლეკულაში აღმოჩენილია უბნები, რომლებსაც მნიშვნელობა აქვთ მის ფიზიკო-ქიმიური და ბიოლოგიური თვისებების განსაზღვრაში. თუ ამ უბნებში შევიტანთ ამინომჟავურ თანამიმდევრობაში მუტაციურ ცვლილებებს, შეიცვლება მთელი მოლეკულის თვისებებიც.

გენური ინჟინერიით მიღებული ინსულინის ხარისხის კონტროლი ითვალისწინებს დამატებითი მაჩვენებლების კონტროლს, რომლებიც ითვალისწინებენ რეკომბინანტული შტამებისა და პლაზმიდების სტაბილურობას, პრეპარატში გარეშე გენეტიკური მასალის გამორიცხვას, იდენტურობას და ა. შ. სულ 22 პარამეტრის დაცვას.

ამჟამად მედიცინაში სამი ტიპის ინსულინი გამოიყენება:

- სწრაფად დაწყებული ეფექტით და ხანმოკლე მოქმედებით;
- მოქმედების საშუალო ხანგრძლივობით;
- ნელა გამომჟღავნებული ეფექტით და ხანგრძლივი მოქმედებით.

ხანმოკლე მოქმედების ინსულინი - რეგულარული ინსულინი - წარმოადგენს ნეიტრალური pH-ის დროს ხსნად კრისტალურ თუთია-ინსულინს, რომლის ეფექტი ვითარდება 15 წუთში მისი კანქვეშ შეყვანიდან და გრძელდება 5-7 საათს.

მოქმედების ხანგრძლივობის გადიდების მიზნით ინსულინის ყველა სხვა პრეპარატები მოდიფიცირებულია და ნეიტრალურ არეში გახსნის დროს წარმოშობენს სუსპენზიას. ისინი შეიცავენ პროტამინს ფოსფატურ ბუფერში - *პროტამინ-თუთია-ინისულინი და ჰნპ (ჰაგედორნის ნეიტრალური პროტეინი) - ჰნპ-ინსულინი* ან კიდევ, თუთიის სხვადასხვა კონცენტრაციები აცეტატურ ბუფერში - *ინსულინები: ულტრალენტე, ლენტე, სემილენტე.*

საშუალო მოქმედების ხანგრძლივობის ინსულინის პრეპარატები შეიცავენ პროტამინს, რომელიც ცილაა საშუალო მ.მ. 4400, მდიდარია არგინინით და მიიღება ცისარტყელა-კალმახის თესლისაგან. კომპლექსის წარმოსაქმნელად საჭიროა პროტამინი და ინსულინი თანაფარდობით 1: 10. კანქვეშ შეყვანილი პროტეოლიტური ფერმენტები შლიან პროტამინს და ინსულინს შეწოვის საშუალებას აძლევენ.

ჰნპ-ინსულინი არ შეიცვლის ფარმაკოლოგიურ პროფილს, თუ მას შევურევთ რეგულარულ ინსულინს. ჰნპ-ინსულინი სჯობია ინსულინ-ლენტეს ნარევებში, თუ მასთან ერთად ნარევში შედის რეგულარული ინსულინი.

ფოსფორულ ბუფერში ყველა ინსულინი (ღორის, ხარის, ადამიანის) ადვილად წარმოშობს კრისტალებს თუთიასთან, მაგრამ მხოლოდ ხარის ინსულინის კრისტალებს აქვთ საკმარისი ჰიდროფობურობა, რომ უზრუნველყონ ინსულინის ისეთივე შენელებული და სტაბილური გამოთავისუფლება, როგორიც დამახასიათებელია ულტრალენტესათვის. ღორის ინსულინის თუთიის შემცველი კრისტალები უფრო სწრაფად იხსნება, ეფექტიც იწყება უფრო ადრე, მოქმედება კი - ხანმოკლეა. ამიტომ არ არსებობს პრეპარატი ულტრალენტე, რომელიც მხოლოდ ღორის ინსულინს შეიცავს. ღორის მონოკომპონენტური ინსულინი გამოშვებულია დასახელებებით: ინსულინ-სუსპენზია, ინსულინ-ნეიტრალი, ინსულინ-იზოფანი, ინსულინ-ამინოხინურიდი.

ინსულინ-ლენტე ესაა 30% ინსულინ-სემილენტე 70% ინსულინ-ულტრალენტესთან ერთად. ინსულინ-სემილენტე არის ინსულინის ამორფული პრეციპიტატი - დანალექი, თუთიის იონებით, აცეტატურ ბუფერში, რომლის ეფექტი შედარებით სწრაფად დგება, ხოლო ინსულინ-ულტრალენტე არის ცუდად ხსნადი კრისტალური ცინკ-ინსულინი, რომლის მოქმედება ნელა იწყება, მაგრამ პროლონგირებულია. ეს ორი კომპონენტი უზრუნველყოფს კომბინაციას შედარებით სწრაფი აბსორბციით და სტაბილური ხანგრძლივი მოქმედებით. ამით ინსულინ-ლენტე გადაიქცა მოხერხებულ თერაპიულ საშუალებად.

ინსულინის შეყვანის დროს აეროზოლის სახით ცხვირის ლორწოვან გარსში - პლაზმაში პრეპარატის ეფექტური კონცენტრაცია უფრო მალე დგება, თუმცა, ინსულინის ხანგრძლივი ინტრანაზალური შეყვანა ტოქსიკურად მოქმედებს ლორწოვან გარსზე.

7.6. 2. სომატოტროპული ჰორმონი (სტჰ) ანუ ადამიანის ზრდის ჰორმონი

სომატოტროპული ჰორმონი პეპტიდური ჰორმონია, რომელიც შედგება 191 ამინომჟავასაგან, სეკრეტირდება ჰიპოფიზის წინა წილის მიერ. გვამის მასალის ჰიპოფიზიდან პირველად გამოყვეს და გაასუფთავეს 1963 წელს. ამ ჰორმონის დეფიციტს მივყავართ ჰიპოფიზურ ჯუჯობამდე, ასეთი შემთხვევა შეიძლება მილიონ ადამიანში იყოს 7-10. ჰორმონს ახასიათებს სახეობრივი სპეციფიკურობა და წარმოადგენს ერთადერთ საშუალებას ამ დაავადების სამკურნალოდ; მისი შეყვანა კუნთში დოზით 10 მგ/კგ, ერთი წლის განმავლობაში სამ-სამი ინექცია კვირაში, ადიდებს მკურნალობის პირველს წელს

ადამიანის სიმაღლეს 6 სმ-ით და მეტად. უფრო თვალსაჩინო შედეგის მისაღწევად, ჰორმონის შეყვანა აუცილებელია გავაგრძელოთ 4-5 წლიდან სრულ სქესობრივ სიმწიფემდე და მის შემდეგაც. ერთი გვამიდან ხერხდება, საბოლოო ფარმაცევტულ პრეპარატზე გადაანგარიშებით, 4-6 მგ სომატოტროპინის მიღება.

სომატოტროპული ჰორმონის მსხვილი მწარმოებლების მიერ გამოშვებული ფარმაცევტული პრეპარატის საერთო რაოდენობა განვითარებულ ქვეყნებში ეყოფოდა ჰიპოფიზური ჯუჯობის შემთხვევების მხოლოდ ერთ მესამედს; მაგრამ იგი გამოიყენება შეუხორცებელი მოტეხილობების, დამწვრობის, წყლულების, ჰემოპოეზის დარღვევების სამკურნალოდაც, რაც მის დეფიციტს კიდევ უფრო ამწვავებს.

წარმოიშვა გვამიდან გამოყოფილი ჰორმონის ჰეტეროგენულობასთან დაკავშირებული პრობლემებიც. ჰორმონის სრულყოფილი ტექნოლოგიით გამოყოფისა და გაწმენდის მიუხედავად, ავადმყოფთა 5%-ს, რომელიც ამ პრეპარატს იღებდა, გამოუმუშავდებოდა ანტისხეულები, რომლებიც სრულიად აქარწყლებდნენ მათ ბიოლოგიურ აქტიურობას. ამასთანავე ჰიპოფიზარული მასალა დასნებოვნებულია ნეიროტოქსიკური ვირუსით, რომელიც ხასიათდება არაჩვეულებრივად დიდი საინკუბაციო პერიოდით. ბავშვები, რომლებიც იღებდნენ სომატოტროპულ ჰორმონს, მოითხოვდნენ მრავალწლიან სამედიცინო მეთვალყურეობას. ვირუსს, რომელსაც შესაძლებელია შეიცავდა პრეპარატი, ადვილად შეიძლებოდა ლეტალური შედეგი გამოეწვია. 1985 წელს მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაციამ აკრძალა ადამიანის ჰიპოფიზიდან გამოყოფილი ჰორმონის გამოყენება.

რეკომბინანტული სომატოტროპინი, რომელმაც მიიღო სახელწოდება **სომატრემი,** გახდა ინსულინის შემდეგ მეორე ბიოსინთეზური ფარმაცევტული პრეპარატი. ბიოლოგიურად სუფთა და ვირუსული დაბინძურებისაგან თავისუფალი სომატოტროპინი, პირველად მიღებული იყო 1980 წელს ფირმა Genentech-ის მიერ. ჰორმონი, რომელიც სინთეზირებული იყო ნაწლავის ჩხირის გენეტიკურად კონსტრუირებულ უჯრედებში, განსხვავდება ჰიპოფიზისაგან გამოყოფილი ჰორმონისაგან მეთიონინის დამატებითი ნაშთით მოლეკულის NH_2-ბოლოზე, (ჰორმონს აქვს ჰიპოფიზიდან მიღებული ზრდის ჰორმონზე გაცილებით მაღალი ბიოლოგიური აქტივობა, სავარაუდოა დიდი სისუფთავის გამოც). შეინიშნება ჰიპოფიზური ჯუჯობით დაავადებული ბავშვების სიმაღლეში ნამატი 8-18 სმ წელიწადში, რაც ჰიპოფიზის ჰორმონის შედეგზე უკეთესია.

თავიდან მოახდინეს ორმაფიანი დნმ-ასლის კლონირება და რესტრიქციული ენდონუკლეაზებით გახლეჩვით მიიღეს ჰორმონის მთელი ამინომჟავური თანამიმდევრობის მაკოდირებელი თანამიმდევრობა, გარდა პირველი 23 ამინომჟავასი. შემდეგ მოახდინეს სინთეტიკური პოლიპეპტიდის კლონირება, რომელიც 1-23 ამინომჟავებს შეესაბამებოდა. ორივე ფრაგმენტი შეაერთეს, ამ წყვილს მიუყენეს პრომოტორი (პრომოტორი არის დნმ-ში სპეციფიკური თანამიმდევრობა, რომელიც აუცილებელია რნმ-პოლიმერაზის ტრანსკრიფციის ინიციაციისათვის) და რიბოსომების შეკავშირების მონაკვეთი. ჰორმონის საბოლოო გამოსავალმა შეადგინა 2,4 მკგ/მლ E. coli-ის კულტურაზე (ჰორმონის 100 000 მოლეკულა 1 უჯრედზე).

ბაქტერიებში სინთეზირებულ სომატოტროპულ ჰორმონს ჰქონდა საჭირო მ.მ. და არ იყო რომელიმე ბაქტერიულ ცილასთან შეკავშირებული.

მაკოდირებელი გენის მოდიფიკაციით შესაძლებელია სომატოტროპული ჰორმონის პირველადი სტრუქტურის ანუ ამინომჟავური თანამიმდევრობის შეცვლა და ბაქტერიულ უჯრედში შეიძლება ჰორმონის ანალოგების სინთეზირება. ამით შეიძლება შესწავლილი იქნას მოლეკულის ის მონაკვეთები, რომელთა მიზეზით არის ჯუჯობა გამოწვეული ანუ შესწავლილი იქნას ჯუჯობის ეტიოლოგია მოლეკულურ დონეზე.

რეკომბინანტული დნმ-ის მეთოდის გამოყენებით შესაძლებელია სხვა ზრდის ფაქტორებიც იქნას წარმოებული, მაგ. სომატომედინი A, რომელიც ასტიმულირებს ხრტილში გოგირდის ფიქსაციას, რომლის წარმოშობა ინდუცირდება სომატოტროპინით.

1982 წელს გამოყოფილი და სინთეზირებულია პოლიპეპტიდი, რომელიც შედგება 44 ამინომჟავური ნაშთისაგან. მას აქვს სომატოტროპინის ჰიპოთალამური რილიზინგ-ფაქტორის სრული ბიოლოგიური აქტივობა. სომატოტროპინ-რილიზინგ-ფაქტორის შეყვანამ კომპენსაცია გაუკეთა სომატოტროპინის ნაკლებობას. სომატოტროპინ-რილიზინგ-ფაქტორის გამოყენება შესაძლებელია არა მარტო ჰიპოფიზური ჯუჯობის დროს, არამედ დიაბეტის ზოგიერთი ფორმის, აგრეთვე დამწვრობის დროს ქსოვილების რეგენერაციის დაჩქარების მიზნით.

7. 6. 3. ერითროპოეტინი

ერითროპოეტინი (ბერძნ. Ερυθρος - წითელი, ποιητικος - შემქმნელი ანუ ერითროპოეზ-მასტიმულირებელი ფაქტორი) გლიკოპროტეინული ბუნების ჰორმონია, რომელიც მორფოლოგიურად შეცნობად ერითრობლასტებში ასტიმულირებს ერითროპოეტინ-მგრძნობიარე უჯრედების პროლიფერაციასა და დიფერენციაციას. ეს არის პოლიპეპტიდი, რომელიც 165 ამინომჟავასაგან შედგება. მისი მ.მ. უდრის 30 400. ერითროპოეტინი ასტიმულირებს ერითროპოეტინის მორჩის უჯრედების პროლიფერაციასა და დიფერენციაციას, მოქმედებენ-რა ერითროპოეტინის სპეციფიკურ რეცეპტორებზე, რომლებიც იმყოფებიან ერითროციტების წინამორბედებზე ძვლის ტვინში.

ენდოგენური ერითროპოეტინი გამოიყოფა თირკმელებში ქსოვილოვანი ჰიპოქსიის საპასუხოდ. ანემიისას ერითროპოეტინის ინდუქცია ამაღლებულია, რაც ასტიმულირებს ერითროციტების წარმოშობას ძვლის ტვინში და მივყავართ ანემიის კორექციისაკენ. ერითროპოეტინს უნიშნავენ პაციენტებს თირკმლის უკმარისობისა და გამოხატული ანემიის დროს. იგი ადიდებს ჰემოგლობინის დონეს და თავიდან გვაცილებს სისხლის გადასხმას. ერითროპოეტინი გამოიყენება შიდსის და კიბოს დროსაც.

ჰემოპოეზის ფაქტორებს შორის ჰემოპოეტინი იყო პირველი, რომელიც გამოყვეს (პირველად მიიღეს მძიმე ანემიის მქონე ავადმყოფის შარდისაგან). ბუნებრივი წყაროებიდან ადამიანის ერითროპოეტინის საკმაო რაოდენობის მიღება, ნედლეულში მისი დაბალი შემცველობის გამო, პრაქტიკულად შეუძლებელია. ადამიანის რეკომბინანტულ ერითროპოეტინს ღებულობენ ძუძუმწოვრების უჯრედულ კულტურაში (შტამი CHO) გენურ-ინჟინრული ტექნოლოგიის გამოყენებით. პრეპარატის წარმოება ემყარება იმუნო-აფინური და იონცვლითი ქრომატოგრაფიის გამოყენებას და ასე მიიღება პრაქტიკულად ჰომოგენური, სრულად აქტიური ცილა, რომელიც არ შეიცავს მინარევებს. მის წარმოებაში უკვე მრავალი წელია წამყვან როლს ასრულებს აშშ, კალიფორნია, საწარმო Amgen. მათი წლიური ბრუნვაა 3 მილიარდი დოლარი.

ერითროპოეტინი მეოთხე გენურ-ინჟინრული პრეპარატია, რომელიც საერთოდ იწარმოება რუსეთში. სამეცნიერო-საწარმოო გაერთიანება ,,Микроген“ უშვებს ერითროსტიმს; იგი არის ადამიანის 99,5% სიწმინდის რეკომბინანტული ერითროპოეტინი შრატის ალბუმინით - ხსნარის სახით იზოტონურ ციტრატულ ბუფერში.

7. 7. ვაქცინები

ვირუსები ობლიგატური (უთუო) უჯრედშიგა პარაზიტებია, რომელთა რეპლიკაცია სრულადაა დამოკიდებული დნმ, რნმ და ცილების სინთეზის პროცესებზე მასპინძლის უჯრედში. ვირუსების რეპლიკაცია მოიცავს რამდენიმე ეტაპს: ადსორბცია და უჯრედში შეღწევა; პოლიმერაზების, ნუკლეინის მჟავებისა და სხვა უსტრუქტურო ნაადრევი ცილების სინთეზი; დნმ ან რნმ სინთეზი; საბოლოო სტრუქტურული ცილების სინთეზი; ვირუსული ნაწილაკების აწყობა (მომწიფება) და მათი გამოსვლა უჯრედიდან.

მრავალი ვირუსული ინფექციის დროს ვირუსის რეპლიკაცია აღწევს მაქსიმუმს დაავადების პირველი კლინიკური ნიშნების გამოჩენისას ან უფრო ადრე. პათოგენური მიკროორგანიზმების მიმართ რეციპიენტში იმუნიტეტის ფორმირებას ხელს უწყობს ვაქცინაცია. ორგანიზმში ვაქცინის შეყვანის საპასუხოდ გამომუშავებული ანტისხეულები გამოსცემენ იმუნურ პასუხს - გამომუშავდება ისეთი ანტისხეულები, რომლებიც მომდევნო ინფექციისას ამუხრუჭებენ პათოგენური მიკროორგანიზმების პროლიფერაციას და დაავადებას არ აძლევენ განვითარების საშუალებას.

ვაქცინაციის ეფექტი 1796 წელს აღმოაჩინა ექიმმა ედუარდ ჯენერმა; მანვე მოახდინა პირველი ვაქცინაციაც. ამ დროიდან ადამიანის ანტივირუსულ ვაქცინათა უმრავლესობა შეიქმნა დახოცილი (ინაქტივებული) მიკროორგანიზმებისაგან ან ცოცხალი, მაგრამ ვირულენტური (ატენუირებული) შტამებისაგან. ეს მიდგომა საკმაოდ ეფექტურია და აგვარიდებს მრავალი ვირუსული ინფექციის გავრცელებას. მისი გამოყენება შეზღუდულია შემდეგი მიზეზებით:

ა) შეუძლებელია ყველა პათოგენური მიკროორგანიზმის კულტივირება;

ბ) პათოგენურ მიკროორგანიზმებთან და ვირუსებთან მუშაობის პოტენციური საშიშროება;

გ) ატენუირებული შტამების (ინაქტივაცია ხშირად შეიძლება იყოს არასრული) რევერტირების (ისევ საწყის ვირულენტურ შტამად დაბრუნების) შესაძლებლობა;

დ) ტრადიციული ვაქცინების წარმოების მაღალი ფასი (როგორც წესი, ცხოველური და ადამიანის ვირუსების ტიტრი კულტურაში და მათი გამრავლების სიჩქარე, დაბალია).

რეკომბინანტული დნმ-ის ტექნოლოგია საშუალებას იძლევა შეიქმნას უფრო უსაფრთხო და ეფექტური, ნაკლებად ძვირი, ვაქცინების ახალი თაობა. ამ დროს იყენებენ სხვადასხვა მიდგომას:

- პათოგენური მიკროორგანიზმი ახდენს მოდიფიცირებას, ჩამოაშორებს (დელეტირება) გენებს, რომლებიც პასუხისმგებელნი არიან ვირულენტობაზე, ამავე დროს შენარჩუნებულია შტამის უნარი გამოსცეს იმუნური პასუხი. მიიღება არაპათოგენური მიკროორგანიზმების შემცველი ცოცხალი ვაქცინები, რომლებსაც არ შეეძლებათ რევერტირება და ვერასოდეს გახდებიან პათოგენური.
- აწარმოებენ პათოგენური მიკროორგანიზმების ძირითადი ანტიგენური დეტერმინანტების (ცილების) მაკოდირებელი გენების ან მათი სეგმენტების ექსპრესირებას ალტერნატიულ მასპინძელში, მაგალითად E. coli-ში; მიიღებენ საჭირო პროდუქტს დიდი რაოდენობით და იყენებენ მას, როგორც ვაქცინას. ასეთ ვაქცინებს, რომლებიც შეიცავენ პათოგენური მიკროორგანიზმების მხოლოდ ცალკეულ კომპონენტებს, სუბერთეულოვანი ვაქცინები ეწოდება. სუბერთეულოვანი ვაქცინების *<u>ღირსებაა</u>* სტაბილურობა და უსაფრთხოება, ასევე ცნობილია მათი ქიმიური თვისებები, მასში არ არის სხვა ცილები და ნუკლეინის მჟავები, რაც შეიძლება გამხდარიყო არასასურველი გვერდითი ეფექტების მიზეზი მასპინძელ-ორგანიზმში. *<u>ნაკლია</u>* სპეციფიკური ცილის გაწმენდის მაღალი ღირებულება; მისი კონფორმაცია შეიძლება განსხვავდებოდეს იმისაგან, რომელიც მას აქვს in situ (ე. ი. ვირუსის კაფსიდის ან გარსის შემადგენლობაში ყოფნისას), რამაც შეიძლება მისი ანტიგენური თვისებების ცვლილება მოიტანოს.
- კლონირებული გენები, რომლებიც ახდენენ პათოგენური ორგანიზმის ძირითადი ანტიგენური დეტერმინანტის კოდირებას, ჩაინერგება არაპათოგენური მატარებლის (ჩვეულებრივ, ვირუსის) გენომში და ღებულობენ ვაქცინას, ცოცხალს, უვნებელს, რომელიც არ შეიცავს ავადმყოფობის გამომწვევ მიკროორგანიზმებს. ცოცხალი ვაქცინები, როგორც წესი, უფრო ეფექტურნი არიან, ვიდრე არაცოცხალი და ქვეერთეულოვანები (субъединичные).
- რეკომბინანტული ვაქცინების შექმნის ერთ-ერთ ახალ მიმართულებას წარმოადგენს დნმ-ვაქცინების დამუშავება. ასე ეწოდება გენურ, ნუკლეოტიდურ ვაქცინებს, ვაქცინებს ნუკლეინის მჟავებისაგან. დნმ-ვაქცინების გამოყენების პრინციპი მდგომარეობს იმაში, რომ პაციენტის ორგანიზმში შეყავთ დნმ-ის მოლეკულა, რომელიც შეიცავს პათოგენური ორგანიზმის იმუნოგენური ცილების მაკოდირებელ გენებს და ეუკარიოტების (ამ შემთხვევაში - ადამიანის) უჯრედებში ამ გენის ექსპრესიისათვის აუცილებელ გენეტიკურ ელემენტებს. ასეთი გენების პროდუცენტებად გამოიყენება ბაქტერიული უჯრედები, რომლებიც შეიცავენ რეკომბინანტულ პლაზმიდებს შესაბამისი გენებით. საკმარისი ბიომასის (კოპიოების რაოდენობის) პლაზმიდურ დნმ-ს მოაცილებენ ბაქტერიას, გაწმენდენ დნმ-ის სხვა მოლეკულებისაგან და მინარევებისაგან. მიღებულ დნმ-ვაქცინას იყენებენ პარენტერალურად, მისი უმეტესი ნაწილი გადადის უჯრედშორის სივრცეში და მხოლოდ ამის შემდეგ ერთვება უჯრედში.

ჰერპესის საწინააღმდეგო ვაქცინები.

მარტივი ჰერპესის ვირუსი Herpes simplex virus (HSV) იწვევს გენერალიზებული ან ადგილობრივი ხასიათის ინფექციურ დაავადებას (ხასიათდება ძირითადად კანის, ლორწოვანი გარსების, ნერვული სისტემის დაზიანებით და ქრონიკული რეციდივირებადი მიმდინარეობით, უროგენიტალური ინფექციებით, თვალის მძიმე დაზიანებებით, ენცეფალიტით და ა. შ.). გარდა ამისა, იგი ონკოგენურია, ამიტომ დახოცილი და ატენუირებული ვირუსით ვაქცინაცია დაკავშირებულია სიმსივნის განვითარების რისკთან. სწორედ ამიტომ გამოიყენება არაონკოგენური სუბერთეულოვანი ვაქცინა.

ნებისმიერი სუბედინენური (სუბერთეულოვანი) ვაქცინის შესაქმნელად უპირველეს ყოვლისა, აწარმოებენ პათოგენური მიკროორგანიზმის იმ კომპონენტების იდენტიფიკაციას, რომლებიც აინდუცირებენ ანტისხეულის გამომუშავებას. HSV-ს შემთხვევაში ასეთ ელემენტს წარმოადგენს დ-გარსის გლიკოპროტეიდი. თაგვებში ამ გლიკოპროტეიდების შეყვანის საპასუხოდ, მათ

გამოუმუშავდებათ ანტისხეული, რომელმაც გაანეიტრალა ინტაქტური HSV. გენი [გლიკოპროტეიდი დ გარსისა- HSV-1] იქნა იზოლირებული, კლონირებული ძუძუმწოვრების უჯრედებში და შეყვანილი ჩინური ზაზუნას კვერცხუჯრედში (CHO), რომლებშიც E. coli-საგან განსხვავებით, მიმდინარეობს უცხო ცილების გლიკოლიზირება. სრული ზომის გენი [დ-გარსის გლიკოპროტეიდი] ახდენს ცილის კოდირებას, რომელიც ნორმაში, ძუძუმწოვრის უჯრედის მემბრანას უკავშირდება. ამის შემდეგ მოდიფიცირებული გენით მოახდინეს CHO-უჯრედების ტრანსფორმირება, რომლებიც ახდენდნენ ცილოვანი პროდუქტის გლიკოლიზირებას და მის გარემოში სეკრეტირებას იმიტომ, რომ იგი ვერ ჩაინერგება უჯრედის მემბრანაში. მოდიფიცირებული ცილის [დ-გარსის გლიკოპროტეიდი] შეყვანისას გამომუშავებული ანტისხეულები, ეფექტურია მარტივი ჰერპესის ვირუსის მიმართ.

სალმონელოზის საწინააღმდეგო ვაქცინები.

Salmonella-ს სხვადასხვა შტამები იწვევენ ნაწლავის მწვავე ინფექციებს, პოსტნატალურ (მშობიარობის შემდგომს) ინფექციას, მუცლის ტიფს, საკვებისმიერ ტოქსიკოინფექციებს. ამ ინფექციების პროფილაქტიკისათვის ცხვრებში, მსხვილფეხა რქოსან ცხოველებში, წიწილებსა და ადამიანში ეფექტური პერორალური ვაქცინები შეიქმნა ორმაგი დელეციის (ინგლ. Delete-დან) მეთოდით.

მათ საფუძველზე ცოცხალი ვაქცინების შესაქმნელად, გამოსადეგი არაპათოგენური შტამების მიღების ასეთი მეთოდი მდგომარეობს პათოგენური ბაქტერიების გენომიდან იმ ქრომოსომალური უბნების მოცილებაში, რომლებიც პასუხისმგებელნი არიან სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვან ფუნქციებზე. უმჯობესია, უკიდურეს შემთხვევაში, დელეტირება ორი ასეთი უბნისა, რამდენადაც მათი ერთდროული აღდგენის ალბათობა ძალიან მცირეა. ორმაგი დელეციის შტამს აქვს შეზღუდული პროლიფერაციის შესაძლებლობა და დაქვეითებული პათოგენურობა, მაგრამ უზრუნველყოფს იმუნური პასუხის გამომუშავებას. Salmonella-ს შტამები ორმაგი დელეციით იწვევენ ინფექციის მსუბუქ ფორმას და აქვთ 100 000-ჯერ ნაკლები ვირულენტობა.

7. 8. ციტოკინები

ციტოკინები ლიმფორეტიკულარული უჯრედების მიერ სინთეზირებული ცილების დიდი ჰეტეროგენული ჯგუფია, სხვადასხვა ფუნქციებით; ესაა იმუნური სისტემის ფუნქციონირება და ჰემოპოეზის კონტროლი. ციტოკინების პირველი ჯგუფი წარმოდგენილი იყო ***ინტერფერონებით***. მათი ნაწილი კლასიფიცირებული იქნა, როგორც ინტერლეიკინები - რომლებიც დანომრილი იქნა აღმოჩენის თანმიმდევრობით.

ინტერფერონები - ესაა ენდოგენური გლიკოპროტეიდების ჯგუფი, მ.მ. დაახლ. 3 000, რომლებიც იჩენენ არასპეციფიკურ ანტივირუსულ მოქმედებას, ზემოქმედებენ-რა რნმ-ისა და ცილის სინთეზის უჯრედულ მეტაბოლურ პროცესებზე. ინტერფერონებს გამოიმუშავებენ ვირუსებით დაინფიცირებული უჯრედები (იფ - ტიპი I), აგრეთვე ლიმფოციტები იმუნური რეაქციის მსვლელობაში (იფ - ტიპი II).

ინტერფერონის დიდი რაოდენობით მისაღებად იყენებენ ქათმის ემბრიონის უჯრედების ექვსდღიან ერთშრიან კულტურას, ან ადამიანის სისხლის კულტივირებულ ლეიკოციტებს, რომლებიც ვირუსის განსაზღვრული სახეობით არის დასნებოვნებული. სხვა სიტყვებით, ინტერფერონის მისაღებად იქმნება განსაზღვრული სისტემა ვირუსი-უჯრედი.

ადამიანის უჯრედიდან იზოლირებულია გენი, რომელიც პასუხისმგებელია ინტერფერონის ბიოსინთეზზე. ადამიანის ეგზოგენურ ინტერფერონს ღებულობენ რეკომბინანტული დნმ-ტექნოლოგიის გამოყენებით. ინტერფერონების კომპლემენტარული დნმ-ის გამოყოფის პროცედურა შემდეგშია:

- ადამიანის ლეიკოციტებისაგან გამოყოფენ საინფორმაციო რნმ-ს, ზომების მიხედვით აწარმოებენ მის ფრაქციონირებას, ატარებენ უკუტრანსკრიპციას, საიტში ჩანერგავენ მოდიფიცირებულ პლაზმიდებს.
- მიღებული პროდუქტით ახდენენ E. coli-ის ტრანსფორმირებას; წარმოქმნილ კლონებს დაყოფენ ჯგუფებად, ახდენენ იდენტიფიცირებას.
- კომპლემენტარული-დნმ და კომპლემენტარული-რნმ შემცველი წარმოშობილი ჰიბრიდებისაგან, გამოყოფენ საინფორმაციო რნმ-ს და აწარმოებენ მის ტრანსლაციას ცილის სინთეზის სისტემაში.
- საზღვრავენ ყოველი ნარევის ინტერფერონულ ანტივირუსულ აქტივობას, რომლებიც კი მიღებულია ტრანსლაციის შედეგად. ჯგუფები, რომლებმაც გამოავლინეს ინტერფერონული

აქტივობა, შეიცავენ კლონს კომპლემენტარული დნმ-ით, ჰიბრიდიზირებული ინტერფერონთან - საინფორმაციო რნმ-ს; ამის შემდეგ ახდენენ კლონის ხელახალ იდენტიფიცირებას, რომელიც შეიცავს სრულზომიან კომპლექსს [ინტერფერონი-ადამიანის კომპლემენტარული დნმ-ს].

ინტერფერონები ამჟღავნებენ ზოგიერთი სახის აქტივობის როგორც ლიმფოკინები და იმუნომოდულატორები. ტიპი I-ის ინტერფერონები, რომლებიც მოქმედებენ უპირატესად როგორც ვირუსების რეპლიკაციის ინჰიბიტორები უჯრედში, ახდენენ თავისი ეფექტის რეალიზაციას - ასტიმულირებენ მასპინძელი-უჯრედების რიბოსომების მიერ უჯრედული ფერმენტების გამომუშავებას. ეს ფერმენტები ამუხრუჭებენ ვირუსების პროდუქციას არღვევენ-რა ვირუსული საინფორმაციო რნმ-ის ტრანსლაციას და ვირუსული ცილების სინთეზს.

ინტერფერონებს გამოიმუშავებს ცხოველების უმრავლესობა, მათ აქტივობას ახასიათებს სახეობრივი სპეციფიკურობა; ე. ი. იმ ცხოველში მოქმედებენ, რომელმაც გამოიმუშავა.

არსებობს ადამიანის სამი ძირითადი ინტერფერონი: α , β , γ. პირველი მათგანი წარმოადგენს ფიბრობლასტურ, ტიპი I-ის ინტერფერონს; მეორე - ადამიანის ფიბრობლასტურ, ტიპი I-ის ინტერფერონს და მესამე - ადამიანის იმუნურ, ტიპი II -ის ინტერფერონს.

სხვადასხვა ტიპის უჯრედების მიერ გამომუშავებული ინტერფერონები განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან ქიმიური აგებულებით და აქტივობით, რაც მოცემულია № 2 ცხრილში.

ც ხ რ ი ლ ი № 2

ადამიანის ინტერფერონების თერაპიული გამოყენება

პრეპარატის დასახელება	ინტერ-ფერონის ქვეტიპი	მიღების ხერხი	ფარმაკოლოგიური მოქმედება	ჩვენებები გამოყენებისათვის
1	2	3	4	5
ინტერფერონი	α	ბიოსინთეზი დონორის სისხ. ლეიკოციტების კულტურაში ვირუსების ზემოქმედებით	ანტივირუსული, ანტიპროლიფერატიული და იმუნომოდულირე-ბის თვისებები	ვირუსული დაავადე-ბები, ლეიკოზი, ავ-თვისებიანი მელანომა, თირკმელების კიბო, კარცინოიდული სინდრომი
ინტერლოკი	α	ბიოსინთეზი დონო-რის სისხ. ლეიკოციტების კულტურაში პარაკოვირუსების ზემოქმედებით	თრგუნავს რიგი ვირუსების ცხოველმოქ-მედებას	თვალის ვირუსული დაავადებები, ჰეპატიტები
ინტერფერონი ალფა-2	α_2	რეკომბინანტული	ანტივირუსული, იმუნომოდულირების კიბოს უჯრედების პროლიფერაციის ინჰიბიტორი	თვალის მწვავე და რეციდივირებადი ვი-რუსული ინფექციების ეპითელიალური ფორმა, ონკოლოგიური დაავადებები
ინტერფერონი ალფა-2 ა	α_{2a}	165 ამინომჟავას შემცვ. რეკომბინანტული ცილა	ანტივირუსული, კიბოს საწინააღმდეგო აქტივობა	ლეიკემიური რეტიკულოენდოთელიო ზი სარკომა, თირკმელის კიბო, მელანომა
რეაფერონი	α_2	რეკომბინანტული ინტერფერონი,რომელიც ფსევდომონადის ბაქტე-რიული შტამითაა პრო-დუცირებული, რომლის	ანტივირუსული, იმუნომოდულირების სიმსივნის საწინააღმდეგო აქტივობა	ვირუსული და სიმსივნური დაავადებები

		გენეტიკურ აპარატში ჩაშენებულია ადამიანის ლეიკოციტარული ინ-ტერფერონის გენი		
ინტერფერონი ალფა-ნ-1	α_{n1}	ადამიანის მაღალი სიწმინდის ინტერფერონი	ანტივირუსული	ქრონიკული, აქტიური ინფექციური ჰეპატიტი B
ინტერფერონი ბეტა	β	ადამიანის ფიბრობლას-ტების სუპერპროდუქ-ცია, ცვლის პროცესების ინჰიბიტორების თანხლებით.	ანტივირუსული, იმუნომოდულირების სიმსივნის საწინააღმდეგო აქტივობა	ქრონიკული ვირუსული ინფექციები თვალის, გინეკოლოგიური, უროლოგიური. დერმა-ტოლოგია, ჰეპატოლო-გია, ონკოლოგია
ინტერფერონი გამა	γ	რეკომბინანტული	ანტივირუსული, იმუნომოდულირების სიმსივნის საწინააღმდეგო აქტივობა	ქრონიკული გრანულო-მატოზური დაავადებები

ინტერფერონი მიეკუთვნება ერთ-ერთ ძირითად ენდოგენურ ფაქტორს, რომელიც ორგანიზმს იცავს ვირუსული ინფექციებისაგან.

ინტერფერონები იწვევენ სამი ფერმენტის ინდუქციას:

- პროტეინაზის, რომელიც პეპტიდური ჯაჭვის აგების საწყის ეტაპს არღვევს;
- ოლიგოიზოადენილატ სინთეტაზის, რომელიც ააქტივებს რნმ-აზას და შლის ვირუსულ რნმ-ს;
- ფოსფოდიესთერაზის, რომელიც მოხლეჩს სატრანსპორტო რნმ-ის დაბოლოების ნუკლეოტიდებს, რასაც მივყავართ პეპტიდის ელონგაციის დარღვევამდე.

რუსული წარმოების მიერ გამოშვებულია ინტერფერონ α_{n1}-ისა და პრობიოტიკების შემცველი სუპოზიტორიები ვირუსული და ბაქტერიული წარმოშობის დისბაქტერიოზების, კანდიდოზების თერაპიისათვის; გინეკოლოგიურ პრაქტიკაში ენდომეტრიოზების, კოლპიტების, ვაგინიტებისა და გინეკოლოგიური ჰერპესის სამკურნალოდ. გვერდითი მოქმედებებია: ციება, დაღლილობა, თავის ტკივილი, სისუსტე, მიალგია, ანემია, კუჭ-ნაწლავისა და გულ-სისხლძარღვთა დარღვევები.

გენების კლონირების მეთოდის განვითარებამ შეამსუბუქა ყველა ტიპის მაღალი სიწმინდის ციტოკინების პროდუქცია და უმრავლესობა ***ინტერლეიკინების*** იდენტიფიკაცია.

ადამიანის ინტერლეიკინის სპეციფიკური გენს, მასთან მიერთებული დნმ-ის სეგმენტით, რომელიც ახდენს მარკერული პეპტიდის კოდირებას (ჰიბრიდული ცილოვანი მოლეკულის მონაკვეთი, რომელიც ამსუბუქებს ცილის იდენტიფიკაციას და გაწმენდას), გადაიტანენ მიკრობული უჯრედ-პროდუცენტებში, სადაც ექსპრესირდება *ქიმერული ცილა* (კლონირებული გენის პროდუქტი, რომელიც დაცულია ერთი ან რამდენიმე ამინომჟავათი მასპინძელი-უჯრედის პროტეინაზებით გახლეჩისაგან). ინტერლეიკინების რეკომბინანტული მოლეკულის კონსტრუირება ხორციელდება სპეციფიკური ფერმენტების კრებულით. ქიმერული ცილის შემადგენლობაში შემავალი მარკერული პეპტიდი სუფთავდება იმუნოაფინური ქრომატოგრაფიით.

მრავალი ინტერლეიკინი გადის კლინიკური შესწავლის სტადიას, სხვებმა მოიპოვეს მრავალმხრივი გამოყენება ინფექციების მკურნალობაში, ანთებითი პროცესებისას, ავტოიმუნური და ნეოპლასტური დარღვევების დროს. მაგ., ინტერლეიკინი-1 გამოიყენება ანთებებისა და სეპტიკური შოკის დროს, ინტერლეიკინი-2 ჩართულია იმუნოგენური სიმსივნეების სქემაში, როგორიცაა მელანომები, თირკმლის უჯრედების კიბო, შარდის ბუშტის კიბო და ა.შ.

თავი 8. ანტიბიოტიკები

ანტიბიოტიკები სხვადასხვა ჯგუფის მიკროორგანიზმების, უმაღლესი და უდაბლესი მცენარეების და ცხოველების, მათი მოდიფიკაციების სპეციფიკური პროდუქტებია, რომელთაც აქვთ მაღალი ფიზიოლოგიური აქტიურობა განსაზღვრული სახეობის მიკროორგანიზმებთან ან ავთვისებიან სიმსივნეებთან დამოკიდებულებაში. ისინი შერჩევით აფერხებენ ან თრგუნავენ მათ ზრდა-განვითარებას.

ანტიბიოტიკების წარმოქმნას განაპირობებს ევოლუციის პროცესში ორგანიზმში ნივთიერებათა ცვლის მიმდინარეობის თავისებურებანი. ანტიბიოტიკები პირველი სამკურნალო საშუალებებია, რომლებიც ბიოტექნოლოგიური მეთოდით იქნა მიღებული. მათ კაცობრიობა უძველესი დროიდან იცნობს. ჯერ კიდევ ბიბლიაშია მოხსენებული „უსუპის ბალახი“, რომელსაც კანის დაავადებების სამკურნალოდ იყენებდნენ (მომასხურე უსუპი და განვიბანები - პენიცილინის პირველი ხსენება ბიბლიაში). ეს ბალახი როგორც ცნობილია ავადდება პენიცილინის ტიპის ობით და ამიტომაც იგი გაჯერებულია ანტიბიოტიკური თვისებების მქონე სოკოს მეტაბოლიტებით.

ანტიბიოტიკების წარმოებას განვითარების ძირითადი ეტაპები:

1870 წ. - აღმოაჩინეს რომ დაობებულ გარემოში ბაქტერიები არ ვითარდებიან (დ. სანდერსონი).

1872 წ. - დამტკიცდა, რომ Penicillium glaucum აფერხებს ბაქტერიების ზრდას.

1871-1872 წწ. - დაამტკიცეს, რომ მწვანე ობის ახალგაზრდა კულტურა - სოკო Penicillium ხელს უშლის ადამიანის კანის დაავადებების გამომწვევი მიკრობების ზრდას.

1877 წ. - ცნობილი გახდა, რომ აერობული ბაქტერიები Bacillus anthracis - ზრდას აფერხებენ (ლ.პასტერი და ს. ჯებერტი).

1929 წ. - აღმოაჩინეს პელიცილიუმის სოკოს ანტიბიოტიკური თვისებები (ა.ფლემინგი).

1940წ. - პირველად გამოჰყვეს პელიცილინის სუბსტანცია (ხ. ფლორი და ა. ჩეინ)

1942-56 წწ. მეცნიერებმა მოახდინეს შტამ-პროდუცენტების შერჩევა. დაამუშავეს ფერმენტული გარემო და შეიმუშავეს ბენზილპენიცილინის წარმოების პირველი რეგლამენტი. ინგლისური და საბჭოური შტამების შედარებამ აჩვენა, რომ რუსული შტამი წარმოქმნიდა 28 ერთეული/მლ-ზე, ხოლო ინგლისური - 20 ერთეული/მლ-ზე.

მას შემდეგ, რაც აღმოჩენილი იქნა პენიცილინი, სხვადასხვა მიკროორგანიზმებიდან მიღებულ იქნა 6000-ზე მეტი ანტიბიოტიკი, რომლებსაც გააჩნდათ ინფექციური დაავადებების წინააღმდეგ სხვადასხვა სპეციფიკა და მოქმედების მექანიზმი. სწორედ მათი ფართო გამოყენებით იქნა შესაძლებელი მილიონობით სიცოცლის გადარჩენა.

არსებობს ანტიბიოტიკების რიცხვის სწრაფი ზრდის რამოდენიმე მიზეზი:

- ანტიბიოტიკები და მათი მოდიფიცირებული პროდუქტები შეუცვლელი სამკურნალო საშუალებებია ბევრი ადრე განუკურნებადი ინფექციური დაავადებებისათვის;
- შეიცვალა ინფექციურ დაავადებათა ეტიოლოგია, გაიზარდა მათი გამომწვევ ბაქტერიათა რიცხვი;
- როგორც სამკურნალო საშუალებებს, ანტიბიოტიკებს იყენებენ მეცხოველეობაში, მეფრინველეობაში, მეფუტკრეობასა და სოფლის მეურნეობის სხვა დარგებში;
- მიკროორგანიზმების რეზისტენტულობა გულისხმობს ერთი ანტიბიოტიკის შეცვლას მეორით, უფრო ეფექტურით.

ყოველწლიურად მსოფლიოში იწარმოება 100 000 ტონა ანტიბიოტიკი, რომლის ღირებულებაა 5 მილიარდი დოლარი; აქედან 10 მილიონი დოლარის ანტიბიოტიკს მსხვილფეხა რქოსანთა საკვებს ამატებენ.

სამკურნალო საშუალებების მიღება, აგრეთვე ლაბორატორიული და კლინიკური გამოცდა საკმაოდ ძვირი ჯდება. საბოლოოდ ანტიბიოტიკები, რომლებსაც თერაპიული ეფექტიც გააჩნიათ და ეკონომიკურადაც გამართლებულია მათი წარმოება, ამ დიდი რაოდენობის მხოლოდ 1-2%-ია.

ანტიბიოტიკებს შემდეგი სპეციფიური მახასიათებლები გააჩნიათ:

- მაღალი ბიოლოგიური აქტივობა მათ მიმართ მგრძნობიარე ორგანიზმებისადმი, ანუ ეფექტის გამოწვევის უნარი ძალიან მცირე კონცენტრაციებშიც კი;
- შერჩევითი მოქმედება, ანუ კონკრეტული ანტიბიოტიკის თვისება, გამოამჟღავნოს ზემოქმედება მხოლოდ გარკვეული ორგანიზმების ან ორგანიზმთა ჯგუფის მიმართ და არ გააჩნდეს შესამჩნევი ეფექტი სხვა ცოცხალ არსებათა ფორმებზე.

ბიოლოგიური აქტივობა გამოისახება პირობით ერთეულებში, 1 მლ-ში (ერთეული/მლ) ან 1 მგ-ში (ერთეული/მგ) შემცველობით.

ანტიბიოტიკის აქტივობის ერთეულად მიიღება ანტიბიოტიკის ის მინიმალური რაოდენობა, რომელსაც შესწევს უნარი დათრგუნოს ან შეწყვიტოს ტესტ-მიკრობთა გარკვეული რაოდენობის ზრდა-განვითარება სტანდარტული შტამის უჯრედების საკვები არის მოცულობის ერთეულში. ასე მაგალითად, პენიცილინის აქტივობის ერთეულად მიღებულია პრეპარატის ის მინიმალური რაოდენობა, რომელსაც უნარი შესწევს შეაჩეროს 50 მლ საკვებ ბულიონში ოქროსფერი სტაფილოკოკის (შტამი 209) ზრდა; სტრეპტომიცინისათვის მოქმედების ერთეულად მიღებულია ანტიბიოტიკის მინიმალური რაოდენობა, რომელიც შეაჩერებს E. coli-ის ზრდას 1 მლ საკვებ ბულიონში.

ანტიბიოტიკების მიერ მიკროორგანიზმების ზრდის შეფერხება განხორციელდება მხოლოდ სამი პირობის არსებობის შემთხვევაში:

- პრეპარატს უნდა გააჩნდეს უნარი შეაღწიოს ბაქტერიის უჯრედში და ზემოქმედება განახორციელოს მიმაგრების წერტილზე;
- პრეპარატმა არ უნდა განიცადოს ინაქტივაცია, სანამ იგი ბაქტერიის ბიოლოგიურად აქტიურ სისტემაზე არ მოახდენს ზემოქმედებას;
- ბაქტერიების ცხოველმოქმედებისათვის ბიოლოგიურად მნიშვნელოვანი სისტემა უნდა რეაგირებდეს პრეპარატის დაბალი კონცენტრაციების ზემოქმედებაზე მიმაგრების განსაზღვრული წერტილის საშუალებით.

ბაქტერიებში ანტიბაქტერიული პრეპარატების მიმაგრების წერტილი სხვადასხვაა - მათი მეტი ნაწილი მდებარეობს უჯრედის მემბრანაში და უჯრედში. ამ წერტილებთან მისვლამდე ანტიბიოტიკებმა ჯერ უნდა შეაღწიონ უჯრედის ზედაპირულ ფენებში, რომლებიც ციტოპლაზმური მემბრანის გარეთ მდებარეობს. ამ გზაზე ძირითად ბარიერს პრეპარატს სწორედ უჯრედის კედელი უქმნის. გრამდადებით ბაქტერიებში ეს კედელი დიდი რაოდენობით შეიცავს *მუკოპეპტიდებს*, რომლებიც ანტიბიოტიკების ძირითად სამიზნეებს წარმოადგენენ, ხოლო გრამუარყოფითი ბაქტერიების უჯრედის კედელი დიდი ოდენობით ლიპიდებს შეიცავს, რის გამოც იგი ნაკლებ გამტარი ხდება და ძლიერ ბარიერს უქმნის ანტიბაქტერიულ საშუალებებს. სწორედ ეს გარემოება ქმნის ახალი ანტიბიოტიკების (ნახევრადსინთეზური პენიცილინებისა და ცეფალოსპორინების) ძიების აუცილებლობას, რომელთაც გააჩნიათ გრამუარყოფითი ბაქტერიების ლიპოპოლისაქარიდულ ფენაში შეღწევის კარგი უნარი და ამჟღავნებენ მაღალ აქტივობას.

8.1. ანტიბიოტიკების კლასიფიკაცია

ჩამოყალიბდა ანტიბიოტიკების კლასიფიკაციისადმი რამდენიმე მიდგომა: ა) ბიოლოგიური წარმოშობის მიხედვით (მოსახერხებელია უპირატესად ბიოლოგებისათვის, რომლებიც შეისწავლიან ანტიბიოტიკების ორგანიზმ-პროდუცენტებს); ბ) ქიმიური აგებულების მიხედვით (მოსახერხებელია ქიმიკოსებისათვის, რომლებიც სწავლობენ ანტიბიოტიკების მოლეკულების აღნაგობას და მათ სინთეზს); გ) ბიოლოგიური მოქმედების მექანიზმისა და ტიპის მიხედვით (რომელიც მიღებულია სამედიცინო პრაქტიკაში).

არსებობს ანტიბიოტიკების მოქმედების <u>ციდური</u> და <u>სტატიკური</u> ტიპები. ციდური - ბაქტერიოციდული, ფუნგიციდური, ვირიციდული, პროტოზოაციდური, რომელთა წოდების მიღმა იგულისხმება ინფექციური აგენტის სიცოცხლისუნარის შეუქცევადი რღვევა (დაღუპვა) სტატიკური - ბაქტერიოსტატიკური, ფუნგოსტატიკური, ვიროსტატიკური, რომელთა გამოყენებისას წყდება ან ფერხდება გამომწვევის გამრავლება. ასეთ გრადაციას აქვს ძირითადად პრაქტიკული მნიშვნელობა მძიმე ინფექციების მკურნალობის დროს, განსაკუთრებით იმუნიტეტის დარღვევების დროს, როცა აუცილებელია „ციდური“ პრეპარატების დანიშვნა.

ანტიმიკობულ პრეპარატსა და მიკრობის უჯრედთან მისი მიმაგრების წერტილს შორის კავშირი შეიძლება იყოს მტკიცე ან არამტკიცე, რაც მეტ-ნაკლებად განსაზღვრავს მოცემული პრეპარატის აქტივობის ხარისხს.

ანტიბიოტიკებს უნდა გააჩნდეთ შერჩევითი ტოქსიკურობის მაღალი უნარი, რაც გულისხმობს იმას, რომ ისინი უნდა იყვნენ აქტიურნი მიკრობული უჯრედის მიმართ და უვნებელნი - დაავადებული ირგანიზმის უჯრედების მიმართ. ასეთი შერჩევითი ტოქსიურობა კი შესაძლებელია მხოლოდ იმ შემთხვევაში, თუ მიკროორგანიზმთა უჯრედების აქტიური ბიოქიმიური სისტემები, ანუ ანტიბიოტიკის სამიზნე, განსხავავებული იქნება მაკროორგანიზმის უჯრედების ანალოგიური სისტემებისაგან.

ბიოლოგიური მოქმედების მექანიზმისა და მიმაგრების წერტილების მიხედვით ანტიბიოტიკებს ყოფენ შემდეგ ჯგუფებად:

I. უჯრედის კედლის ბიოსინთეზის სპეციფიური ინჰიბიტორები (პენიცილინები, ცეფალოსპორინები და ცეფამიცინები, ვანკომიცინი, რისტომიცინი, ციკლოსერინი, ბაციტრაცინი, ტიენამიცინები და სხვ.).
II. პრეპარატები, რომლებიც არღვევენ მოლეკულურ ორგანიზაციას და უჯრედული მემბრანის ფუნქციას (პოლიმიქსინები, პოლიენები).
III. პრეპარატები, რომლებიც აფერხებენ ცილის სინთეზს რიბოსომების დონეზე (მაკროლიდები, ლინკომიცინები, ამინოგლიკოზიდები, ტეტრაციკლინები, ლევომიცეტინი, ფუზიდინი)ლ
IV. რნმ-ს სინთეზის ინჰიბიტორები რნმ - პოლიმერაზის დონეზე და ფოლის მჟავას მეტაბოლიზმზე მოქმედი ინჰიბიტორები (რიფამპიცინი).
V. რნმ-ს სინთეზის ინჰიბიტორები დნმ-მატრიცის დონეზე (აქტინომიცინები და აურეოლის მჟავას ჯგუფის ანტიბიოტიკები).
VI. დნმ-ს სინთეზის ინჰიბიტორები დნმ-მატრიცის დონეზე (მიტომიცინი C, ანტრაციკლინები, ნიტროფურანები, ნალიდიქსის მჟავა).

გამომწვევის ცნობილი დაკონკრეტებულ შემთხვევაში ინიშნება აქტივობის ვიწრო სპექტრის ანტიბიოტიკი, რათა თავიდან იქნას აცილებული მოქმედების სპექტრის „მომეტებული სიგანიერით“ გამოწვეული ორგანიზმის ნორმალური მიკროფლორის განადგურება.

ანტიბიოტიკების სინთეზის უნარის მქონე რეკომბინანტული მიკროორგანიზმთა სტრატეგიაა სპეციფიკური გენების შეტანა მასპინძელ ორგანიზმში. გენები კლონირებულია შესაბამის სექტორში და კოდირებენ ერთ ან რამდენიმე ფერმენტს, რომლებიც აკატალიზებენ მიკროორგანიზმისათვის არადამახასიათებელ, უჩვეულო მეტაბოლიტურ რეაქციებს. ან შეტანა გენებისა, რომლებიც ზეგავლენას ახდენენ ნორმაში განსაზღვრული ნაერთების სინთეზზე.

ანტიბიოტიკის სინთეზისუნარიანი რეკომბინანტული მიკროორგანიზმების ზოგადი სტრატეგია მდგომარეობს მასპინძელ ორგანიზმში შესაფერის ვექტორში კლონირებული სპეციფიკური გენების შეყვანაში, რომლებიც მიკროორგანიზმისათვის უცხო მეტაბოლური რეაქციის კატალიზის მომხდენი ერთი ან რამდენიმე ფერმენტის კოდირებას განახორციელებენ. ანდა ისეთი გენების შეყვანაში, რომლებიც ნორმაში მათ მიერ განხორციელებული განსაზღვრული ნაერთების ბიოსინთეზზე მოახდენენ გავლენას.

რეკომბინანტული შტამი Streptomyces-ის ძირითადი მიკროორგანიზმის შექმნისას, რომელიც ანტიბიოტიკის მისაღებად გამოიყენება, მთავარია, რომ რთული არ იყოს ტრანსფორმაცია და უკვე ტრანსფორმირებული უჯრედების გადარჩევა. E.coli - ისაგან განსხვავებით, Streptomyces არსებობს არა იზოლირებული უჯრედების, არამედ განფენილი მიცელების სახით. ამიტომ ტრანსფორმაციამდე აუცილებელია მიცელიუმის უჯრედის კედლის ფერმენტული რღვევა და ცალკეული პროტოპლასების გამონთავისუფლება. ამის გარეშე შეუძლებელია ტრანსფორმირებული უჯრედის არატრანსფორმირებულისაგან გარჩევა. რამეთუ მყარ ნიადაგში ხილული კოლონიები უჯრედთა ჯგუფისგან გაჩნდებიან და არა თითოეული ინდივიდუალური უჯრედისაგან. შესაბამისად კოლონიები, რომლებიც სელექციური ანტიბიოტიკების გარემოში იზრდება, წარმოადგენენ ტრანსფორმირებული და არატრანსფორმირებული უჯრედების ნარევს. პლაზმიდური დნმ-ის შეღწევა Streptomyces-ის პროტოპლასტებში იოლდება პოლიეთილენგლიკოლის (პეგ) თანხლებით. ტრანსფორმაციის მერე

პროტოპლასტებს გადათესავენ მყარ ნიადაგზე, რათა ჩამოყალიბდეს უჯრედის კედელი, ხოლო შემდეგ ტრანსფორმირებული უჯრედების გადარჩევისთვის გადააქვთ ნეომიცინის შემცველ სელექციურ ნიადაგზე; აქ უკვე ყალიბდება კოლონია იმ უჯრედებისაგან, რომელთაც ანტიბიოტიკის სინთეზის უნარი აქვთ.

გენეტიკური ან ბიოქიმიური ექსპერიმენტების დახმარებით შესაძლებელია თავდაპირველად იდენტიფიცირება, შემდეგ კი ანტიბიოტიკის ბიოსინთეზის ერთი ან რამდენიმე საკვანძო ფერმენტის გამოყოფა; მათი **ნ**-ნაპირა ამინომჟავების თანმიმდევრობის განსაზღვრა და ამ მონაცემებით ოლიგონუკლეოტიდური კომპლემენტარული თანმიმდევრობის სინთეზირება.

8.2. ანტიბიოტიკების წარმოება

ანტიბიოტიკების ბიოსინთეზი ხორციელდება მიკროორგანიზმებით მათი განვითარების გარკვეულ ეტაპზე. ეს კანონზომიერება დამახასიათებელია ბაქტერიების, მიცელიუმიანი სოკოების (Penicillium chrysogenum, Aspergillus fumigatus და სხვ.) და აქტინომიცეტების უმრავლესობისათვის (გვაძლევენ ანტიბიოტიკებს - სტრეპტომიცინი, ქლორტეტრაციკლინი, ოქსიტეტრაციკლინი და სხვა). გენური ინჟინერია გამოიყენება ანტიბიოტიკების გამოსავლის ასამაღლებლად და მათი წარმოების ღირებულების შესამცირებლად.

ანტიბიოტიკების მიკრობული ბიოსინთეზის ტექნოლოგიური სქემა 4 სტადიისაგან შედგება.

პირველ სტადიაზე ბუნებრივი პირობებიდან გამოიყოფა ანტიბიოტიკის შტამი-პროდუცენტი; მისგან ხდება უფრო აქტიური შტამის სელექცია, რისთვისაც გამოიყენება მეთოდები: ინდუცირებული მუტაგენეზი, პროტოპლასტების შერწყმა, გენურ-ინჟინერული მანიპულაციები; სტადიის დასასრულს მიიღება პროდუცენტის მაღალპროდუქტიული და ტექნოლოგიური შტამი.

მეორე სტადიაზე ამზადებენ საკვებ ნიადაგს, ხოლო პროდუცენტისაგან მზადდება სათესი მასალა; მზადდება ინოკულატი, მისგან მიიღება შერეული კულტურა; ამავე სტადიაზე ხდება ბიოსინთეზის პროცესი (კულტივირება) და გამოყოფა.

მესამე სტადიაზე გამოიყოფა ანტიბიოტიკი, ხდება მისი გაწმენდა.

მეოთხე სტადიაზე ხდებს კონცენტრირება და სტაბილიზაცია (გაუწყლოება იგივე ლიოფილიზაცია, დაწვრილმანება, მშრალი პრეპარატის მიღება და მისი დაფასოება); თუ სტაბილიზაციის მიზნით ლიოფილიზაცია არაა საჭირო, კონცენტრირებულ სითხოვან გამონაწვლილს პირდაპირ აფასოებენ.

ზოგიერთი ანტიბიოტიკის წარმოებაში გამოყენებული პროდუცენტები წარმოდგენილია ცხრილში--№ 4

ტექნოლოგიური პროცესის პირველი სტადიის განხორციელებისას გამოიყენება განუსაზღვრელი შემადგენლობის ნატურალური ნიადაგი, რომელთა რიცხვს მიეკუთვნება სახამებლის წარმოების პროდუქტები, აგარი, ჟელატინი, მარცვლეული. ნიადაგის კომპოზიცია მუდმივი არ არის. მაგალითად: აგარი, რომელსაც ღებულობენ სხვადასხვა ზღვის წყალმცენარეებიდან, ქიმიური ხასიათით - რთული ეთერული კომპლექსია პოლისაქარიდისა გოგირდმჟავასთან მრავალნაირ მიკროელებენტებთან ერთად. აგარი შეიცავს აგრეთვე ცხიმოვან მჟავებს, ბიოტინს, ტიამინს ან მის კომპონენტებს. კარტოფილიან ნიადაგში გლუკოზასთან და პიპტონთან ერთად, ერთი პარტიის პეპტინის და ქიმიურად სუფთა გლუკოზის გამოყენების დროსაც კი, კარტოფილის ექსტრაქტის შემადგენლობა დამოკიდებულია კარტოფილის სახეობაზე, მისი წარმოების ადგილმდებარეობაზე, მოსავლის აღების დროზე, შენახვის პირობებსა და ვადებსა და სხვა მიზეზებზე. ამიტომ შეჯერებული შედეგების მისაღებად, განსაკუთრებით მიკროორგანიზმების ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური თავისებურებების შესწავლისას, იყენებენ

სინთეზურ ნიადაგს, რომელშიც შედის ზუსტად მითითებული კონცენტრაციის ქიმიურად სუფთა ნაერთები.

ცხრილი №4

ანტიბიოტიკების სამრეწველო პროდუცენტები

ანტიბიოტიკი	პროდუცენტი
ბაქტერიებისაგან წარმოებული ანტიბიოტიკები	
გრამიციდინი C	Bacillus brevis
პოლიმიქსინი	Bacillus polymixa
ბაციტრაცინები	Bacillus licheniformis & erevis
	Streptococcus lactis
აქტინომიცეტებისაგან წარმოებული ანტიბიოტიკები	
სტრეპტომიცინი	Streptomyces griseus
ნეომიცინი	Streptomyces fradiae
კანამიცინი	Streptomyces canamyceticus
გენტამიცინი	Micromonospora purpurea
სიზომიცინი	Micromonospora inyoensis
ტობრამიცინი	Streptomyces tenebraris
ქლორტეტრაციკლინი	Streptomyces aureofaciens
ოქსიტეტრაციკლინი	Streptomyces rimosus
ამფოტერეცინი B	Strepromyces noolosus
ტეტრაციკლინი	Streptomyces aureofaciens
ქლორამფენიკოლი	Streptomyces venezuelae
ერითრომიცინი	Saccaropolyspoza erythraea
სპირამიცინი	Streptomyces ambofaciens
ტილოზინი	Streptomyces fradiae
ნისტატინი	Streptomyces moursei
ლევორინი	Streptomyces levoris
სოკოებისაგან წარმოებული ანტიბიოტიკები	
პენიცილინი	Penicillium chrysogenum
ცეფალოსპორინი	Cephalosporium acremonium
ციკლოსპორინი	Trichoderma polysporum
გრიზეოფულვინი	Penicillium griseofulvum
ფუზიდინი	Fusidinum coccineum

მეორე სტადიის ამოცანაა - შეიქმნას ოპტიმალური პირობები პროდუცენტის განვითარებისათვის და საჭირო ანტიბიოტიკის მაქსიმალურად შესაძლებელი ბიოსინთეზისათვის. ანტიბიოტიკების წარმოების თავისებურებაა **პროდუცენტის განვითარების ორფაზიანი ხასიათი.** კულტურის განვითარების პირველ ფაზაში, რომელსაც მიკროორგანიზმების ბალანსირებული ზრდის ფაზა ანუ ***ტროპოფაზა*** ჰქვია, მიმდინარეობს პროდუცენტის ბიომასის ინტენსიური დაგროვება. პროდუცენტი ასინთეზებს ცილებს, ნუკლეინის მჟავებს, ნახშირწყლებს, ფერმენტებს და სხვა ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებებს, რომლებიც აუცილებელია მიკროორგანიზმების ზრდისათვის; ამ სინთეზისას სწრაფად იხარჯება სუბსტრატის ძირითადი კომპონენტები და ინტენსიურად შთაინთქმება ჟანგბადი. როგორც ორგანული მჟავების დაგროვების შედეგად შეიძლება დაეცეს pH. ტროპოფაზაში, როგორც წესი, ანტიბიოტიკი არ წარმოიქმნება ან უმნიშვნელო რაოდენობით მიიღება. სავარაუდოდ ამის მიზეზია ის, რომ ამ ფაზაზე შემწყდარია იმ ფერმენტების სინთეზი, რომლებიც ანტიბიოტიკის შექმნაში ღებულობენ მონაწილეობას. მიკროორგანიზმების არაბალანსირებული ზრდის - მეორე ფაზაში - ***იდიოფაზაში*** ბიომასის დაგროვება შემელებულია. ამ დროისათვის უკვე ნიადაგი კულტივირებისათვის, გაღარიბებულია პროდუცენტის განვითარებისათვის საჭირო კომპონენტებით და გამდიდრებულია მისი ცხოველმყოფელობის პროდუქტებით. მიკროორგანიზმის მეტაბოლიზმის პროდუქტები ნაწილობრივ გამოიყენება მიცელის

უჯრედის შენებისათვის, ნაწილი კი ანტიბიოტიკის სინთეზისათვის. ნიადაგში ანტიბიოტიკის ბიოსინთეზის მაქსიმუმი მიიღწევა, როგორც წესი, ბიომასის მაქსიმალური დაგროვების შემდეგ. ეს მაქსიმუმი არაერთგვაროვანია სხვადასხვა მიკროორგანიმებისათვის და კულტივირების განსხვავებული პირობების შემთვევებში.

სამრეწველო მიკრობიოლოგიის პრაქტიკა გვიჩვენებს, რომ ამა თუ იმ პროდუქტის მიღების პროცესი უფრო აქტიურად მიდის შერეული კულტურების შემთხვევაში, როცა რამდენიმე სახის მიკროორგანიზმი (უფრო ხშირად ორი) ერთდროულად ვითარდება, სხვადასხვა მიკრობების ერთობლივი კულტივირება, იწვევს-ხოლმე ამ ორგანიზმების ერთგვარი ჰიბრიდების წარმოქმნას, რომელთაც საწყისი სუფთა კულტურებისაგან განსხვავებული თვისებები გააჩნიათ.

8. 3. ანტიბიოტიკების კერძო ტექნოლოგია

მეტი არ გამოუგზავნია ჯერ

თავი 9(წიგნის 8) ფერმენტები და იმობილიზებული ფერმენტები

ფერმენტები - ცილოვანი ნივთიერებებია, რომლებიც ასრულებენ ქიმიური რეაქციების კატალიზატორების ფუნქციებს; ისინი გამოიყენებიან მედიცინაში, კვების, ფარმაცევტულ და ქიმიურ მრეწველობაში. ფერმენტების მიერ განხორციელებული რეაქციები არ მოითხოვენ ექსტრემალურ პორობებს (ტემპერატურას, არის მჟავიანობას და ა.შ.), უმეტესობა ფერმენტისათვის ტემპერატურის ოპტიმალური მნიშვნელობაა 20-40^0 C, მისი გადიდება 40^0 C-მდე და მეტად, იწვევს ფერმენტების აქტიურობის შემცირებას და სრულ დენატურაციას. ფერმენტებისათვის დამახასიათებელია მაღალი სიჩქარე, სტერეოსპეციფიკურობა, წარმოქმნილი გვერდითი პროდუქტების უმნიშვნელო რაოდენობა. მათი მნიშვნელოვანი თვისებაა კატალიზის ეფექტურობა (ისინი სიჩქარეს 10^{10}-10^{12} -ჯერ ადიდებენ) და შერჩევითი მოქმედება (ყოველი ფერმენტი, როგორც წესი, კატალიზს უკეთებს ერთ ქიმიურ რეაქციას). ისინი განაპირობებენ არა მხოლოდ დაშლის, არამედ ქიმიური კავშირების წარმოქმნის რეაქციებს.

ფერმენტები მმნ-ია; მათი მოლეკ. მასა მერყეობს 10 000-და 100 000-მდე. ფერმენტული ცილები ნაკლებ მდგრადია და pH-ისა და ტემპერატურის მიმართ ძალიან მგრძნობიარე. თითოეული ფერმენტისათვის არსებობს pH-ის მნიშვნელობის ოპტიმუმი, რომლის დროსაც კატალიზური რეაქციის სიჩქარე მაქსიმალურია; pH-ის გადახრები ამა თუ იმ მხარეს იწვევს ფერმენტული რეაქციის სიჩქარის შემცირებას.

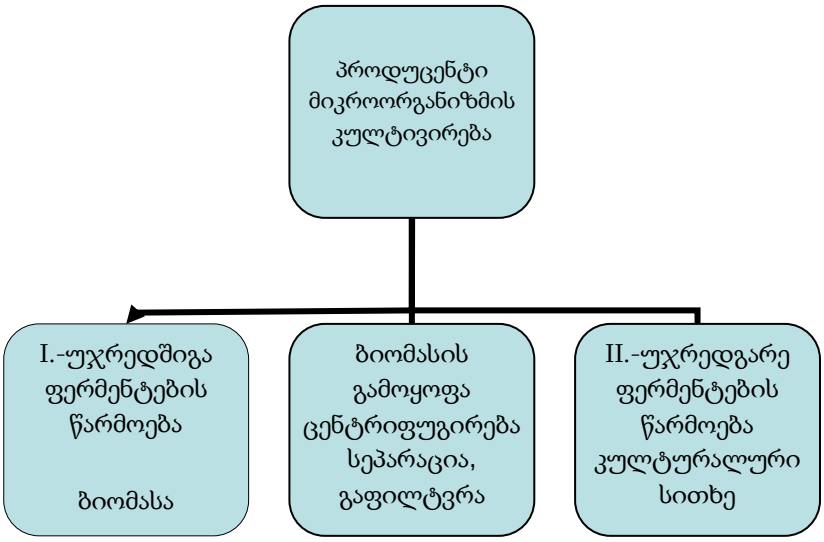
ეკონომიკური და ტექნოლოგიური მოსაზრებებით ფერმენტების მიღება მიკროორგანიზმებიდან უფრო სარგებლიანია, ვიდრე მცენარეული და ცხოველური წყაროებიდან. მიკრობული უჯრედები შეიცავენ ან პროდუცირებენ ორი ათასზე მეტ ფერმენტს., რომლებიც კატალიზს უკეთებენ ზრდასთან, სუნთქვასთან და პროდუქტების წარმოშობასთან დაკავშირებულ ბიოქიმიურ რეაქციებს. მიკროორგანიზმების კულტურებს უნარი აქვთ მოკლე დროში გამოიმუშაონ დიდი რაოდენობით ფერმენტი იაფფასიანი საწყისი მასალების გამოყენებით. მრავალი ასეთი ფერმენტი შეიძლება გამოყოფილი იქნას და ამჟღავნებენ თავიანთ აქტივობას უჯრედისაგან დამოუკიდებლად.

ამჟამად სამეცნიერო ლიტერატურაში აღწერილია დაახლოებით 3 000 ფერმენტი, მათგან დაახლოებით 100-ს იყენებენ სამრეწველო წარმოებაში. მრეწველობა უშვებს 50-ზე მეტ ინდივიდუალურ ფერმენტს და ორჯერ მეტს ფერმენტულ პრეპარატს; უკანასკნელი გარდა სამკურნალო პროდუქტისა შეიცავს დიდი რაოდენობით მსგავსი ფიზიკო-ქიმიური თვისებების ცილებს.

ფერმენტები ბიოლოგიურ ობიექტებში იმყოფებიან ფიქსირებულ მდგომარეობაში სხვადასხვა უჯრედული სტრუქტურის ზედაპირზე და ინარჩუნებენ აქტიურობას ხანგრძლივი დროის განმავლობაში. ორგანოებისა და ქსოვილებიაგან გამოყოფილი ან მიკრობული ნედლეულიდან მიღებული ფერმენტები, განსაკუთრებით ღრმად გაწმენდილები, სწრაფად ინაქტივირდებიან.

9.1. ფერმენტების მიღება მრეწველობაში ბიოტექნოლოგიური მეთოდით

მიკრობიოლოგიური წარმოშობის ფერმენტების წარმოების სქემა მოცემულია სურ. --



სურ. ---ბიოტექნოლოგიური მეთოდით მიღებული ფერმენტების ტექნოლოგია

პირველი - უჯრედშიგა ფერმენტების წარმოებისას ბიომასის უჯრედების დეგრადაციას ახდენენ მექანიკური, ჰიდროდინამიკური, უბ, ფერმენტული მეთოდებით; გამოწვლილავენ ცილებს; გაყოფენ ექსტრაქტს დაგლეჯილი უჯრედებისაგან ცენტრიფუგირებით, სეპარაციით, მემბრანული ფილტრაციით. ამის შემდეგ მოდის სასურველი პროდუქტის გაწმენდა და მისგან სამკურნალწამლო ფორმის მომზადება.

მეორე - უჯრედგარე ფერმენტების წარმოებისას კულტურალური სითხის კონცენტრირებას ახდენენ ულტრაფილტრაციით, იონცვლითი ქრომატოგრაფიით და სხვ., წმენდენ მიღებულ პროდუქციას და მისგან ამზადებენ სამკურნალწამლო ფორმას.

ფერმენტების პროდუცენტების კულტივირება

მიკროორგანიზმის მიერ ნებისმიერი ფერმენტის ბიოსინთეზის ინტენსივობა და მისი პროდუქტიულობა განპირობებულია პროდუცენტის გენეტიკური თვისებებით. ბიოსინთეზის სისტემის ფუნქციონირება რეგულირდება საკვები ნიადაგის შემადგენლობით და მიკროორგანიზმების ზრდის პროცესში მისი ცალკეული კომპონენტების ცვლის დინამიკით.

მრავალი ფერმენტის სინთეზი რეპრესირდება ნახშირბადის ადვილად ასათვისებელი წყაროების - გლუკოზის, ფრუქტოზის, მანოზის და სხვ. საშუალებით; ეს ფაქტი ატარებს კატაბოლური რეპრესიის სახელწოდებას. ასე ხდება α-ამილაზის, ცელულაზის, გლუკოამილაზის, ინვერტაზის, პოლიგალაქტურონის მჟავას ტრანსელიმინაზისა და სხვა ფერმენტების ბიოსინთეზი.

აზოტშემცველი სუბსტრატების გარდაქმნის მაკატალიზებელი ფერმენტები ასევე კატაბოლური რეპრესიის მექანიზმით რეგულირდებიან; მათი ბიოსინთეზის რეპრესია ხდება ამონიაკით ან სწრაფადათვისებადი ამინომჟავებით. კულტივირების ანაერობულ პირობებში ამინომჟავები ახდენენ შესაბამისი დეკარბოქსილაზების ბიოსინთეზის ინიცირებას. ნიადაგში შარდოვანას დიდი კონცენტრაციით არსებობა სტიმული ეძლევა ურეაზის ბიოსინთეზს. არგინინის შეყვანა საკვებ ნიადაგში

ახდენს არგინაზის ბიოსინთეზის ინდუცირებას. ორგანული აზოტის წყაროდ გამოდგება პეპტონი, ტრიპტონი, საფუვრის ექსტრაქტი, კაზეინის ჰიდროლიზატი ან მათი ნებისმიერი ნარევი.

კულტივირების ნიადაგში სხვადასხვა ბიოპოლიმერების არსებობა განაპირობებს პროტეაზების, ამილაზების, ნუკლეაზების, ლიპაზების კომპლექსის ერთდროულად დაგროვებას.

მიკროორგანიზმების ზრდაზე და ფერმენტების ბიოსინთეზზე არსებით ზეგავლენას ახდენენ კალციუმის, მანგანუმის, თუთიისა და სხვ. იონები. რკინისა და მაგნიუმის იონები ააქტიურებენ და სტაბილურს ხდიან პროტეოლიზურ ფერმენტებს. რკინისა და სპილენძის იონების არსებობა კულტივირების ნიადაგში აუცილებელია რკინა- და სპილენძშემცველი ფერმენტებისათვის, რომლებიც, როგორც წესი, მონაწილეობენ ჟანგვა-აღდგენით რეაქციებში (ენერგიის წარმოქმნა და უტილიზაცია). ამ იონების არარსებობა შეიძლება ნეგატიურად აისახოს მრავალი მეტაბოლური პროცესის სიჩქარესა და იმ ფერმენტების ბიოსინთეზზე, რომლებიც ახდენენ ამ პროცესების კატალიზს.

მკაცრ ანაერობებს მიკუთვნებული ფერმენტების პროდუცენტები კულტივირებისათვის ითხოვენ პირობებს სრულიად მჟავა რეაქციის გარეშე და ძალიან გამდიდრებულ სრულფასოვან ნიადაგებს. ამ შემთხვევაში რადგან საჭირო არ არის არაცია და არევა, კულტივირების პროცესი შეიძლება ვაწარმოოთ უფრო მარტივ ფერმენტორებში.

პროდუცენტის მიერ მიზნობრივი პროდუქტის მიმართული ბიოსინთეზის უზრუნველსაყოფად საკვები ნიადაგებისა და კულტივირების პირობების ოპტიმიზაცია მნიშვნელოვანი ეტაპია მაღალი სიწმინდის ფერმენტების მიღების ბიოტექნოლოგიური პროცესისათვის.

კულტურალური სითხის გადამუშავება

სამრეწველო წარმოების ფერმენტების უმრავლესობა მიეკუთვნება უჯრედგარე ფერმენტებს, ამიტომ ისინი უნდა ვეძებოთ კულტურალურ სითხეში. უჯრედშიდა ფერმენტების (იზოფერმენტების) გამოყოფის დროს ძირითადი ამოცანა არის ფერმენტშემცველი უჯრედების მოგროვება.

სიღრმული კულტურა წარმოადგენს საკვების ნივთიერებების, მეტაბოლიზმის პროდუქტების (მათ შორის უჯრედგარე ფერმენტებს) შემცველ სუსპენზიას, რომელშიც შეწონილია (შეტივტივებულია) პროდუცენტის უჯრედები. კულტივირების პერიოდში ჩვეულებრივ მიმდინარეობს მიკრობული უჯრედის შეზღუდული ლიზისი და სუსპენზიაში ჩნდება უჯრედშიდა მეტაბოლიტების უკონტროლო რაოდენობა. სწორედ ამ საკმაოდ რთული და მრავალკომპონენტიანი ნარევიდან გვიხდება გამოვყოთ და გავწმინდოთ ერთი ფერმენტი ცალკე.

ტექნოლოგიურ პროცესს იწყებენ ხსნადი და უხსნადი ნივთიერებების გაყოფით, კონცენტრირებით და ფრაქციონირებით; ამთავრებენ გაწმენდით - სხვადასხვა ქრომატოგრაფიული ხერხების გამოყენებით.

<u>ფილტრაცია.</u> წვრილდისპერსიული უჯრედული მასალის, ნაწილობრივ დაშლილი უჯრედებისა და უჯრედშიდა პოლიმერების შემცველი სითხის ფილტრაცია დაკავშირებულია დიდ სიძნელეებთან. გასაფილტრი მასალა ბლანტია, მიდრეკილია ჩალაბვისაკენ, ნალექი ჭედავს ფილტრის ფორებს. ამის თავიდან ასაცილებლად იყენებენ ფართოფორებიან საფილტრავ მასალას - დიატომიტს, ყიზელგურს, ბენტონიტს, ფილტროპერლიტს და სხვ. ისინი აკავებენ ძალიან მცირე ნაწილაკებს, წარმოიშობა ბიომასისა და საფილტრავი მასალის გაუწურავი ფენები несжимаемые слои, რომლებიც ფილტრის თვისებებს ვერ ცვლიან და აღარ ხდება ფილტრის გაჭედვა. საფილტრავ მასალაზე შეიძლება მოხდეს ზოგიერთი ცილის სორბცია ან დენატურაცია, რაც ამცირებს ფერმენტების გამოსავალს. ფილტრის დამუშავება ედტმ (ეთილენდიამინოტეტრაძმარმჟავათი) 2-6%-ით ამცირებს დანაკარგებს.

უჯრედული მასისა და თანმხლები კონგლომერატების *სეპარაცია* ხდება ცენტრიფუგირებით (აშშ, ინგლისური და იაპონური ფირმების აპარატურა).

ბიომასის დეზინტეგრაცია. ფერმენტების ძირითადი რაოდენობა იმყოფება უჯრედის შიგნით, სადაც ისინი წარმოშობენ კომპლექსებს სხვა ბიოპოლიმერებთან. უჯრედული სტრუქტურები შეიძლება დაირღვეს პირდაპირი მექანიკური ზემოქმედებით (ბალისტიკური, უი, ექსტრუზიული, ფერმენტული მეთოდებით - იხ. თავი 6.7.). ფერმენტის პროდუცენტის ბიომასის ინტეგრაციის შემდეგ მიიღება ბლანტი, ოპალესცირებული სუსპენზია, რომელიც უჯრედის კედლების, სუბუჯრედოვანი სტრუქტურებისა და მათი დეგრადაციის პროდუქტებს შეიცავს; მასში არის აგრეთვე მრავალი მაღალ- და დაბალმოლეკულური ორგანული ნივთიერება. ფერმენტები იმყოფებიან გახსნილ მდგომარეობაში, ამიტომ პირველივე საფეხურზე აშორებენ გაუხსნელ ნაწილაკებს, რისთვისაც იყენებენ ჩქაროსნულ

ცენტრიფუგირებას. მიიღება გამჭვირვალე უჯრედული გამონაწვლილი, რომელიც შეიცავს მხოლოდ გახსნილ ბიოპოლიმერებსა და დაბალმოლეკულურ კომპონენტებს. ერთ-ერთი არასასურველი, რაც შეიძლება მოხდეს, არის პროტეოლიზი საკუთარი უჯრედული პროტეაზებით, რაც იწვევს გამოსაყოფი ფერმენტის კატალიზური აქტივობის დაქვეითებას, სპეციფიკურობის ან სტაბილურობის შეცვლას. ეს პროცესი მაინც მიმდინარეობს დაბალი ტემპერატურის შენარჩუნების შემთხვევაშიც, განსაკუთრებით, ფერმენტის გაწმენდის დროს, რადგანაც თანმხლები ცილების მოშორების მერე ფერმენტი, მით უმეტეს, ფერმენტი პროტეაზის ერთადერთი სუბსტრატი ხდება.

პროტეაზების ინაქტივაციას ახორციელებენ უჯრედის ექსტრაქტის სპეციფიკური ინჰიბიტორ-კომპლექსონებით (ედტმ, ოქსიქინოლინი და სხვ.), ვერცხლისა და სინდიყის (ვერცხლისწყლის) მარილებით დამუშავებით. პროტეაზები უჯრედის ექსტრაქტიდან შეიძლება მოცილებული იქნას აფინური სორბციით. თუ პროტეაზები თერმოლაბილურია, ხოლო გამოყოფილი ფერმენტი თერმოსტაბილური, შეიძლება მათი დენატურაცია უჯრედის ექსტრაქტის გაცხელებით. ნუკლეინის მჟავების დენატურაცია ფერმენტების გაწმენდის პროცესში, შეიძლება არის ტუტე რეაქციის დროს. შეიძლება სპეციალური დამლექების გამოყენება, რომლებიც ნუკლეინის მჟავებთან უხსნად კომპლექსებს წარმოქმნიან. ამ მიზნით იყენებენ ცეტილტრიმეთილამონიუმის ბრომიდს, სტრეპტომიცინის სულფატს, პროტამინოსულფატს, პოლიეთილენიმინს. ნუკლეინის მჟავების სრული მოცილება დამოკიდებულია არის მჟავიანობაზე, დამლექის კონცენტრაციასა და სხვა ფაქტორებზე.

უჯრედის ექსტრაქტისაგან ნუკლეინის მჟავების მოცილების სხვა ხერხია ჰიდროლიზი ნუკლეაზების თანხლებით; ამ მიზნით იყენებენ პანკრეატულ დნმ-აზას და რნმ-აზას.

ბიოპოლიმერების დიდ ნაწილს აშორებენ უჯრედული ხსნარების თერმოდამუშავებით, თუ ფერმენტი თერმოსტაბილურია. შემდეგ ატარებენ ქრომატოგრაფიულ გაწმენდას, მათ შორის აფინურს.

სორბენტების სახით გამოიყენება სხვადასხვა გელები - კალციუმის ფოსფატების, ალუმინის ჰიდროქსიდის, უფრო იშვიათად - ხის ნახშირი ან თუთიის ჰიდროქსიდის გელი. სორბციას ატარებენ სუსტ მჟავა ხსნარებში; სორბირებულ ფერმენტს გელიდან გამოყოფენ ცენტრიფუგირებით.

ულტრაფილტრაციისათვის იყენებენ მემბრანულ ფილტრებს, რომელთა სელექტიურობა და მუშაობის სისწრაფე დამოკიდებულია წნევაზე, ჰიდროდინამიკურ პირობებზე, ტემპერატურაზე, დასაყოფი ნარევის შემადგენლობასა და მის კონცენტრაციაზე.

ცილოვანი ხსნარების ფრაქციონირებისათვის იყენებენ ნეიტრალურ მარილებს. ცნობილია, რომ ცილების ხსნადობა დამოკიდებულია ცილის მოლეკულის სიდიდეზე, მათი ჰიდრატაციის ხარისხზე და მარილოვანი ხსნარების იონურ ძალაზე. იხსნება-რა მარილი, იგი შეიკავშირებს წყალს და ამგვარად, ცვლის ცილის მოლეკულის ჰიდრატაციის ხარისხს, რასაც მივყავართ მათ აგრეგაციამდე და ნალექის წარმოშობამდე. ამ მიზნით გამოიყენება ამონიუმის სულფატი, რომელსაც ბევრ ფერმენტთან დამოკიდებულებაში აქვს სტაბილიზატორის ეფექტიც. ამონიუმის სულფატის გამოყენება გამოსავალს 100%-მდე ზრდის.

ცილების ფრაქციონირება გამხსნელებით. წყალთან ორგანული გამხსნელის შერევით იცვლება მისი დიელექტრული მუდმივა და შესაბამისად, მოლეკულის ჰიდრატაციის ხარისხიც, წყლის მოლეკულების შეცვლამდე ორგანული გამხსნელის მოლეკულებით. ყოველივე ეს აჩქარებს ცილოვანი მოლეკულების უხსნადი აგრეგატების წარმოქმნას. ჩვეულებრივ, ფერმენტების ხსნარების ფრაქციონირებისათვის გამოიყენება ეთანოლი და აცეტონი. 4 გრადუს ტემპერატურაზე წყალ-სპირტის ნარევში ფერმენტები დენატურირდებიან, ამიტომ მუშაობას აწარმოებენ უფრო დაბალი ტემპერატურის დროს. ორგანულ გამხსნელს აცივებენ (- 30) - (-40) გრადუსზე მშრალი ყინულით ან გათხევადებული აზოტით; ახდენენ ნალექის ცენტრიფუგირებას, შემდეგ ხსნიან მცირე მოცულობის ბუფერულ ხსნარში, აშორებენ ორგანული გამხსნელის კვალს დიალიზით ან გელში ულტრაფილტრაციით.

ქრომატოგრაფიული ფრაქციონირებისათვის გამოიყენება იონცვლითი და აფინური ქრომატოგრაფია და გელ-ფილტრაცია. ფერმენტების ყველაზე ეფექტური გაწმენდა მიიღწევა იონცვლითი ქრომატოგრაფიით; იყენებენ სორბენტებს მეტაკრილის მჟავას თანაპოლიმერების ბაზაზე და სხვადასხვა ჰიდროფობურ მონომერებს. პრეპარატულ ენზიმოლოგიაში იყენებენ იონიტებს ნატურალური და ნახევრადსინთეზური პოლისაქარიდული მატრიცების ბაზაზე (იონმცვლელი ცელულოზები). ცელულოზის მრავალი წარმოებულიდან უფრო ხშირად გამოიყენება დეაე-, ტეაე-, კმ- და ფოსფოცელულოზები (პირველი ორი არის ანიონიტი, უკანასკნელნი - კათიონიტები). უმჯობესია გრანულირებული ცელულოზა, რომლის ჰიდროდინამიკური თვისებები ქრომატოგრაფიული პროცესის დიდი სიჩქარით ჩატარების საშუალებას იძლევა.

ფუნქციურად აქტიური ცილების სვეტიდან ელუირების შემდეგ სორბენტი საჭიროებს რეგენერაციას. არააქტიური ცილების, პიგმენტების და სხვა სორბირებული ნაერთების მოსაშორებლად სვეტს გარეცხავენ ტუტეებით, წყლით, მჟავებით და კვლავ წყლით. ზოგჯერ პიგმენტების სრული მოცილებისათვის გამოიყენება ორგანული გამხსნელები და დეტერგენტები. სვეტის რეგენერაციის პროცესი მთავრდება სტანდარტული ბუფერული ხსნარით დამუშავებით.

ფერმენტების ნარევის ფრაქციონირებას, რომელსაც მოლეკულათა სხვადასხვა ზომები აქვს, ხდება *გელ-ფილტრაციით* სხვადასხვა ტიპის სეფადექსებზე - ხაზოვანი პოლისაქარიდის - პოლიდექსტრანის მოდიფიცირებულ წარმოებულზე. მსხვილმოლეკულური ნარევების დასაყოფად გამოიყენება განივნაკეროვანი აკრილამიდები ულტრაგელის სახელწოდებით და აგაროზა განივნაკეროვან მდგომარეობაში. ამ უკანასკნელზე ქრომატოგრაფიული პროცესი შეიძლება განვახორციელოთ მჟავიანობისა და ტემპერატურის ფართო ინტერვალში, გამოვიყენოთ ორგანული გამხსნელების, მარილების შემცველი ბუფერული ხსნარები. ანალოგიური თვისებები აქვთ დექსტრანებს, აკრილამიდებით განივნაკერიანი სეფაკრილები; მათზე შეიძლება დაიყოს ცილებისა და მაღალმოლეკულური ნივთიერებების ნარევი 10^5-10^7.

გარდა ნატურალური და ნახევრადსინთეზური პოლისაქარიდული მატრიცებისა გელ-ფილტრაციისათვის გამოიყენება სინთეზური პოლიაკრილამიდური გელები (ბიოგელი P, ფირმების BioRadLaboratories აშშ და Reanal უნგრეთი).

მათ სტრუქტურაში დიდი რაოდენობით ამინოჯგუფები აძლევენ პოლიმერს ჰიდროფობურ თვისებებს, წყალში გაჯირჯვების კარგ უნარს გელის ფოროვანი სტრუქტურის წარმოქმნით. სინთეზურ გელებს მიეკუთვნება აგრეთვე ოქსიაკრილ მეტაკრილატური გელი-სფერონი (ფირმა Lachema ჩეხეთი).

გელ-ქრომატოგრაფიისათვის, ცილების ქრომატოგრაფიული დაყოფის სხვა მეთოდებისაგან განსხვავებით, საჭირო არაა სინჯის გაუმარილება, მჟავიანობის კორექტირება, ელუირებისათვის სპეციალური ბუფერები. სორბენტის გასწვრივ მოძრავი ცილების ნარევი თავისუფლდება მარილებისაგან და ნაწილდება მმ შემცირების კანონზომიერებით. ცილები და ნარევის სხვა კომპონენტები სორბენტან არ ურთიერთქმედებენ. სვეტიდან ჯერ გამოდიან ყველაზე მსხვილი მოლეკულები, შემდეგ ნაკლები მმ და ბოლოს, მარილები.

უმეტეს შემთხვევებში ყოველივე ზემოაღწერილის შემდეგ სვეტი კვლავ ვარგისია შემდეგ ქრომატოგრაფიულ ციკლში გამოსაყენებლად.

აფინური ქრომატოგრაფია ხასიათდება გამოსაყოფი ცილის დიდი გამოსავლიანობითა და გაწმენდის მაღალი ხარისხით. ამ ბიოსპეციფიკური მეთოდის საფუძველია ის, რომ მრავალკომპონენტიან ნარევში ერთ ან რამდენიმე ცილა-ფერმენტსა და პოლიმერულ სორბენტს შორის წარმოიქმნება მდგრადი კავშირი, რის შედეგადაც ეს ცილები ხსნარიდან გადადიან უხსნად სორბენტზე. რაც ნაკლებ ცილას უკავშირდება სორბენტი, მით მაღალია მისი სელექტიურობა (იდეალური სელექტიურობაა ერთი ფერმენტის შეკავშირება). შეკავშირების ცენტრებია სუბსტრატები, მათი ანალოგები, კოფერმენტები, შექცევადი ინჰიბიტორები, ანტისხეულები და სხვა ნივთიერებები, რომელთაც ეწოდება მატრიცებთან მიერთებული ლიგანდები. ლიგანდები სპეციფიკურად ურთიერთქმედებენ გამოსაყოფი ფერმენტის აქტიურ ცენტრებთან. ლიგანდების სახით გამოიყენებიან სუბსტრატების სინთეზური ანალოგები და კოფერმენტები.

სორბენტის მატრიცა, რომელთსაც უერთდება ლიგანდი, შეიძლება გახდეს ნებისმიერი პოლიმერი, რომელიც ფლობს შემდეგ თვისებებს:

- მსხვილფოროვან სტრუქტურას, რომელიც ფერმენტის მსხვილ მოლეკულებს საშუალებას აძლევს შეაღწიონ სტრუქტურის შიგნით და იმოქმედონ შეკავშირების ცენტრებთან;
- სტრუქტურის ჰიდროფილურობას, რომელიც წყალთან ურთიერთქმედებას უზრუნველყოფს და გამოირიცხება ცილების არასპეციფიკური შეკავშირება ჰიდროფობურ ცენტრებთან;
- სტრუქტურაში დამუხტული ჯგუფების არარსებობა, რომლებიც გამორიცხავენ არასპეციფიკური ელექტროსტატიკური კავშირების წარმოშობას;
- პოლიმერის თვისებას ადვილად აქტიურდებოდეს განსაზღვრული ქიმიური აგენტებით, რომლებიც საშუალებას იძლევიან მარტივი პროცესების ხარჯზე მიიერთონ ლიგანდის დიდი რაოდენობა;
- საკმარის ქიმიურ, მექანიკურ, მიკრობიოლოგიურ მდგრადობას, რაც უზრუნველყოფს სტაბილურობას სორბენტის მუშაობის დროს.

მითითებულ მოთხოვნებს ყველაზე სრულად პასუხობს სხვადასხვა ხერხით მოდიფიცირებული აგაროზები; აგაროზების ნაკლია არამდგრადობა მიკროორგანიზმების მიმართ, ნაკლები მექანიკური სიმტკიცე, მაღალი ღირებულება.

აფინური სორბენტის მკაცრ სპეციფიკურობას გამოსაყოფი ფერმენტისადმი მნიშვნელოვნად აუმჯობესებს თვით ქრომატოგრაფიული პროცესი; იგი შედგება სორბციის, შთაუნთქმელი ცილების მოცილების და შთანთქმული ფერმენტის ელუირების თანმიმდევრულად მონაცვლე ეტაპებისაგან. სორბციის პირობები შეირჩევა იმდაგვარად, რომ ფერმენტი რაც შეიძლება სრულად სორბირდებოდეს, ხოლო თანმხლები ცილები არ კავდებოდნენ. ეს დამოკიდებულია pH-ზე, იონურ ძალებზე, ბუფერული ხსნარების ბუნებაზე, ტემპერატურაზე. შთაუნთქმელი ცილების სორბენტისათვის მოშორების შემდეგ ეს პარამეტრები მკვეთრად იცვლება, რის შედეგად ფერმენტი გამოთავისუფლდება. ფერმენტის ელუაციის დროს ელუენტში ჩაუმატებენ სუბსტრატს, კოფერმენტს, ხსნად ინჰიბიტორებს; ეს ნივთიერებები აუმჯობესებენ გაწმენდის ეფექტურობას, რადგან სპეციფიკური აგენტები არ არღვევენ არასპეციფიკურ კომპლექსებს სორბენტსა და თანმდევ ცილებს შორის.

9.2. იმობილიზაცია - როგორც ეფექტურობისა და სტაბილურობის ამაღლების გზა

გარემოს სხვადასხვა ფაქტორების - pH-ის, ტემპერატურის და სხვ. მიმართ ფერმენტების მაღალი ლაბილობა, ორგანიზმში ინაქტივაცია და ორგანიზმიდან სწრაფი გამოყოფა, ორგანიზმისადმი უცხო ცილებისადმი ანტიგენური აქტივობა შეიძლება თავიდან ავიცილოთ იმობილიზებული ფერმენტების გამოყენებით.

ფერმენტების იმობილიზაცია არის მათი სტაბილურობის ამაღლება. არსებობს ფერმენტების იმობილიზაციის საყოველთაოდ მიღებული რამდენიმე მეთოდი, რომლებიც ტარდება მკაცრად ასეპტიკურ პირობებში. უნდა აღინიშნოს, რომ ბიოლოგიურად აქტიური მოლეკულების - ფერმენტების, ანტისხეულების, ანტიგენების იმობილიზაციის არსებული არც ერთი მეთოდი არაა უნივერსალური.

ფერმენტების იმობილიზაციის ყველაზე მარტივი მეთოდია - ფიზიკური მეთოდი ანუ უხსნად მატარებელზე ადსორბცია. მეთოდს საფუძვლად უდევს ელექტროსტატიკური და ზედაპირული დაჭიმულობის ძალების მოქმედება. გარკვეულ პირობებში ფერმენტსა და მატარებელს შეურევენ, აწარმოებენ ინკუბაციას და ცენტრიფუგირებით ან გაფილტვრით გაყოფენ გახსნილ და გაუხსნელ კომპონენტებს. ამ მეთოდის ნაკლია ფერმენტისა და მისი მატარებლის არასაკმარისი შეკავშირება. მაგალითად, ფერმენტის ადსორბცია დიეთილამინოეთილზე (დეაე) ანუ სეფადექსზე ხორციელდება მრავალრიცხოვანი მარილოვანი კავშირების ხარჯზე. ამგვარ ბმებზე კი იონური ძალის, pH-ის, ტემპერატურის და გამხსნელის ბუნების უმნიშვნელო ცვლილებებიც კი ახდენენ ზეგავლენას, რაც იწვევს ფერმენტის დესორბციას მატარებლიდან. დესორბცია სუბსტრატმაც კი შეიძლება გამოიწვიოს. აქვე მოქმედებენ ვან-დერ-ვაალსისა და წყალბადური ბმების სუსტი ძალებიც.

ფერმენტების ადსორბციისათვის გამოყენებული მასალები: ალუმინის ოქსიდი, ბენტონიტი, კალციუმის კარბონატი, კალციუმის ფოსფატის გელი, გააქტივებული ნახშირი, ცელულოზა, თეთრი თიხა (კაოლინი), კოლაგენი, იონმცვლელი ფისები (კათიონიტები და ანიონიტები), ფენოლური პოლიმერები, სილიკაგელი.

ადსორბცია იმობილიზაციის ნაზი მეთოდია, რომელიც სუს ზეგავლენას ახდენს ფერმენტების კატალიზურ აქტივობაზე.

ფერმენტების იმობილიზაცია კოვალენტური შეკავშირების საშუალებით ითვლება ნაზ მეთოდად. იგი დამყარებულია ფერმენტისა და მატარებლის მოლეკულებს შორის ქიმიური კავშირის წარმოშობაზე. ამასთანავე აუცილებელია, რომ ფერმენტის კატალიზური აქტივობის გამომჟღავნებისათვის აუცილებელი ამინომჟავები არ მონაწილეობდნენ მატარებელთან კოვალენტურ კავშირის დამყარებაში. კოვალენტური იმობილიზაციის ხერხმა შეიძლება გამოიწვიოს ფერმენტული აქტივობის დაქვეითება. თუ გამოვიყენებთ ისეთ სუბსტრატს, რომელიც დაიცავს აქტიურ ცენტრს, შეგვიძლია თავიდან ავიცილოთ ფერმენტის ინაქტივაცია. ტიპიური წყალში უხსნადი მატარებლები, რომლებიც გამოიყენება კოვალენტური იმობილიზაციისათვის: აგაროზა (სეფაროზა), ცელულოზა, დექსტრანი (სეფადექსი), პოლიაკრილამიდის თანაპოლიმერები, პოლიამინოსტიროლი.

კოვალენტური შეერთებისათვის საჭიროა მატარებლის წინასწარი აქტივაცია. გააქტივებულმა მატარებელმა შეიძლება იმოქმედოს ფერმენტების განსაზღვრულ ჯგუფებთან: ლიზინის ნაშთის α და ε ამინოჯგუფებთან, თიროზინის ნაშთების ფუნქციონალურ ჯგუფებთან, ჰისტიდინთან, არგინინთან, ცისტეინთან. მაგალითად, მატარებლის საფაროზას გააქტივებას ახდენენ ბრომციანით, რაც ბრომციანსა და საფაროზის ჰიდროქსილურ ჯგუფებს შორის რეაქციას ემყარება; ამ დროს წარმოქმნილი იმიდოკარბონატულმა ჯგუფებმა შეიძლება იმოქმედონ ფერმენტის თავისუფალ ამინოჯგუფებთან.

მატარებელზე იმობილიზებული ფერმენტის რაოდენობის განსაზღვრისათვის, საზღვრავენ მატარებელთან ინკუბირებული საწყისი ხსნარის ფერმენტულ აქტივობას, და იმობილიზაციის პროცესის დასრულების შემდეგ ხსნარში დარჩენილი ფერმენტის აქტივობას. ამ აქტივობებს შორის სხვაობა შეესაბამება იმობილიზებული ფერმენტის თეორიულ ან მაქსიმალურ რაოდენობას.

ფერმენტების იმობილიზაცია მეტალოხელატური მეთოდით. ამ მიზნით გამოიყენება გარდამავალი მეტალების თვისება წარმოქმნან კომპლექსები. გამოიყენება ტიტანის ქლორიდი სუფთა ან მჟავა ხსნარში, ტიტანის, ცირკონიუმის, ქრომის (მისი ოქსიდები არატოქსიკურია), რკინის, ვანადიუმის, კალის ჰიდროქსიდები. მატარებლების სახით გამოიყენება - ცელულოზის წარმოებულები და სილიკაგელები (ფორების ზომების შესატყვისად), გლუტარის ალდეჰიდი. მეტალის გელისებური ჰიდრატირებული ოქსიდები ფერმენტებთან წარმოშობენ უხსნად კომპლექსებს, რომელთაც აქვთ კარგი ფერმენტული აქტივობა. პოლისაქარიდულ მატარებელზე, კერძოდ ცელულოზაზე, იმობილიზებული ფერმენტების უფრო მაღალი აქტივობის პრეპარატებს იღებენ.

მაგალითად ხელატური კომპლექსი ტიტანის ოქსიდისა და ცელულოზის (D-გლუკოპირანოზის); D-გლუკოპირანოზის 6 მდგომარეობაში მდებარე ჰიდროქსილური ჯგუფები, ტიტანის იონებთან ურთიერთქმედებისას წარმოშობენ პოლიმერულ ხელატს. ნეიტრალურ წყლიან ხსნარში ტიტანის ქლორიდით გააქტივებულ პოლიმერსა და ფერმენტს შორის წარმოიშობა კოვალენტური ბმა; ამის შემდეგ ნარევი მთლიანად უნდა გამოშრეს. ტემპერატურა შერჩევითია, მაგრამ იგი არ უნდა აღემატებოდეს 50^0C; მატარებლის გააქტივებას, ჩვეულებრივ, ვაკუუმში ახდენენ.

უჯრედებისა და ფერმენტების იმობილიზაცია გელში ჩართვით. ეს მეთოდი მექანიკურ მეთოდებს მიეკუთვნება. გელი შედგება სფერული ნაწილაკებისაგან. საჭიროა ნაზი პირობები, აირცვლის კარგი პირობები.

პოლიაკრილამიდურ გელში უჯრედების ჩართვა. პოლიაკრილამიდი ფერმენტების იმობილიზაციის ყველაზე გავრცელებული მატარებელია. მას არ აქვს იონცვლის თვისება, ამიტომ არც ცვლის pH-ს. ფერმენტის დამაგრებისათვის საჭიროა სრული პოლიმერიზაცია, რისთვისაც მთავარია ხსნარიდან ჟანგბადის მოშორება.

კალციუმის ალგინატის გელში უჯრედების ჩართვა. ალგინატი ზღვის მურა წყალმცენარეების ძირითადი პოლისაქარიდია. პოლისაქარიდის მონოვალენტური კათიონები დაბალ კონცენტრაციებშიც კი წარმოშობენ ბლანტ ხსნარს ორვალენტოვანი კათიონების თანხლებით, განსაკუთრებით კალციუმის, ბარიუმის. . ამან განაპირობა ალგინატის ფართო გამოყენება ცოცხალი უჯრედების იმობილიზაციისათვის. მნიშვნელოვანია, რომ სისტემაში არ არსებობდეს ფოსფატები, ციტრატები და გელის სტრუქტურის მომშლელი სხვა ხელატირების აგენტები, რომლებიც კალციუმს შეიკავშირებენ.

უჯრედების ჩართვა კარაგენინის გელში. კარაგენინები ჰეტეროციკლური პოლისაქარიდებია, რომლებიც შეიცავენ α-D-გალაქტოპირანოზილ გოგირდმჟავას ეთერებს. . კარაგენინის წყლიან ხსნარზე (გელზე) კალციუმის იონების დამატებით წარმოიქმნება უხსნადი ფრაქცია.

უჯრედების ჩართვა აგარის გელში. აგარში ჩრთული უჯრედების პპპრეპარატები, როგორც კარაგენინი, მიიღება სფერული ნაწილაკების სახით. იმობილიზაციას ატარებენ ოთახის ტემპერატურამდე გამთბარ ხსნარში, რა დროსაც აგარი რჩება თხევადი. შემდებ უმატებენ უჯრედებს და ნარევს აცივებენ გელის წარმოშობამდე. უჯრედები უნდა უძლებდნენ 40 ^{0} C-მდე გაცხელებას. იმობილიზაციას ატარებენ უწყვეტი რეჟიმის რეაქტორში მორევის ქვეშ ან ცრუგათხევადებულ რეჟიმში მომუშავე რეაქტორში. გელის პოლიმერიზაციის პროცესში ფერმენტის მოლეკულები ჩაერთვება გელის უჯრებში. გელის ფორების ზომები უნდა იყოს უფრო მცირე, ვიდრე ფერმენტის მოლეკულებისა, მაგრამ ფერმენტები სუბსტრატისთვის მისაწვდომი უნდა დარჩეს.

ფერმენტების იმობილიზაცია მიკროკაფსულირებით. ამ სახის იმობილიზაციისას მთავარია - ფერმენტების გარემომცველი ხსნარის შეკავება. ხდება მთლიანად ფერმენტის შემცველი ხსნარის და არა ფერმენტის ცალკეული მოლეკულების იმობილიზაცია. მიკროკაფსულირების უპირატესობაა იმ ზედაპირის დიდი ფართობი, რომელიც იმობილიზებული ფერმენტის აქტივობის ერთეულზე მოდის,

რაც საშუალებას იძლევა გაიზარდოს მისი აქტივობა. მიკროკაფსულების ზომები მერყეობს რამდენიმე ათეულიდან რამდენიმე ასეულ მიკრონამდე.

ფერმენტების დასაცავად ორგანული გამხსნელებითა და მონომერებით, მიკროკაფსულირების წინ ფერმენტებს ურევენ მისი აქტივობის შემნახავ პოლიმერებთან; ასეთებია - ხარის შრატის ალბუმინი, ჰემოგლობინი, პოლივინილპიროლიდონი (პვპ), პოლიეთილენგლიკოლი (პეგ), პოლივინილის სპირტი (პვს) კონცენტრაციით 1%. პოლიმერების ჰიდროფობური მონაკვეთები ახდენენ ფერმენტის მოლეკულის დაცვას მიკროკაფსულირების პროცესში.

ორგანულ გამხსნელში მიკროსფეროების წარმოქმნისათვის იყენებენ ემულგატორს (Span - 85-ს 0,1% კონცენტრაციით) წყლიანი ფაზის წვეთების ზედაპირების დაფარვის მიზნით, რაც ფერმენტს იცავს ორგანულ გამხსნელთან უშუალო კონტაქტისაგან.

მიკროკაფსულირებული ფერმენტების ფიზიკური და ქიმიური თვისებეი დამოკიდებულია პოლიმერის ბუნებაზე, რისგანაც არის აგებული მიკროკაფსულა. პოლიმერს უნდა ჰქონდეს კოჰეზიის (შიდა შეწებების) თვისება, რაც უზრუნველყოფს უწყვეტ აპკს, რომ იყოს შეღწევადი სუბსტრატისათვის, იყოს ინერტული რეაქციული ნარევის მიმართ. მიკროკაფსულების მისაღებად გამოიყენება ბუნებრივი და სინთეზური პოლიმერები - კარბოქსიმეთილ-ცელულოზა, აცეტატფტალატ-ცელულოზა, ცელულოზის ნიტრატი, ჟელატინი, ეპოქსიდური ფისები, პოლიურეთანები, სტიროლი, პოლიამიდები.

ფერმენტული სისტემების მიკროკაფსულირებისათვის ყველაზე ხშირად გამოიყენება კოაცერვაცია. პოლიმერებს კოაცერვაციისათვის წარმოადგენენ - ცელულოზის აცეტატი და ნიტრატი, ბუტადიენის კაუჩუკი. მიკროკაფსულირების სტადიებია:

1. ფერმენტის გახსნა ბუფერულ ხსნარში, რომელიც დენატურაციისაგან ფერმენტების დასაცავად შეიცავს სხვა ცილების, მაგალითად ალბუმინს.
2. ორგანული ფაზის მომზადება, რომელიც შეიცავს ემულგატორს, მაგ. Span - 85-ს. ორგანული ფაზა არ უნდა ერეოდეს წყალს, ჩვეულებრივ იღებენ ეთერს, ციკლოჰექსანს, ტოლუოლს.
3. ფერმენტის წყლიანი ხსნარის შეტანა ორგანულ ფაზაში, გარკვეული დროით და სიჩქარით მორევა. მორევის სიჩქარეზეა დამოკიდებული მიკროკაფსულების ზომები.
4. ორფაზიან ნარევში სხვა ორგანული ხსნარის ჩამატება, რომელიც შეიცავს პოლიმერს და ორგანულ გამხსნელს (რომლებიც მე-2 პუნქტშია ჩამოთვლილი). ამ დროს ხდება წვრილი კოლოიდის წარმოშობა, რაც გამოიწვია ორგანული გამხსნელის განზავებამ.
5. არ წყვეტენ მორევას და ვაკუუმის პირობებში (ვერცხლისწყლის სვეტის 25 მმ-მდე) აწარმოებენ ორგანული გამხსნელის დესტილაციას (გამოხდას). ამ დროს ხდება მკვრივმემბრანიანი წყლიანი მიკროსფეროების დალექვა. მემბრანის სისქე ორგანულ ფაზაში არსებული პოლიმერის რაოდენობასა და პრეციპიტაციის (დალექვის) დროზეა დამოკიდებული.
6. მიკროკაფსულების გამოყოფა ორგანული ფაზიდან ცენტრიფუგირებით და გარეცხვა ბუფერული ხსნარით, რომელიც შეიცავს ტვინ-20-ს.

ფერმენტის ჩართვა ლიპოსომაში.

ლიპოსომები ორშრიანი სფერული წარმონაქმნებია შიგნით წყლიანი ფაზით ან მრავალშრიანი წარმონაქმნებია, რომლებიც კონცენტრული (საერთო ცენტრის მქონე) რამდენიმე ორშრიანი წარმონაქმნისაგან შედგება. მათი ზომა 10 ნანომეტრამდეა და შიგნით აქვთ ღრუ.

ლიპოსომების მისაღებად ფერმენტები და სხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები წყლიან ხსნარებში ექვემდებარებიან ულტრაბგერით დამუშავებას დადებითად ან უარყოფითად დამუხტული ფოსფოლიპიდების თანაობისას.

ფოსფოლიპიდების ფიზიკური პარამეტრების მიხედვით (მუხტი, სისქე, ზომები) ლიპოსომები აღწევენ უჯრედში ან ენდოციტოზის ან ბუნებრივ მემბრანებთან შერწყმის გზით. ენდოციტოზის დროს ლიპოსომების ფოსფოლიპიდური გარსი უჯრედს შიგნით იშლება ფოსფოლიპიდებით და ფერმენტი მისგან გამოთავისუფლდება უშუალოდ ციტოპლაზმაში; უჯრედის მემბრანასთან შერწყმის დროს ლიპოსომების ფოსფოლიპიდური კომპლექსი შედის უჯრედის მემბრანების შემადგენლობაში, აქტიური სუბსტანცია შედის ციტოპლაზმაში.

ლიპოსომების მოქმედება შეიძლება მიმართულად შეიცვალოს მემბრანის წარმომშობი კომპონენტების შემადგენლობის ხარჯზე, ლიპოსომების სწრაფვა სამიზნე უჯრედებისაკენ გაძლიერებულია სპეციფიკური ფაქტორებით (ანტისხეულებით და სხვ.).

ფერმენტული პრეპარატების ტაბლეტები და გრანულები (ტრიფსინის, ლიზოციმის, ტუტე ფოსფატაზის, კატალაზისა და სხვ.) მიიღება ბიოთავსებად პოლიმერებთან ნარევში (ზედაპირულად აქტიური ნივთიერებები - ზან, პოლივინილპიროლიდონი - პვპ, პოლივინილის სპირტი - პვს და სხვ.). პოლიმერში მდებარე დაზიანების კერაში ან მასთან ახლოს იმპლანტირებული ფერმენტი პრაქტიკულად სრულადაა დაცული აგრესიული ფიზიოლოგიური არის ზემოქმედებისაგან. პოლიმერიდან ფერმენტი გამოდის ნატივურ მდგომარეობაში, მისი მომდევნო ინაქტივაციისა და გამოყოფის სიჩქარე, ისევე, როგორც მის მიერ გამოწვეული ტოქსიკური და იმუნური რეაქციები, ტრადიციული მეთოდით მიღებული ნატივური ფერმენტის ანალოგიურია.

ფერმენტშემცველი პრეპარატები კათეტერიზაციის საშუალებით შეყავთ უშუალოდ კუნთოვან ქსოვილში ან დაზიანებული ორგანოს კაპილარულ ქსელში, იმობილიზებული ფერმენტები იქ ინარჩუნებენ მაღალ ლოკალურ კონცენტრაციას.

წყალში ხსნად პოლისაქარიდულ მატრიცაზე იმობილიზებული თრომბოლიზური ფერმენტები (სტრეპტოდეკაზა, სტრეპტოკინაზა, ცელიაზა), რომლებიც დეპონირებული არიან თრომბის განლაგების ადგილას კათეტერიზაციის მეთოდით, უფრო მცირე დოზებშიც ეფექტურნი ხდებიან, ვიდრე ჩვეულებრივი ფერმენტები.

ქვემოთ ცხრილში №-- მოგვყავსიმობილიზებული ფერმენტების ზოგიერთი პრეპარატი.

ცხრილი №--

იმობილიზებული ფერმენტების პრეპარატები

პრეპარატი	წყარო	წამლის ფორმა და შეყვანის გზა	ფარმაკოლოგია
1	2	3	4
სტრეპტოდეკაზა Streptodecasa	Streptomyces Haemoliticus	ლიოფილიზებული ფხვნილი ფლაკონებში. ვენაში	ფიბრინოლიტიკი
სტრეპტოკინაზა Streptokinasa			თრომბოლიტიკი
ცელიაზა Celiasa			
რიბონუკლეაზა Ribonucleasum	მსხვილფეხა რქოსანი ცხოველის კუჭქვეშა ჯირკვალი	ლიოფილიზებული ფხვნილი. კუნთში. აეროზოლი - ადგილობრივად	ანტიფლოგისტიკი. სასუნთქი გზების დაავადებების დროს
ასპერაზა Asperasum	Aspergillus oryzae	2% მალამო ტუბებში. ადგილობრივად	პროტეოლიზური, ჩირქოვან-ნეკროზული პროცესების დროს
ტერილიტინი Terrilytinum	Aspergillus oryzae	ლიოფილიზებული ფხვნილი ფლაკონებში. ადგილობრივად. ღრუს შიგნით	
ტერიდეკაზა Terridecasa ტერილიტინის მოდიფიცირებ. ფორმა			პროტეოლიზური, ანთების საწინააღმდეგო და ჭრილობის შესახორცებელი
პროფეზიმი Profezimum	Bacillus subtilis	10% სუსპ. ფლაკონებში ადგილობრივად	პროტეოლიზური, ნეკროლიზური, შეშუპების საწინააღმდ.
α-ამილაზა α-amylasum		ტაბლეტები ფლაკონებში. პერორალურად	საჭმლის მონელების მომწესრიგებელი
ორაზა - Orazum	Aspergillus oryzae	გრანულები ფლაკონებში. პერორალურად	პროტეოლიზური, ანთების საწინააღმდეგო

			საჭმლის მონელების მომწესრიგებელი
სომილაზა Somylasum	Penicillium solitum, Bacillus subtilis	ტაბლეტები ფლაკონებში. პერორალურად	ლიპოლიზური, საჭმლის მონელების მომწესრიგებელი
პენიცილინაზა Penicillinasum	Bacillus licheniformis	ლიოფილიზებული ფხვნილი ფლაკონებში. კუნთში	მწვავე ალერგიული რეაქციები, ანაფილაქსური შოკი

იმობილიზებული მცენარეული უჯრედები

მცენარეული უჯრედები ძალიან მგრძნობიარე არიან გარემოს ცვლილებების მიმართ და მათი იმობილიზაციისათვის გამოყენებული უნდა იქნას ყველაზე უფრო ნაზი მეთოდები. მაგ., კალციუმის ალგინატის გელში ჩართვა. მცენარეული უჯრედის იმობილიზაციის საშუალებით თითქმის მთლიანად გადაჭრილია მცენარეული უჯრედების კულტურის გამოყენების პრობლემა რთული ორგანული ნაერთების მისაღებად. მაგ., Digitalis lanata-ს იმობილიზებულ უჯრედებს შეუძლიან განახორციელონ დიგოქსინის ნაწარმის 1-2-β-ჰიდროქსილირება დიგიტოქსინის წარმოქმნისათვის. დიგიტოქსინი არის ფუტკარას (სათითურას) ერთადერთი პრეპარატი, რომელიც მთელს მსოფლიოში გამოიყენება.

დამუშავებულია ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების მიღების ტექნოლოგია სხვადასხვა ტევადობის ფერმენტიორებში სუსპენზიური მეთოდით კულტივირებული მცენარეული უჯრედების ბიომასიდან. შექმნილია კომერციული პრეპარატები (ჟენ-შენი, შიკონინი და სხვ.).

იმობილიზებული უჯრედები გამოიყენება სტეროიდული ნაერთების ტრანსფორმაციის დროს, რადგანაც ზოგიერთი სტეროიდგარდამქმნელი ფერმენტი, განსაკუთრებით, ჰიდროქსილაზები და დეჰიდროგენაზები, ძალიან მობილური ცილებია. მატარებლის სახით გამოიყენება პოლიაკრილამიდი (პაა), პოლივინილის სპირტი (პვს), აგარი, კალციუმის ალგინატი.

(წიგნის 9) თავი 10. ნორმოფლორის პრეპარატები

ადამიანის მიკროფლორა საფუძვლად უდევს მის მიკროეკოლოგიას, ადამიანის სხეულში გარდა ვირუსებისა, უმარტივესებისა და სოკოებისა ბინადრობს დაახლოებით 500 სახეობის ბაქტერია. ნორმალური ფლორა განიხილება როგორც სხეულის სხვადასხვა ნაწილების მიკრობიოცენოზების ერთობლიობა, რომლებიც კავშირში არიან გარემოსთანაც. მიკრობიოცენოზების ერთობლიობა აღინიშნება, როგორც ნორმობიოცენოზი ანუ **ეუბიოზი**. ჯანმრთელი ადამიანისათვის დამახასიათებელია ორგანიზმის მიკროეკოლოგიის წონასწორობის მდგომარეობა. ადამიანის ორგანიზმში ბინადრობს 10^{14} - 10^{16} ბაქტერია, ანუ ბაქტერიული უჯრედი გაცილებით მეტია, ვიდრე თვით ორგანიზმის უჯრედები. ისინი წარმოადგენენ ერთგვარ „ექსტრაკორპორალურ“ - კარგად ორგანიზებულ ორგანოს. ამ „ორგანოს“, ისე, როგორც სხვა ნებისმიერ ორგანოს, აქვს ფუნქციები, კრიტერიუმები, ფუნქციური მდგომარეობის მაჩვენებლები, ე.ი. ნორმები და მათგან გადახრები.

დიდია ნორმოფლორის თავდაცვითი როლი ჯანმრთელობის უზრუნველსაყოფად, ამიტომ სხვადასხვა სახეობის მიკროორგანიზმებს შორის თანაფარდობის დარღვევას მათი მუდმივ ადგილსამყოფელებში რომელიმე სახეობის ინტენსიური გამრავლების ან დახოცვის შედეგად, შეუძლია მოიტანოს ჰომეოსტაზის დარღვევა პათოლოგიური მნიშვნელობის შესაბამისი შედეგებით. დისბიოტურ მდგომარეობას შეუძლია გამოიწვიოს ადამიანის ნორმოფლორის თვისობრივი და რაოდენობრივი ცვლილებები.

მუდმივი და შემთხვევითი (ინდიგენური და ტრანზიტორული) მიკროორგანიზმები, რომლებიც ადამიანის ორგანიზმში გვხვდება სიცოცხლის განმავლობაში, პირობითად 4 ჯგუფად შეიძლება დაიყოს:

1. მიკროორგანიზმები, რომელთაც უნარი არ შესწევთ ხანგრძლივად დაჰყონ ადამიანის ორგანიზმში და რომელთა ყოფნა მასში ატარებს შემთხვევით ხასიათს;
2. მიკროფლორის მუდმივი წარმომადგენლები, რომლებიც უდავოდ სარგებლიანი არიან (ბიფიდო-, ლაქტო- და კოლიბაქტერიები);
3. ნორმოფლორის პირობითად პათოგენური წარმომადგენლები, რომლებიც განსაზღვრულ პირობებში შეიძლება გადაიქცნენ პათოგენურებად (სტაფილოკოკები);
4. ინფექციური დაავადებების გამომწვევი მიკროორგანიზმები.

თუ განვიხილავთ სრულიად ჯანმრთელი ადამიანის კუჭნაწლავის ტრაქტის მიკროფლორას, ვერ ვილაპარაკებთ აბსოლუტურ ნორმაზე. ცხრილში №-- მოყვანილია კუჭნაწლავის ნორმალური მიკროფლორის მაგალითი 1 გ ფეკალურ მასებზე კოლონიაწარმომქმნელის ერთეულებში.

ცხრილი -№-

ნაწლავის მიკროფლორის შემადგენლობა ნორმაში

(მონაცემები აღებულია Т. П. Прищеп, В. С. Чучалин и др. - Основы фармацевтической биотехнологии)

მიკროორგანიზმის დასახელება	კოლონიაწარმომშობები 1გ ფეკალურ მასაში
ბიფიდობაქტერიები	10^8-10^{10}
ლაქტობაქტერიები	10^6-10^9
ბაქტეროიდები	10^7-10^9
პეპტოკოკები და პეპტოსტრეპტოკოკები	10^5-10^6
ეშერიხია	10^6-10^8
ჰემოლიზური სტაფილოკოკები	არაუმეტეს 10^3
არაჰემოლიზური სტაფილოკოკები	10^4-10^5
სტრეპტოკოკები	10^5-10^7
კლოსტრიდიები	10^3-10^5
ეუბაქტერიები	10^9-10^{10}
საფუვრისებური სოკოები	არაუმეტეს 10^3
პირობით პათოგენური ენტერობაქტერიები	არაუმეტეს 10^3-10^4

ორგანიზმის კოლონიური რეზისტენტულობის ფორმირებაში ევოლუციის პროცესში ნაწლავის ნორმალურმა მიკროფლორამ შეიძინა განსაკუთრებული მნიშვნელობა. პირობით-პათოგენური ან პათოგენური მიკროფლორის კოლონიზაციისაგან თავდაცვის ყველაზე მთავარი მექანიზმია ადამიანის ორგანიზმში საკუთარი სასარგებლო მიკროფლორის არსებობა, რომელთაც პირველ რიგში, მიეკუთვნება ***ლაქტო- და ბიფიდობაქტერიები.*** რძისმჟავა ბაქტერიები (Lactobacteriauae) მიეკუთვნება მომრგვალებული (Streptococcus, Diplicoccus) ან ჩხირისებური (Lactocobacterium) ფორმის მქონე ჭეშმარიტ გრამდადებით ბაქტერიებს. რძისმჟავა კოკები და მრავალი ბაქტერია ლაგდება მოკლე ან გრძელი ჯაჭვების სახით. ესენი და სხვებიც არ წარმოშობენ ფორებს, არიან უძრავები და ანაერობულები.

რძისმჟავა ბაქტერიებს თავიანთი მრავალრიცხოვნობით ადამიანის ნაწლავში ბაქტერიული ფლორის სხვა წარმომადგენელთა შორის ერთ-ერთი წამყვანი ადგილი უჭირავთ. უდავოა, რომ ეს მიკროორგანიზმები პირველხარისხოვან როლს თამაშობენ ნაწლავის ნორმალური მიკროფლორისა და მაკროორგანიზმის სიმბიოზურ ურთიერთდამოკიდებულებებში.

შაქრის დუღილის პროცესში რძისმჟავა ბაქტერიები წარმოქმნიან, როგორც მთავარ პროდუქტს, მხოლოდ რძის მჟავას. ამიტომ მათ *ჰომოფერმენტულს* (ანუ ერთფერმენტულს) უწოდებენ. სხვებს უწოდებენ *ჰეტეროფერმენტულს*; ისინი ძირითადი პროდუქტების სახით წარმოშობენ რძისა და ძმარმჟავებს, ეთანოლს, ნახშირორჟანგს და ეთერისებურ სხვა აქროლად ნივთიერებებს. ჰომოფერმენტული ბაქტერიებია - S. lactis, S. cremoris, Lactobacterium casei, L. lactus და სხვ. ჰეტეროფერმენტულებს მიეკუთვნება სურნელწარმომშობის ბაქტერიები - S. citrovorus, S. acetonicus,

აგრეთვე ბაქტერიები Betabacterium, Coli - aerogenes ჯგუფიდან და ზოგიერთი სხვებიც - S. faecalis, S. bovis და სხვ.

არსებობს რძისმჟავა ბაქტერიები - მეზოფილები, რომლებიც ვითარდებიან ოპტიმალურ 25-35^0 C - Saccharomyces lactis, S. fovis, L. Casei, სურნელწარმომშობი ბაქტერიები; 40-45^0 C-ზე L. lactis, L. helventicum.

ნაწლავის ნორმალური მიკროფლორა ასრულებს და აწესრიგებს ორგანიზმის მრავალ ფუნქციას, რომელიც შეიძლება შევადაროთ ასობით ბიოქიმიური პროცესის შემსრულებელი ლაბორატორიის მუშაობას. მოზრდილი ადამიანის ნაწლავში მობინადრე მიკრობების ბიომასა 2,5-3 კგ შეადგენს. მათი ცხოველმოქმედების პროცესში წარმოქმნილი ორგანული მჟავები მსხვილი ნაწლავის მჟავიანობას 5,3-5,8-მდე, წარმოიშობა ასევე ლიზოციმი და ანტიბიოტიკისმაგვარი სხვა ნივთიერებები, რომლებიც განაპირობებენ ამ ბაქტერიების ანტაგონისტურ მოქმედებას პათოგენურ, ლპობის და აირწარმომშობ მიკროფლორასთან დამოკიდებულებაში. ამის შედეგად მნიშვნელოვნად ეცემა ნაწლავში ლპობის პროცესით წარმოშობილი პროდუქტებით - ინდოლით, ფენოლით, სკატოლით ქრონიკული მოწამვლის შესაძლებლობა. ნაწლავის ნორმოფლორის წარმომადგენლები შედიან კონკურენციაში პათოგენურ ფლორასთან - არგინინის, ასპარაგინის მჟავას, სერინისათვის, ასევე ეკოლოგიური ნიშისათვის. ამრიგად, ბიფიდო- და ლაქტობაქტერიები აწესრიგებენ ნაწლავის ნორმალური მიკროფლორის თვისობრივსა და რაოდენობრივ შედგენილობას, აფერხებენ-რა მასში პათოგენური და პირობით-პათოგენური მიკრობების ზრდასა და გამრავლებას.

დიდია ნაწლავის მიკროფლორის როლი ***ფერმენტების პროდუცირებაში,*** რასაც დიდი მნიშვნელობა აქვს საჭმლის მონელებისა და მეტაბოლიზმის პროცესებში. ბაქტერიული პროტეაზები ახდენენ ცილებისა და პეპტიდების ჰიდროლიზს - ამინომჟავებამდე და პეპტიდურ ნაშთებამდე. ნორმოფლორის ერთ-ერთი თვისებაა აზოტ-და ნახშირბადშემცველი ნაერთების მეტაბოლიზმი მიკრობული ფერმენტების ხარჯზე. შარდოვანას მეტაბოლიზმი ნაწლავში ხდება მიკრობული ურეაზებით. ნაწლავის მიკროფლორა მონაწილეობს ლიპიდების დეგრადაციასა და მათ სინთეზში. ნორმალური მიკროფლორა მონაწილეობას ღებულობს ნაღვლის მჟავების რეცირკულაციაში და აქტიურად ზემოქმედებს ქოლესტერინულ და ბილირუბინულ მეტაბოლიზმში. ბიფიდო- და ლაქტობაქტერიები, ბაქტეროიდები ეუბაქტერიები ხელს უწყობენ კალციუმის, D ვიტამინის, რკინის შეწოვას.

ეშერიხიები, ბიფიდო-, ლაქტო- და ეუბაქტერიები ასრულებენ ***ვიტამინწარმომშობ*** ფუნქციას - იღებენ-რა მონაწილეობას K ვიტამინის, B ჯგუფის ვიტამინების - თიამინის, ბიოტინის, ციანკობალამინის, ფოლის მჟავას, ნიკოტინის მჟავას სინთეზში. ამასთანავე ისინი ხელს უწყობენ შეუცვლელი ამინომჟავების სინთეზს, კალციუმის მარილებისა და D ვიტამინის უკეთ ათვისებას. ბიფიდო- და ლაქტობაქტერიების მეტაბოლიტები ხელს უშლიან საკვები ჰისტიდინის მიკრობულ დეკარბოქსილირებას და ჰისტამინის რაოდენობის მომატებას, ანუ ფლობენ ანტიანემიურ, ანტირაქიტულ და ანტიალერგიულ მოქმედებას. ლაქტობაქტერიები წარმოშობენ რძის მჟავას, ლიზოციმს, ლიზინს, აციდოფილინს და სხვ. ნაწლავის ჩხირი ხელს უწყობს იმუნოგლობულინების სინთეზს, რაც წინააღმდეგობას უწევს ინფექციის განვითარებას, გამოიმუშავებს კანცეროლიზურ ნივთიერებებს.

დიდი მნიშვნელობა აქვს ანაერობების მიერ ბიოლოგიურად აქტიური შენაერთების - აქროლადი ცხიმოვანი მჟავების, ნატრიუმის, კალიუმის, კალციუმის, მაგნიუმის, თუთიის, ქლორის იონების, წყლის რეცირკულაციასა და აბსორბციაში. ნაწლავის ნორმოფლორას უნარი აქვს დაშალოს ცილები დაშლის საბოლოო პროდუქტებამდე (ინდოლი, ფენოლი, სკატოლი), უტილიზაცია უყოს გადაუმუშავებელ საკვებ სუბსტრატებს და მათგან წარმოქმნას ორგანიზმში ჩვეული ნივთიერებათა ცვლის აღმდგენი ორგანული მჟავები, ამინომჟავები და სხვა შენაერთები. საბოლოო ანგარიშში ნაწლავის მიკროფლორა უნარჩუნებს ორგანიზმს წყლის, ელექტროლიტურ და მჟავა-ტუტოვან წონასწორობას.

ნაწლავის ნორმოფლორა მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ***იმუნური სისტემის ჩამოყალიბებასა და ფუნქციონირებაში.*** ცხოველებზე ექსპერიმენტებით დადგენილია, რომ ბიფიდო - და ლაქტობაქტერიების პერორალური შეყვანა ზრდის სხვადასხვა ინფექციებისადმი შეუვალობას, რაც საშუალებას იძლევა ვირწმუნოთ ეუბიოტიკების იმუნოპოტენციური შესაძლებლობები. ნორმოფლორის ზემოქმედებით გამოწვეული იმუნომასტიმულირებელი ეფექტი გამოიხატება მაკროფაგებისა და მონოციტების, ფაგოციტური აქტივობის გაძლიერებაში, ციტოკინების სინთეზში, დაცვის უჯრედული იმუნური მექანიზმების სტიმულაციაში.

ნორმალური მიკროფლორა ხელს უწყობს ***პლაზმატური უჯრედების პროლიფერაციას.*** ბიფიდობაქტერიები ასტიმულირებენ ანტისხეულების სინთეზს, ლაქტობაქტერიები კი ამაღლებენ

ფაგოციტებისა დ ლიმფოციტების აქტიურობას. ბიფიდო- და ლაქტობაქტერიების ბაქტერიული მოდულინები აძლიერებენ ლიმფოიდურ აპარატს, იმუნოგლობულინების, ინტერფერონის სინთეზს, ადიდებენ პროპერდინისა და კომპლემენტის დონეს, ამაღლებენ ლიზოციმის აქტიურობას, ხელს უწყობენ სისხლძარღვოვან-ქსოვილოვანი ბარიერების შეღწევადობის შემცირებას პათოგენური და პირობით-პათოგენური მიკროორგანიზმების ტოქსიკური პროდუქტებისათვის, წინ ეღობებიან ბაქტერიების ტრანსლოკაციას შინაგან ორგანოებსა და სისხლში, აცხრობენ ნაწლავის ლორწოვანის პათოლოგიურ პროცესებს.

ანაერობული ბაქტერიები *გამოიმუშავებენ **ბან**-ს*, როგორიცაა β-ალანინი, 5-ამინოვალერიანისა და γ-ამინოერბოს მჟავა, აგრეთვე მედიატორებს, რომლებიც ზეგავლენას ახდენენ კუჭ-ნაწლავის ტრაქტზე, ღვიძლზე, გულ-სისხლძარღვთა სისტემაზე, სისხლწარმოშობისა და ნივთიერებათა ცვლის პროცესებზე. ნაწლავის ნორმალური მიკროფლორის, მათ შორის პროპიონული ბაქტერიების, ცხოველმოქმედების პროდუქტები მომწესრიგებელ ზეგავლენას ახდენენ ვეგეტატიურ ნერვულ სისტემაზე. როგორც „ბუნებრივი ბიოსორბენტი“, ნორმალურ მიკროფლორას სხვადასხვა ტოქსიკური პროდუქტების მნიშვნელოვანი რაოდენობის, მათ შორის - ლითონების, ფენოლების, მცენარეული და მიკრობული წარმოშობის შხამებისა და სხვა ქსენობიოტიკების აკუმულაციის უნარი შესწევს. ნაწლავის ნორმალური მიკროფლორის წყალობით ორგანიზმი გარემოზე ნაკლებ დამოკიდებული ხდება.

ნაწლავის ნორმალური მიკროფლორის დადებითი ფუნქციებია:

1. კოლონიზაციური რეზისტენტობა;
2. სინთეზის ფუნქცია - ბაქტერიების თვისება მოახდინოს ვიტამინების, ჰორმონების, ანტიბიოტიკების სინთეზი;
3. იმუნოლოგიური რეზისტენტობისათვის მნიშვნელოვანი ლიზოციმის, სეკრეტორული იმუნომოდულინების, ინტერფერონის მაღალ ნიშნულზე შენარჩუნება;
4. ენდოგენური და ეგზოგენური სუბსტრატებისა და მეტაბოლიტების დეტოქსიკაცია;
5. მიმოცვლითი ფუნქცია - ბაქტერიების მონაწილეობა ცილების, ნახშირწყლების, ლიპიდების, ნუკლეინის მჟავების, მარილების, ნაღვლის მჟავებისა დ სხვა სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვანი ნივთიერებების მეტაბოლიზმში;
6. საჭმლის მონელების ფუნქცია - ლორწოვან გარსებზე მორფოკინეტიკური გავლენა, აბიოტური კომპონენეტების აბსორბცია, ნუტრიენტების ტრანზიტი, ნაწლავის აიროვანი შიგთავსის, კუნთის ტონუსის, პერისტალტიკის კონტროლისა და ნაწლავის შიგთავსის ევაკუაციის ფუნქცია.

ქვემოთ მოყვანილ ცხრილში მოცემულია ნაწლავის ნორმალური მიკროფლორის დამცავი და ფიზიოლოგიური ფუნქციები.

ცხრილი №

ნორმობიოცენოზის ფუნქციები

ფუნქცია	რეალიზაციის ხერხი
კოლონიზაცია	მიკრობთაშორისი წინააღმდეგობა, იმუნური სისტემის აქტივაცია
დეტოქსიკაცია	ცილების, ლიპიდების, ნახშირწყლებისა და სხვ. მეტაბოლიზმის პროდუქტების ჰიდროლიზი
სინთეზი	ვიტამინების, ჰორმონების, ანტიბიოტიკური და სხვა ნივთიერებების სინთეზი
საჭმლის მონელება	კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის ფიზიოლოგიური აქტიურობის გაძლიერება

ადამიანის მიკროფლორამ განსაზღვრულ პირობებში შეიძლება არაკეთილმყოფელი მოქმედება მოახდინოს ადამიანის ორგანიზმის ცხოველმყოფელობასა და მდგომარეობაზე. შესაძლებელია წარმოიშვას ჩირქოვან-ანთებითი რეაქციები, ხდება ორგანიზმის სენსიბილიზაცია მრავალი ალერგიული ხასიათის კლინიკური გამოვლინებით, ორგანიზმში მუტაგენური და ანტიმუტაგენური აქტივობის პლაზმიდების ბანკის ფორმირებით და ა.შ.

10.2. დისბაქტერიოზი, მისი წარმოშობის მიზეზები, პროფილაქტიკა და მკურნალობა

ნორმოფლორის დამრღვევი ფაქტორები მრავალრიცხოვანია. ჩვენი პლანეტის მოსახლეობის თითქმის 90% ამა თუ იმ სიმძიმის ***დისბაქტერიოზით ე.ი. მიკროეკოლოგიური*** დარღვევებით არის დაავადებული. Bacterial overgrowth - ტერმინი ინგლისურიდანაა და ქართულად ითარგმნებ, როგორც „ბაქტერიების მოჭარბებული განვითარების სინდრომი". უფრო გავრცელებულია ნაწლავის დისბაქტერიოზი, რომლის მიზეზი შეიძლება იყოს მძიმე ავადმყოფობა, ინტოქსიკაცია, არასწორი კვება, იმუნური სისტემის დარღვევები და, განსაკუთრებით ხშირად, ანტიბიოტიკებისა და სხვა ანტიმიკრობული პრეპარატების დაუსაბუთებელი და უკონტროლო გამოყენება. დისბაქტერიოზი შეიძლება გახდეს კოლიტების, ქოლეცისტიტების, დიათეზის, ნეიროდერმიტების, ანემიის, ფსორიაზის, ლორწოვანი გარსის სოკოვანი დაზიანებების, ალერგიის წარმოშობის მიზეზი.

მკურნალობის ტაქტიკა დამოკიდებულია იმაზე, თუ დისბაქტერიოზი რამდენად გამოხატულია და გულისხმობს კომპლექსურ მიდგომას. იგი მოიცავს:

- სწორი ნაწლავის ჭარბი ბაქტერიული დასენიანების თავიდან აცილება, ნორმალური მიკრობული ფლორის აღდგენა;
- ნაწლავური საჭმლის მონელებისა და შეწოვის გაუმჯობესება;
- ნაწლავის ნორმალური მოტორიკის აღდგენა;
- ორგანიზმის რეაქტიულობის სტიმულაცია.

დისბაქტერიოზის პროფილაქტიკისა და მკურნალობისათვის არის ჩვენება, გამოვიყენოთ ნაწლავის ნორმალური მიკროფლორის პრეპარატები, ე.წ. ეუბიოტიკები (პრობიოტიკები) - ადამიანის ნორმალრი მიკროფლორის პრეპარატები. ტერმინი „პრობიოტიკები" პირველად შემოიღო სამეცნიერო ლიტერატურაში 1965 წელს Lilley-მ და Stillwell-მა მიკრობული წარმოშობის შენაერთების აღსანიშნავად, რომლებიც ანტიბიოტიკებისაგან განსხვავებით, კი არ ხოცავდნენ მიკროორგანიზმებს, არამედ ხელს უწყობდნენ მათ ზრდას. პრობიოტიკების ანუ ეუბიოტიკების შემადგენლობაში შედის მიკროორგანიზმების მცენარეული ან ცხოველური წარმოშობის სპეციალურად შერჩეული ცოცხალი უჯრედების შტამები; ისინი ცოცხლობენ ნაწლავის გარემოში, არაპათოგენურები, არატოქსიკურები და შენახვის მიმართ სტაბილურები არიან ხანგრძლივი დროით. პრობიოტიკების სასარგებლო მოქმედების მექანიზმი მოიცავს:

- მიკრობული პათოგენების დათრგუნვას ანტიბაქტერიული ნივთიერებების წარმოშობით, ლიმიტირებული საკვები ნივთიერებებისა და ნაწლავის კედელზე ადჰეზიის საიტებისთვის კონკურენციით;
- ნაწლავის მიკროორგანიზმების ფერმენტულ აქტივობაზე გავლენას;
- მიკროორგანიზმის იმუნურ სისტემაზე სტიმულაციას.

ამ ჯგუფის პრეპარატებს წარმოადგენენ ბიფიდუმბაქტერინი, ბიფიკოლი, ბიფიფორმი, ლაქტობაქტერინი, ლაქტო - ჯი, ბაქტისუბტილი, ლინექსი, ენტეროლი და ა.შ. ძალზე პერსპექტიულია გენური ინჟინერიით რეკომბინანტული პრობიოტიკების შექმნა, რომელთაც ერთდროულად ექნებოდა ანტიბაქტერიული და ანტივირუსული თვისებები.

მიღებული **პრებიოტიკებად** ჩაითვალოს ის საკვები დანამატები, რომლებიც შერჩევითად აძლიერებს ე.წ. ადამიანის მეგობარი ბაქტერიების ზრდა-განვითარებას. ესენია დაბალმოლეკულური ნახშირწყლები (ფრუქტოზო-ოლიგოსაქარიდები, ინულინი, ლაქტულოზა და სხვ.), რომლებიც არ უნდა დაექვემდებაროს ჰიდროლიზს საჭმლის მომნელებელი ფერმენტებით.

სიმბიოტიკები პრობიოტიკებისა და პრებიოტიკების კომპლექსური პრეპარატებია.

არის კიდევ დისბაქტერიოზის თავიდან აცილების ერთი გზა - პათოგენურ მიკრობულ ფლორაზე ნორმალური მიკროორგანიზმების მეტაბოლიზმის პროდუქტებით ზემოქმედება. ასეთ პრეპარატებს მიეკუთვნება ხილაკ-ფორტე; იგი წარმოადგენს ნაწლავის მიკროფლორის ნივთიერებათა ცვლის პროდუქტების სტერილურ ფხვნილს, რომელშიც შედის რძის მჟავა, ლაქტოზა, ამინომჟავები და ცხიმოვანი მჟავები. ეს ნივთიერებები ხელს უწყობენ ნაწლავში ბიოლოგიური გარემოს აღდგენას, რომელიც აუცილებელია ნორმალური მიკროფლორის არსებობისათვის, და მეორეს მხრივ, თრგუნავენ

პათოგენური ბაქტერიების ზრდას. შესაძლებელია მეტაბოლიზმის პროდუქტები აუმჯობესებდნენ ეპითელიოციტებისა და კოლონოციტების ტროფიკასა და ფუნქციებს.

10.3. ნორმოფლორის პრეპარატების წარმოება

ეუბიოტიკების პრეპარატების მასიური წარმოების აუცილებელ პირობას წარმოადგენს ხანგრძლივი დროით მათი სტაბილურობის შენარჩუნება. ცოცხალი მიკროორგანიზმების შემცველი ბაქტერიული პრეპარატები მეტ-ნაკლებად მდგრად პრეპარატებს მიეკუთვნება, მათი აქტივობა კლებულობს უჯრედების დაღუპვის გამო. ბიოლოგიური ორგანიზაციის დაბალი დონის გამო, მიკროორგანიზმები სიცოცხლის უნარს ინარჩუნებენ წყლის თითქმის მთლიანად დაკარგვის შემდეგაც, ამიტომ მათში შექცევადად ნელდება ან წყდება ნივთიერებათა ცვლის პროცესები. ბაქტერიების სიცოცხლის ხანგრძლივობის გასადიდებლად მიღებულია სუბლიმაციური შრობა; იგი მიმდინარეობს დაბალი ტემპერატურისა და ღრმა ვაკუუმის პირობებში (ჟანგბადის უმნიშვნელო კონცენტრაციით).

ჰიგროსკოპულობის გამო გამომშრალი ბიოპრეპარატის შეფუთვას ახდენენ ვაკუუმის ქვეშ ან ინერტული აირის ნაკადში.

მშრალი ეუბიოტიკების პრეპარატებში მიკროორგანიზმების სიცოცხლისუნარიანობაზე მოქმედ ფაქტორებს მიეკუთვნება:

- ნარჩენი ტენიანობის რეგლამენტირებული შემადგენლობა;
- დამცავი არის არსებობა;
- მშრალი პრეპარატების შენახვა ისეთ ატმოსფეროში, სადაც არაა ჟანგბადი.

კუჭის მჟავიანობისაგან ეუბიოტიკების დაცვის მიზნით, დატაბლეტებულ და ინკაფსულირებულ წამლის ფორმებზე დაიტანება მჟავაგამძლე საფარველი ან დატაბლეტებამდე აწარმოებენ სორბენტზე ბაქტერიების იმობილიზაციას.

წარმოება უნდა ხდებოდეს სათანადო საწარმოო პრაქტიკის პრინციპებით (GMP - for medical products); მეტიც, ევროკავშირის სსპ სახელმძღვანელო, გარდა ზოგადი წესებისა, მოიცავს 14 დანართს, რომელთა შორისაა „ბიოლოგიური სამედიცინო პროდუქციის წარმოება ადამიანებისათვის“. საქართველო ყველა ფარმაცევტული საწარმოსათვის ისე, როგორც ევროპის რეგიონის ქვეყნებისათვის, ამ ნორმების დაცვა რეკომენდებულია ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის მიერ, თუმცა კანონმდებლობა ამას ვერ ეხმაურება.

პრობიოტიკები წარმოების ტექნოლოგიური პროცესის საერთო სქემა ასეთია:

- საწარმოო სათავსოების აღჭურვა, დანადგარების, ჭურჭლის, სავენტილაციო სისტემების მოწესრიგება; პერსონალის კვალიფიკაციის ამაღლება ხდება ისე, როგორც სსპ-ს სტერილური სამკურნალწამლო ფორმების წარმოება ითვალისწინებს;
- ნიადაგების მომზადება და სტერილიზაცია. წინასწარი სამუშაოები მოიცავს: ა) მოცემული კულტურისათვის საჭირო ხარისხიანი ნივთიერებები შერჩევას; ბ) თითოეული ნივთიერების გავლენის შეფასებას მიზნობრივი პროდუქტის გამოსავლიანობაზე; გ) შემადგენელი კომპონენტების ოპტიმალური თანაფარდობის დადგენა და ნიადაგის გაიაფება;
- სადედე (6 პასაჟამდე) და საწარმოო კულტურების გამოზრდა. ჯერ სხვადასხვა საკვები ნიადაგების გამოყენებით სადედე კულტურას გამოზრდიან სპეციალური შტამიდან 37 ^{0} C ტემპერატურაზე. საწარმოო კულტურას ზრდიან სიღრმული კულტივირების მეთოდის გამოყენებით ბოქსში ჩაყენებულ რეაქტორებში. რეაქტორი აღჭურვილია მაგნიტური სარეველით და ორთქლის პერანგით.
- თხევადი ნახევარფაბრიკატის ჩამოსხმა ფლაკონებში. მიკრობული სუსპენზიის ამპულებსა და ფლაკონებში ჩამოსხმას აწარმოებენ ამპულების ჩამოსხმისა და მირჩილვის აპარატებზე. შევსებული ამპულები და ფლაკონები გადაინაცვლებს სუბლიმაციის ჩასატარებელ მოწყობილობაზე.
- სუბლიმაციური შრობა. ამპულებს ჩააწყობენ გამყინვარების საკანში 75^{0} კუთხით. ამპულების შიგთავსს - 40 ^{0} C -ზე გაყინავენ; დააყოვნებენ ამავე ტემპერატურაზე 18-24 სთ. ამ დროს ხდება სუბლიმაცია;
- შეფუთვა. ამპულებს მშრალი მიკრობული მასით მიარჩილავენ, ხოლო ფლაკონებს დაუცავენ თავს; მათ აქვთ აიროვანი დაცვა.

- ნიშანდება (მარკირება). ამპულებს უკეთებენ წარწერებს და აწყობენ შესაფუთ მასალაში 10-10 ცალს.
- აწარმოებენ მზა წამლის ფორმის ხარისხის კონტროლს (კონტროლი მიმდინარეობს წარმოების ყველა სტადიაზე და ოპერაციისას - სსპ მიხედვით).

ნორმოფლორის პრეპარატების კერძო ტექნოლოგია

ლაქტობაქტერინი. ლაქტობაქტერინის წარმოებისათვის გამოიყენება ლაქტობაქტერიების შტამი Lactobacillus plantarum, რომელიც Lactobacilococcus-ის გვარს მიეკუთვნება. ლაქტობაქტერინი წარმოადგენს სიგრძით 0,7-3 მკმ გრამდადებით ჩხირებს. იზრდებიან CO_2 -ის, N_2 -ისა და O_2- ის ატმოსფეროში.

მშრალი ლაქტობაქტერინი Lactobacterinum siccum მიიღება ბაქტერიული პრეპარატების წარმოების საერთო სქემით.

1. საკვები ნიადაგების მომზადება და სტერილიზაცია

1.1. ჰიდროლიზებული რძის მომზადება: გადადუღებულ, გაუცხიმოვნებულ რძეს (pH 7,7±0,1), უმატებენ პანკრეატინსა და ქლოროფორმს; აყოვნებენ 40 ±2 ^{0} C -ზე 72 სთ, შემდეგ ფილტრავენ, ორჯერ განაზავებენ საინექციო წყლით, ჩამოასხამენ შუშებში და ასტერილებენ.

1.2. საფუვრის ავტოლიზატის მომზადება - პურის საფუარს შუშაში აზავებენ საინექციო წყლით და ასტერილებენ.

1.3. ნიადაგის მომზადება: ჰიდროლიზებულ რძეს უმატებენ საფუვრის ავტოლიზატს და აწონილ შემდეგ ნივთიერებებს: კალიუმის პერმანგანატს, მაგნიუმის სულფატს, ამონიუმის ციტრატს, გლუკოზას და სხვ.

1.4. კაზეინის ჰიდროლიზატის მომზადება: რეაქტორში ამზადებენ კაზეინის ხსნარს, დაადგენენ pH-ის აუცილებელ მნიშვნელობას, უმატებენ ქლოროფორმს, აყოვნებენ 5 დღე-ღამით 45^{0}C-ზე, ჩაფილტრავენ ბოთლებში და ასტერილებენ.

1.5. კაზეინ-საფუვრიანი ნიადაგის მომზადება.

1.6. გამოშრობის დამცავი ნიადაგის მომზადება (ჟელატინი, საქაროზა, რძე, ლიმონმჟავა ნატრიუმი და წყალი.

2. სადედე კულტურის მიღება

სინჯარებში, პეტრის ფინჯნებზე, ფლაკონებსა და ბოთლებში 9 დღე-ღამის განმავლობაში იღებენ 6 პასაჟს.

3. საწარმოო კულტურის გამოზრდა

რეაქტორში ათავსებენ თხევად საკვებ ნიადაგს და 8-12 სთ განმავლობაში 37 ^{0} C-ზე ახდენენ კულტურის გამოზრდას. 1 მლ მიკრობულ სუსპენზიაში უნდა იყოს არანაკლებ 6 მილიარდი მიკრობის ცოცხალი უჯრედი; მიღებულ მიკრობულ სუსპენზიას უმატებენ გამოშრობის დამცავ ნიადაგებს - საქაროზულ-ჟელატინიან ან რევერსირებულ რძეს.

4. ლაქტობაქტერინის ჩამოსხმა ამპულებში

დოზა დამოკიდებულია ცოცხალი მიკრობული უჯრედების კონცენტრაციაზე.

5. ლიოფილიზაცია - სუბლიმაციური შრობა:

5.1. 75^0 - იანი კუთხით დახრილ ლაქტობაქტერიებიან ამპულებს ყინავენ მინუს 40 ^{0} C-ზე 18-24 სთ განმავლობაში.

5.2. ლიოფილიზაცია (სუბლიმაცია) - შრობა ღრმა ვაკუუმის პირობებში, სუბლიმაციის ხანგრძლივობა 68-70 სთ.

6. ამპულების მირჩილვა

აზოტის ატმოსფეროში - აიროვანი დაცვის რეჟიმში.

7. ხარისხის კონტროლი

აღწერა: მოყვითალო-მოთეთრო ფერის კრისტალური ან ფოროვანი მასაა, მჟავე რძის სუნითა და გემოთი. განსაზღვრავენ ორგანოლეპტურად.

იგივეობა განისაზღვრება ლაქტობაცილების საწარმოო შტამებში დამახასიათებელი მორფოლოგიური, კულტურალური და ბიოქიმიური თვისებებით.

გახსნილი პრეპარატის *მჟავიანობის* მაჩვენებელი უნდა იყოს pH 5,5 ±0,5.

ამპულირებული ლაქტობაქტერინის *ნარჩენი ტენიანობა* არ უნდა აღემატებოდეს 3,5%-ს, ხოლო ტაბლეტებისა - 5%-ს.

ხსნადობა. მშრალი პრეპარატი წყალში უნდა იხსნებოდეს. ანგარიშით 1 დოზა - 1 მლ-ში, 5 წთ განმავლობაში უნდა წარმოშობდეს ჰომოგენურ შეწონილს (სუსპენზიას), რომელიც მოყვითალო-კრემისფერია. საზღვრავენ ვიზუალურად.

ბაქტერიული კონტამინაცია განისაზღვრება ბაქტერიოსკოპულად და ბაქტერიოლოგიურად.

ბაქტერიოსკოპია გულისხმობს გახსნილი პრეპარატისა და გრამით შეღებილი ნაცხების დათვალიერებას. ნაცხებში უნდა იყოს მხოლოდ გრამდადებითი - ლაქტობაქტერიებისათვის დამახასიათებელი უჯრედები.

ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა გულისხმობს, პრეპარატის საკვებ ნიადაგზე დათესვას და 2 დღე-ღამის განმავლობაში ინკუბაციას, რის შედეგადაც არ უნდა განვითარდეს კოლონიები. თუ ერთ სინჯარაში ან ფინჯანში მაინც დაიწყო ზრდა, ახდენენ გაორმაგებული ნიმუშების დათესვას.

თუ მეორე დათესვის შემდეგაც განვითარდა კოლონიები, პრეპარატის სერიას დაიწუნებენ. მშრალი პრეპარატი არ უნდა იყოს კონტამინირებული გარეშე მიკროფლორით. პრეპარატი ტაბლეტებში არ უნდა შეიცავდეს პათოგენურ და პირობით-პათოგენურ მიკროორგანიზმებს, დასაშვებია მიკრობ-საპროფიტების არსებობა რაოდენობით 300 ერთ ტაბლეტზე.

7.7. *სპეციფიკური უვნებლობა.* პრეპარატი უნდა იყოს უვნებელი თეთრი თაგვებისათვის მისი ერთი დოზის შიგნით შეყვანისას. თაგვებზე დაკვირვება ტარდება 5 დღე-ღამის განმავლობაში. ამ ვადაში თუნდაც ერთი თაგვის დაღუპვის შემდეგ კონტროლს იმეორებენ ცხოველთა ორმაგ რაოდენობაზე. თუ თაგვები არ დაიხოცებიან, პრეპარატი ითვლება კონტროლგავლილად, წინააღმდეგ შემთხვევაში პრეპარატი დაწუნებულია.

7.8. *სპეციფიკური აქტიურობა.* ეს პარამეტრი ისაზღვრება ერთ დოზაში ლაქტობაქტერიების სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდეობით და მჟავაწარმოქმნით.

7.8.1. 1 დოზაში ცოცხალი ბაცილების რაოდენობრივი განსაზღვრა. ამისათვის თითოეული სერიიდან არაუმცირეს 3 ნიმუშს იკვლევენ. ფლაკონის შიგთავსის განზავების შემდეგ მიღებულ სუსპენზიას 4 პეტრის ფინჯანზე დათესავენ - თითოეულზე 0,1 მლ რაოდენობით. 37 ^{0}C-ზე 44 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ გაზრდილ კოლონიებს დაითვლიან და გადაიანგარიშებენ მათ რაოდენობას პრეპარატის ერთ დოზაზე.

7.8.2. მჟავაწარმომქმნელი აქტივობის განსაზღვრას ახდენენ ტიტრომეტრულად ბაქტერიების გამოზრდის შემდეგ ღვიძლის მოდიფიცირებულ ნიადაგზე. თითოეულ სინჯს ტიტრავენ ნატრიუმის ტუტის 0,1 მოლი/ლ ხსნარით ფენოლფტალეინის თანაობისას, სანამ არ წარმოიშობა სუსტი ვარდისფერი შეფერადება. პრეპარატის ერთ დოზაში (1 ტაბლეტში) უნდა იყოს 2 x 10^{9} ცოცხალი ლაქტობაქტერია. მჟავაწარმომშობი აქტივობის მაჩვენებელი ტერნერის გრადუსებში გამოსახული უნდა იყოს არაუმცირეს 200.

7.9. გამოშრობის არის სტაბილიზატორებისა და პრეპარატის შემადგენლობაში შემავალი სხვა ნივთიერებების განსაზღვრა.

8. ნიშანდება და შეფუთვა

ლაქტობაქტერინის ტაბლეტების წარმოებისას მიკრობულ სუსპენზიას აშრობენ კასეტებში. მშრალ მიკრობულ მასას (**მმმ**) ჩასრესენ აზოტიან ბოთლში მეტალის საცერში. სატაბლეტო მასას ამზადებენ ბურთულებიან წისქვილში უმატებენ-რა მმმ-ს დამხმარე ნივთიერებებს - ლაქტოზას, აეროსილს, კალციუმის სტეარატს. სატაბლეტო მასაში განსაზღვრავენ ცოცხალი ლაქტობაქტერიების რაოდენობას და გამოითვლიან ტაბლეტების მასას. დატაბლეტება ხდება პირდაპირი დაწნეხვის მეთოდით ასეპტიკურ პირობებში ჰაერის ტენიანობის მკაცრი კონტროლის ქვეშ (არაუმეტეს 50% 18 ^{0} C-ზე). ამის შემდეგ ტაბლეტები გადაეცემა დასაფასოებლად. დაფასოება ხდება ფლაკონებში. პრეპარატი უნდა იმყოფებოდეს ვაკუუმში, აზოტის ან სტერილური ჰაერის ატმოსფეროში. ბაქტერიული პრეპარატების დასაცავად კუჭის აგრესიული მჟავე არისაგან, ტაბლეტზე დაიტანება აციდორეზისტენტული საფარველი, ან მოხდება

ინკაფსულირება, სხვა მეთოდია - სორბენტზე ბაქტერიების იმობილიზაცია და შემდეგ წამლის ფორმაში მოქცევა. არის პრობიოტიკების მიკროკაფსულირებული ფორმების შექმნის მცდელობაც.

ლაქტობაქტერინის ამპულებისა და ტაბლეტების წარმოების პროცესის ხანგრძლივობაა 42-დან 66 დღე-ღამემდე.

პრეპარატი ინახება მშრალ, ბნელ ადგილას 5±3 ^{0}C ტემპერატურაზე.

ვარგისია 12 და 6 თვის განმავლობაში. შენახვის ვადაა 12 თვე, თუ 1 დოზაში შედიოდა 4 მილიარდი და მეტი ცოცხალი ლაქტობაქტერია; შენახვის ვადაა 6 თვე, თუ ბაქტერიების შესაბამისი რაოდენობაა - 2-დან 3,9 მილიარდამდე. ვარგისობის ვადის ბოლოს ბაქტერიათა რიცხვი 1 მილიარდი მაინც უნდა იყოს.

10.4. ნორმოფლორის პრეპარატების ნომენკლატურა

უკანასკნელ წლებში პრობიოტიკების რაოდენობა სწრაფად იზრდება ერთის მხრივ, ძველი პრეპარატების მოდერნიზაციისა და თვისებების გაუმჯობესების გზით მათ შორის მრავალკომპონენტიანი პრეპარატებისა, მეორეს მხრივ ახალი შტამებისა და სხვადასხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების ხარჯზე. ამის გამო შესაძლებელი გახდა პრობიოტიკების კლასიფიკაცია ჯგუფებად და ქვეჯგუფებად:

- *მონოკომპონენტიანი.* აქ შედის: ბიფიდოშემცველი (ბიფიდუმბაქტერინი, რომელიც B. breve-ს შტამისაგან შედგება, ბიფიდინი, რომელიც B. adolescentis M-42 შტამისაგან შედგება), ლაქტოშემცველი ბაქტერიები (ბიობაქტონი, რომელიც აციდოფილური ლაქტობაქტერიებისაგან შედგება), აგრეთვე რიგი bacillus-ის (სპორობაქტერიები) აპათოგენური წარმომადგენლების პრეპარატები.
- *პოლიკომპონენტური.* ბიფილონგი, აცილაკი, აციპოლი, ბიოსპორინი, ლინექსი - 3-კომპონენტიანი პრეპარატია აციდოფილური ლაქტობაქტერიების, ბიფიდობაქტერიები ინფანტის და ფეკალის სტრეპტოკოკის შემცველობით. ბიფილაკი, ბიფიკოლი, ბიფიფორმი, ბიფილონგი, აცეპოლი, აცელაკი, ლინექსი.
- *კომბინირებული.* ბიფიდუმბაქტერინი-ფორტე, კიპაციდი - ლაქტობაქტერიები და კომპლექსური იმუნოგლობულინი, ბიფილიზი - პრეპარატი ლიზოციმით, ბიოფლორი-სითხოვანი - სოიოს გამონაწვლილით, ბოსტნეულითა და ფუტკრის დინდგელით.
- *სორბენტზე იმობილიზებული ბაქტერიები.* ასეთი პრეპარატია ბიფიდუმბაქტერინი-ფორტე.
- ბიფიდო- და ლაქტოშემცველი საკვები პროდუქტები - ბიფილაქტი, ბიფიდოკი და სხვ.

ბაქტისუბტილი Bactisubtile - კუჭის წვენის ზემოქმედების მიმართ მდგრადი და ნაწლავში განვითარებული ბაქტერიული სპორების საფუძველზე შექმნილი პრეპარატია. ბაქტერიების ვეგეტატიური ფორმები გამოათავისუფლებენ ენზიმებს, რომლებიც გახლეჩენ ნახშირწყლებს, ცხიმებს, ცილებს; შედეგად წარმოიშობა ლპობის პროცესის დამთრგუნავი მჟავე არე. პრეპარატი აწესრიგებს ნაწლავში B და P ვიტამინების სინთეზს. გამოშვებულია კაფსულებში.

ბიფიდუმბაქტერინი ფხვნილის სახით - Bifidum bacterium in pulveris, ცოცხალი ანტაგონისტური აქტიური Bifidumbacterium bifidum-ის შტამების მიკრობულ მასას. აქვს ანტიბაქტერიული აქტივობა პათოგენური და პირობით-პათოგენური მიკროორგანიზმების ფართო სპექტრის მიმართ, აღადგენს ნაწლავის მიკროფლორას, აწესრიგებს კნტ (კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის) მოქმედებას, აქვს იმუნომარეგულირებელი თვისებები. ინიშნება დისბაქტერიოზისას ბავშვებსა და მოზრდილებში. გამოშვებულია ტაბლეტებში, ფლაკონებში, პაკეტებში, ამპულებში.

მშრალი ბიფიკოლი - Bificolum siccum, წარმოადგენს Bifidumbacterium bifidum -ისა და E. coli ცოცხალი ანტაგონისტური აქტიური შტამების მიკრობულ მასას. გამოიყენება დისბაქტერიოზის ფონის სხვადასხვა ეტიოლოგიის ქრონიკული კოლიტების სამკურნალოდ ბავშვებსა და მოზრდილებში. გამოშვებულია ფლაკონებსა და ტაბლეტებში.

ბიფილიზი - Bifilys ერთ მლ-ში შეიცავს 5 მილიონ ცოცხალ ბიფიდობაქტერიას, ორგანულ მჟავებს, ადვილადშეთვისებად ცილებს, ლიზოციმს. ჩვენება: ვირუსულ-ბაქტერიული ბუნების ნაწლავის მწვავე დაავადებების დროს.

ბიფილონგი - Bifilong siccum, წარმოადგენს ცოცხალი ანტაგონისტური აქტიური შტამების მიკრობულ მასას ორი შტამისას: Bifidumbacterium bifidum და Bifidumbacterium longum. გამოშვებულია ამპულებსა და ფლაკონებში ლიოფილიზატის სახით. გამოიყენება ნაწლავის მწვავე და ქრონიკული დაავადებების სამკურნალოდ, დისბაქტერიოზის პროფილაქტიკისა და მკურნალობისათვის ბავშვებსა და მოზრდილებში.

ბიოვესტინი ცოცხალი ბიფიდობაქტერიების ეკოლოგიურად სუფთა ემულსიაა. იგი უფრო აქტიურია, ვიდრე მშრალი ბიფიდუმბაქტერინი. ინიშნება დიათეზისა და იმუნოდეფიციტების დროს სიცოცხლის პირველი დღეებიდანვე.

ლაქტობაქტერინი ფხვნილში - Lactobacterinum in pulvis, ცოცხალი ანტაგონისტურად აქტიური - Lactobacterium acidophilus-ის ორი შტამის მშრალი მიკრობული მასაა. გამოშვებულია ამპულებში.

მშრალი აციპოლი - შეიცავს Lactobacterium acidophilus და მაწვნის (კეფირის) სოკოების პოლისაქარიდს. რეკომენდებულია ბავშვთა ცხოვრების პირველივე დღეებიდან და მოზრდილთა პრაქტიკაში ნაწლავში დისბიოტური ცვლილებების კორექციისათვის.

ლინექსი - Linex, შეიცავს Lactobacterium acidophilus, Bifidobacterium bifidum და E. faecalis. ადამიანს უნარჩუნებს ნაწლავის მიკროფლორის ფიზიოლოგიურ წონასწორობას.

მშრალი კოლიბაქტერინი არის E.coli-ის ცოცხალი ბაქტერიების ლიოფილიზებული მიკრობული მასა. გამოიყჰენება ბავშვთა და მოზრდილთა სამკურნალოდ, რომლებიც ქრონიკული კოლიტით არიან დაავადებული. გამოშვებულია ფლაკონებში, ამპულებსა და ტაბლეტებში.

მშრალი სპორობაქტერინი - Bacillus subtilis-ის ცოცხალი ბაქტერიების მიკრობულ მასაა. გამოიყენება რბილი ქსოვილების ქირურგიული ინფექციების, ოსტეომიელიტის, დისბაქტერიოზების დროს. გამოშვებულია ლიოფილიზებული მასის სახით ამპულებში.

ენტეროლი 250 - Enterol-250, გამოიყენება აქტიური კომპონენტის სახით, შეიცავს ლიოფილიზებულ საფუვრის სოკოებს Saccaromyces boulardii, რომელთა მოქმედების მექანიზმი პრინციპულად განსხვავდება სხვა ბაქტერიული პრეპარატების მოქმედების მექანიზმისაგან. Saccaromyces boulardii ინარჩუნებენ თავიანთ აქტივობას ერთობლივი ანტიბიოტიკოთერაპიის დროსაც, რადგან მათ აქვთ ანტიბიოტიკების მიმართ გენეტიკურად განპირობებული გამძლეობა. ისინი არ ახდენენ კნტ კოლონიზირებას. თერაპიის კურსის დასრულების შემდეგ საფუვრის უჯრედები ელიმინირდება ფეკალური მასებით რამდენიმე დღის განმავლობაში. ამრიგად Saccaromyces boulardii მოქმედებს, როგორც ნაწლავის ეკოსისტემის წონასწორობის შემნარჩუნებელი და აღმდგენი „დროებითი " მიკროფლორა.

კონცენტრატი „ნარინე" (სომხეთი)- Lactobacillus acidophilus-ის კულტივირების ნიადაგში ლიოფილიზებული ცოცხალი შტამის მიკრობული მასაა; დამატებული აქვს შაქროვან-ჟელატინოვან-რძიანი დამცავი ნიადაგი. გამოშვებულია კრემისფერი, მჟავე რძის სუნიანი ფხვნილის სახით ფლაკონებსა და პაკეტებში.

პრებიოტიკები

ლაქტულოზა - Lactulose - სინთეზური დისაქარიდია. პრეპარატის მოქმედებით იზრდება ლაქტობაქტერიების რაოდენობა, რასაც მივყავართ მსხვილი ნაწლავის სანათურში მჟავიანობის ამაღლებისაკენ; ამის გარდა, იზრდება ფეკალური მასები მოცულობა და ვლინდება საფაღარათო ეფექტი ნაწლავის კუნთებსა და ლორწოვან გარსზე ზეგავლენის გარეშე. ლაქტულოზა ამცირებს აზოტშემცველი ტოქსიკური ნივთიერებების წარმოშობასა და შეწოვას მსხვილი ნაწლავის პროქსიმალურ განყოფილებაში, არ ამცირებს ვიტამინების აბსორბციას, არ იწვევს შეჩვევას. გამოშვებულია წამლის ფორმების - ლაქტულოზის, გალაქტოზისა და ლაქტოზის შემცველი სიროფების სახით.

კალციუმის პანტოთენატი - უტილიზდება ბიფიდობაქტერიებით და ხელს უწყობს მათი მასის გადიდებას.

პამბა (პარაამინობენზოის მჟავა) ხელს უწყობს ბიფიდო- და ლაქტობაქტერიების, ნაწლავის ჩხირის ზრდას.

ხილაკ-ფორტე - ბაქტერიების მეტაბოლიზმის კონცენტრატია. ხელს უწყობს ნორმოფლორის აღდგენას.

ნორმაზე (ლაქტულოზა) - სინთეზური დისაქარიდია. ამცირებს მსხვილი ნაწლავის pH-ს, ამცირებს ლპობის ბაქტერიების კონცენტრაციას, ასტიმულირებს პერისტალტიკას და ბიფიდობაქტერიების ზრდას.

ლიზოციმი - Lysocim - ცილოვანი ბუნების ფერმენტი მუკოპოლისაქარიდაზაა. პრეპარატს აქვს ბაქტერიოლიზური მოქმედება, შლის მიკრობული უჯრედის პოლისაქარიდებს, თრგუნავს

გრამდადებითი ბაქტერიების ზრდას, აძლიერებს ორგანიზმის არასპეციფიკურ რეაქტიულობას, ავლენს ანთების საწინააღმდეგო და მუკოლიზურ მოქმედებას.

11. მცენარეული წარმოშობის ბიოპრეპარატები

11.1. მცენარეთა იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და ორგანოების კულტურა

მცენარეთა უჯრედების, ქსოვილებისა და ორგანოების კულტურა ეწოდება ასეპტიკურ პირობებში ხელოვნურ საკვებ ნიადაგებზე გამოზრდილ მცენარეთა ნაწილებს, რაც მოიცავს:

- კალუსურ კულტურებს ჟელესებურ მყარ საკვებ ნიადაგზე,
- უჯრედების სუსპენზიურ კულტურებს თხევად საკვებ ნიადაგზე,
- პროტოპლასტების კულტურას,
- მცენარეების იზოლირებულ ორგანოებს.

მცენარეთა იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების კულტივირების პირველი მცდელობა ჩატარებული იქნა XIX საუკუნეში ცნობილი გერმანელი მეცნიერების - გ. გაბერლანდტის, ხ. ფოეხტინგისა და ს. რეჰინგერის მიერ. ისინი ცდილობდნენ საქაროზის ხსნარით გაჟღენთილ ფილტრის ზედაპირზე მოთავსებით გამოეზარდათ in vitro მცენარეული ქსოვილების პატარა ნაჭრები,. მათ იცოდნენ, რომ ცხოველური კულტურის მიღება შეიძლება ბუნებრივი წარმოშობის საკვებ ნიადაგზე (სისხლის პლაზმა, ემბრიონული სითხე) და ამი ანალოგიურად იყენებდნენ-რა მცენარეულ წვენებსა და გამონაწვლილებს, მცენარეთა ფიზიოლოგები ცდილობდნენ გამოეზარდათ უჯრედული მასა, პირველი მცდელობა არც თუ ისე წარმატებული გამოდგა, რადგან ერთმანეთისაგან არსებითად განსხვავებულია მცენარეში და მის იზოლირებულ უჯრედებში საკვები ნივთიერებების ტრანსპორტი და გარდამნები მხოლოდ გასული საუკუნის 20-იანი წლებიდან მეცნიერებმა უარი თქვეს გაურკვეველი შემადგენლობის ბუნებრივი ნიადაგების გამოყენებაზე და დაიწყეს დაბალანსებული სინთეზური ნიადაგების გამოყენება. საფუძვლად გამოიყენეს მთლიანი მცენარის გამოსაზრდელი ნიადაგები.

აღწერილი პერიოდი შეიძლება ჩაითვალოს მცენარეული ქსოვილებისა და უჯრედების კულტურირების მხოლოდ წინაისტორიად. ამ მეთოდის ნამდვილი აღმავლობა დაიწყო ამერიკელი მეცნიერის ფილიო უაიტისა და ფრანგი მეცნიერის როჟე გოტრეს შრომებით. მათ მიერ წარმოებული კვლევებით XX საუკუნის 30-იან წლებში დადგინდა, რომ მცენარეთა იზოლირებული ორგანოები, ქსოვილები და უჯრედები განუსაზღვრელად ხანგრძლივად იზრდება in vitro მათი გადარგვების შედეგად ახალ-ახალ საკვებ ნიადაგებზე განსაკუთრებულ პირობებში. მათი შედეგები დღესაც გამოიყენება.

სამკურნალო მცენარეების უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურა (კულტივირება) მეცნიერების შედარებით ახალი დარგია. პირველად Vinca Rosacea-ს კულტურა უაიტმა 1945 წელს მიიღო. 1947 წელს გოტრეს ლაბორატორიაში მიღებული იქნა Hyoscyamus nigrus- ის ქსოვილოვანი კულტურა და დამტკიცდა მასში შესაბამისი ალკალოიდების გამომუშავების უნარი. XX საუკუნის 50-იანი წლების ბოლოს დამუშავდა თხევად საკვებ ნიადაგში სიღრმული მეთოდით უჯრედებისა და ქსოვილების მასიური გამოზრდის ტექნოლოგია.

დღეს იზოლირებული ქსოვილებისა და უჯრედების კულტურაზე მუშაობენ მსოფლიოს სხვადასხვა კუთხის მეცნიერები - ევროპის, ჩრდილოეთი და სამხრეთი ამერიკის, აზიის (განსაკუთრებით ჩინეთის, ინდოეთის, იაპონიის) და ა. შ.

11.2. მცენარეთა იზოლირებული ქსოვილებისა და უჯრედების კულტივირების თავისებურებები

მცენარეთა იზოლირებული ქსოვილები და უჯრედები საუკეთესოდ იზრდება, როცა არ არსებობს კონკურენცია მიკროორგანიზმებთან. ამისათვის ყველა სამუშაო ტარდება ასეპტიკურ პირობებში. თუ საკვები ნიადაგის შემადგენლობაში შედის თერმოლაბილური ნივთიერებები, მათ ფილტრავენ მემბრანულ მასტერილებელ ფილტრებში და ჩაუმატებენ გასტერილებულ ნიადაგში, როცა ეს უკანასკნელი 30-40^0-მდე გაცივდება.

მცენარის იზოლირებულ ფრაგმენტებს *ექსპლანტები* ეწოდება. საკვებ ნიადაგზე მოთავსებული ექსპლანტები ადვილად სნებოვნდებიან მიკროორგანიზმებით, ამიტომ აუცილებელი მათი გასტერილებაც. მცენარის ნაწილს, საიდანაც უნდა აიღონ ექსპლანტი, წინასწარ რეცხენ გაწმენდილი წყლით რამდენიმეჯერ. შემდეგ მას ასტერილებენ სადეზინფექციო ნივთიერების ხსნარით, რამდენიმეჯერ ავლებენ წყალს და სტერილური სკალპელით აცლიან უჯრედების გარე დაზიანებულ შრეებს. ექსპლანტანტის პატარა ნაჭრებს ათავსებენ ჟელეწარმომშობი კომპონენტის შემცველი საკვები ნიადაგის ზედაპირზე. იზოლირებული მცენარეული ქსოვილის უჯრედებს აქვთ გაყოფის უნარი და იძლევიან ხანგრძლივად მზარდ არადიფერენცირებულ მასას. ამ მასას ბიოტექნოლოგიაში ეწოდება *კალუსი.*

ამჟამად იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების კულტივირებას აწარმოებენ მრავლკომპონენტიან საკვებ ნიადაგებზე, რომელიც მცენარის სახეობაზე დამოკიდებულებით შეიძლება იყოს განსხვავებული შედგენილობის, მაგრამ ყველაში უნდა იყოს მცენარისათვის საჭირო მიკროელემენტები, კალიუმისა და ამონიუმის ნიტრატები. ზოგჯერ დამატებით გამოიყენება ამინომჟავები. აზოტოვანი ნაერთების გარდა აუცილებელია ფოსფორი, გოგირდი, კალციუმი, სულფატები. მიკროელემენტების არასებობა ნიადაგში უკვე პირველივე გადარგვის (პასაჟის) დროს ამცირებს პროდუქციულობას 30-40%-ით, ხოლო მომდევნო პასაჟებში იწვევს ნაზარდის დაღუპვას. კულტურის სახეობიდან გამომდინარე შეიძლება საჭირო გახდეს მცირე რაოდენობის რკინის, ბორის, თუთიის, მანგანუმის, სპილენძის, ალუმინის, ნიკელის, იოდისა და სხვა მიკროელემენტების გამოყენება.

ქსოვილოვანი კულტურის შეუფერხებელი ზრდისათვის აუცილებელია აგრეთვე ნახშირბადის წყაროები, რადგანაც თვით სინათლეზე გამოზრდილი, მწვანე ქსოვილებიც კი არაავტოტროფულია. ნახშირწყალბადოვანი კვების მთავარ წყაროდ გამოიყენება საქაროზა. მისი კონცენტრაცია უნდა იყოს 2-დამ 5%-მდე. იშვიათად გამოიყენება გლუკოზა და სხვა შაქრები.

თუ ნიადაგში არის ყველა საკვები ელემენტი, მაშინ in vitro კულტივირებული ქსოვილების უმრავლესობას აქვს თავიანთი ცხოველმოქმედებისათვის საჭირო ვიტამინების სინთეზის უნარი. თუმცა, კულტურათა უმრავლესობა ახდენს ვიტამინების სინთეზს სუბმინიმალური რაოდენობით, სწორედ ამიტომ განსაკუთრებით B ჯგუფის ვიტამინების დამატება ნიადაგზე ასევე ხელს უწყობს უჯრედების ზრდას. უფრო ხშირად იხმარება B_1, B_2, და B_6 ვიტამინები, აგრეთვე კალციუმის პანტოთენატი, ბიოტინი, ასკორბინის, ნიკოტინისა და ფოლის მჟავები.

საკვებ ნიადაგებში აუცილებლად უნდა შედიოდეს ფიტოჰორმონები, რომლებსაც მიეკუთვნება აუქსინები და ციტოკინინები. პირველნი აწესრიგებენ უჯრედების დაყოფას და მათ დიფერენციაციას, ხოლო მეორენი - პირიქით, იწვევენ უჯრედის დაყოფის ინდუცირებას. ბუნებრივი აუქსინი მცენარეში წარმოდგენილია, ძირითადად, β ინდოლილ-3-ძმარმჟავას სახით, სინთეზური აუქსინები კი, α-ნაფტილ-1-ძმარმჟავათი, 2, 4 დიქლორფენოქსიძმარმჟავათი, ფენილძმარმჟავათი, ფენილერბომჟავათი და სხვ. ბუნებრივი აუქსინებისაგან განსხვავებით ეს ნაერთები შესაბამისი უჯრედშიგა ფერმენტებით არ იშლებიან.

ციტოკინინების სახით საკვებ ნიადაგებში იყენებენ კინეტინს, ზეატინს, 6-ბენზილამინოპურინს და სხვ. ციტოკინინების მოქმედება ვლინდება, უწინარეს ყოვლისა, უჯრედის დაყოფის დაჩქარებაში, რაც განპირობებულია დნმ-ის, რნმ-ის, ცილების სინთეზის დაჩქარებით.

ამ პროცესების მიმდინარეობაზე დიდ ზეგავლენას ახდენენ ფიზიკური ფაქტორები: განათება, სითბო, აერაცია, ჰაერის ტენიანობა. იზოლირებული კულტურების უმრავლესობა გამოიზრდება სიბნელეში. აუცილებლობისას ისინი შეიძლება სინათლეზეც გამოზარდონ. ამ დროს წარმოიშობა ქლოროფილი, მაგრამ ამ დროს კულტურა ამჟღავნებს ფოტოსინთეზის ნაკლებ შესაძლებლობას. სინათლეს ზოგჯერ ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერების სინთეზის აქტივაციისათვის იყენებენ. სინათლის წყაროდ იყენებენ 1000-1500 ლუქსიან ლუმინესცენტურ ნათურებს.

უმრავლესი კულტურისათვის ოპტიმალური ტემპერატურაა 25-27^0 C, ხოლო მათი მორფოგენეზის ინდუქციისათვის საჭიროა უფრო დაბალი ტემპერატურა (18-25^0 C). ჰაერის ტენიანობა უნდა იყოს 60-

70%. აერაცია საჭიროა თხევადი საკვების ნიადაგების გამოყენებისას და დიდი ბიომასის მიღების აუცილებლობისას. სტერილური ჰაერით გამდიდრებას ახდენენ ბარბოტირების (ახუფხუფების) საშუალებით. ლაბორატორიულ პირობებში, როცა კულტურას გამოზრდიან კოლბაში - მცირე რაოდენობით, აერაციას ახდენენ უჯრედული სუსპენზიის ხშირი შერხევით, რისთვისაც იყენებენ სხვადასხვა კონსტრუქციის სარწეველების საშუალებით.

11.3. იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების კულტივირების მეთოდები

კულტივირების მყარფაზოვანი ხერხი. კალუსური კულტურები

ამ მეთოდით კულტივირების დროს გამოიყენება გელწარმომქმნელკომპონენტიანი მყარი საკვები ნიადაგი. უფრო ხშირად ამ კომპონენტის როლს ასრულებს აგარ-აგარი, როგორც მონათესავე ბუნების მცენარეული წარმოშობის სუბსტრატი. ასეთ ნიადაგებს აქვთ მყარი გელის შესახედაობა და კალუსური კულტურები მის ზედაპირზე იმყოფებიან.

კალუსური კულტურების მისაღებად უმაღლესი მცენარეების სხვადასხვა ორგანოთა ქსოვილების მცირე ზომის ფრაგმენტებს ათავსებენ საკვები ნიადაგის ზედაპირზე (სინჯარაში, კოლბაში). ექსპლანტის კულტივირებიდან 4-6 კვირის შემდეგ წარმოიშობა პირველადი კალუსი (არადიფერენცირებული უჯრედების მასა); საჭიროა მისი გამოცალკევება და ახალ საკვებ ნიადაგზე გადატანა. მყარ საკვებ ნიადაგზე გაზრდილ კალუსურ ქსოვილს აქვს ფაშარი ამორფული სტრუქტურა და წარმოდგენილია თხელკედლიანი თეთრი ან მოყვითალო ფერის უჯრედული მასის სახით. კალუსური ქსოვილის ქიმიური შემადგენლობა უმნიშვნელოდ განსხვავდება შესაბამისი ინტაქტური მცენარისაგან.

კულტივირების მყარფაზოვანი მეთოდი უფრო ხშირად გამოიყენება ლაბორატორიულ პირობებში იზოლირებული მცენარეული კულტურების პირველადად მისაღებად, ბან-ის შესაძლო პროდუცირების შესასწავლად, აგრეთვე სათესი მასალის გამოსაზრდელად. 4-6 კვირის მანძილზე ნიადაგი იფიტება, რაც განსაზღვრავს გადათესვის აუცილებლობას.

უმაღლესი მცენარეები სხვადასხვა ფუნქციის მატარებელი მრავალგვარი დიფერენცირებული უჯრედებისაგან შედგებიან: ფოთლის მწვანე ქსოვილების უჯრედები ფოტოსინთეზის გზით წარმოშობენ ორგანულ ნივთიერებებს, ფესვების უჯრედები შთანთქავენ ნიადაგიდან მინერალურ ნივთიერებებს და აწოდებენ მათ მცენარის სხვა ნაწილებს და ა.შ. მაგრამ ყველა დიფერენცირებული უჯრედი წარმოიშვა დედა მცენარის ერთი განაყოფიერებული კვერცხუჯრედიდან - ზიგოტიდან. ეს უჯრედი შეიცავს მცენარის მთელი გენეტიკური ინფორმაციის საფუძველს. მისგან წარმოიშობა ფორმით, სტრუქტურითა და მათში მიმდინარე ქიმიური პროცესებით განსხვავებული სპეციალიზებული ქსოვილები.უჯრედი (ზიგოტა) არის მთელი მცენარის დასაბამი, იგი ტოტიპოტენტური ე.ი. მრავალფუნქციურია. ზიგოტის გარდა ტოტიპოტენტურობა ბუნერივ პორობებში ვლინდება სპეციალიზებულ უჯრედებშიც. ამის მაგალითად შეიძლება დავასახელოთ, კალმით, გადაწვენით, ფოთლით ვეგატატიური გამრავლება და ა.შ. მცენარე ამ თვისებას იყენებს ტრავმების დროსაც. ჭრილობის ზედაპირზე უჯრედების პროლიფერაციის ხარჯზე წარმოებს ნაზარდის - კალუსის წარმოშობა, რაც ხელს უწყობს ჭრილობების შეხორცებას (სიტყვა callus ლათინურია ბებერას, სქელ კანს ნიშნავს).

კალუსის წარმოშობისას in vitro კულტურაში ხდება უჯრედების მოუწესრიგებელი ზრდა და მათი დედიფერენცია, ე.ი. იმ ორგანოს ან ქსოვილისათვის დამახასიათებელი საწყისი ფუნქციის დაკარგვა, რომლისგანაც მიღებული იქნა კალუსი. უჯრედების ფუნქცია პრაქტიკულად ერთმანეთისაგან აღარ განსხვავდება და ისინი არსებობენ მხოლოდ საკვები ნიადაგის ხარჯზე. თუმცა, კულტივირების პირობების შეცვლით შეიძლება გამოვიწვიოთ მეორადი დიფერენციაცია და მივიღოთ მცენარე მთლიანად. მცენარეულ უჯრედებს აქვთ დიდი უპირატესობა ცხოველურ და ადამიანის უჯრედებთან შედარებით. მათ აქვთ უნარი განსაზღვრულ პირობებში და შესაბამის საკვებ ნიადაგზე მოახდინონ მთელი მცენარის **რეგენერაცია**. იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილებიდან ორგანოების - ფესვებისა და კვირტების წარმოქმნაში გადამწყვეტ როლს თამაშობს საკვებ ნიადაგში ფიტოჰორმონების (აუქსინებისა და ციტოკინინების) თანაფარდობა და მათი კონცენტრაცია.

რა დიდი დროით არ უნდა გამოიზარდოს უჯრედების კულტურა იზოლირებულ მდგომარეობაში, მათ სულ ,,ახსოვთ" თავიანთი წარმოშობა: მაგ.: სტაფილოს უჯრედებისაგან გამოიზრდება მთელი მცენარე - სტაფილო, ასევეა სხვა მცენარის შემთხვევებშიც. უმაღლესი მცენარის კულტივირებადი

უჯრედები ესაა უნიკალური უჯრედული პოპულაცია, რომელშიც თითოეული უჯრედი დამოუკიდებელი განვითარების უნარის მქონე ცალკე ორგანიზმის სახითაა წარმოდგენილი. რეგულარული გადარგვის (პასირების) დროს უჯრედების გაყოფისა და ზრდის უნარი შეიძლება შენარჩუნებული იქნეს ძალიან დიდი ხნით. არის ქსოვილები, რომლებიც თავის თავს იმეორებენ in vitro კულტურაში 60-70 წლის მანძილზეც კი.

სიღრმული სუსპენზიური კულტივირება

თხევად საკვებ ნიადაგზე გადასატანად სათესი მასალა უჯრედული სუსპენზიის სახით უნდა იქნეს მიღებული. ამიტომ პირველადი კალუსური ქსოვილს, რომელიც სათეს მასალად გამოიყენება, უნდა იყოს უფრო ფაშარი და ადვილად ფრაგმენტირდებოდეს ცალკეულ უჯრედებად. უჯრედული მასის მსხვილი აგრეგატების გამოცალკევების მიზნით მას გადათესვის წინ ფილტრავენ ნეილონის ან დოლბანდის საცრებში. გადათესვის დროს 100 მლ ნიადაგზე იყენებენ 2-3 გ ახალ კალუსურ ქსოვილს.

ლაბორატორიულ პირობებში თხევად საკვებ ნიადაგებზე ქსოვილების კულტივირების დროს ჩვეულებრივ გამოიყენება 100-500 მლ ტევადობის კოლბები მათში საკვები ნიადაგის მცირე მოცულობებით. ჭურჭლებს უჯრედულ სუსპენზიით ათავსებენ სარწეველაზე სიხშირით 100-120 ბრ/წთ. ამით უზრუნველყოფილია ქსოვილების აერაცია და უჯრედული აგრეგატების მზარდი მასა ცალკეულ ფრაგმენტებად იშლება.

ნდა აღინიშნოს, რომ მცენარეული უჯრედები იზრდეიან და მრავლდებიან გაცილებით ნელა, ვიდრე ცხოველური ან მიკრობული. მათი გაორმაგების დრო 1-3 დღე-ღამეა. ამის გამო, სუსპენზიური კულგივირების დროსაც კი უჯრედების ზრდის სტაციონარული ფაზა, რომლის დროსაც კულტურა აღწევს მშრალი ბიომასის მაქსიმუმს, შეინიშნება მხოლოდ 2-3 კვირის შემდეგ. საკვები ნიადაგის გამოფიტვა და უჯრედების ცხოველმოქმედების პროდუქტების დაგროვება მოითხოვს კულტურალური მასის განახლებას ან კულტურის გადათესვას ახალ საკვებ ნიადაგზე.

სამრეწველო პირობებში გამოიყენება სხვადასხვა კონსტრუქციის ფერმენტატორებში ანუ ბიორეაქტორებში უწყვეტი კულტივირების მეთოდი. მათ აქვთ კონსტრუქციული განსაკუთრებულობები მცენარეული უჯრედის სპეციფიკურობაზე მოსარგებად.

თუ კულტურალურ სისტემაში პერიოდულად ჩავამატებთ ახალ ნიადაგს, უჯრედების დაყოფა გაგრძელდება განუსაზღვრელი დროით. სწორედ ეს მოვლენა დაედო საფუძვლად უწყვეტ კულტივირებას. უწყვეტად ფუნქციონირებადი კულტურალური სისტემები იყოფა გამდინარე და ნახევრადგამდინარე სისტემებად. გამოზრდის ნახევრადგამდინარე მეთოდის დროს სუსპენზიის ნაწილის აღება გარკვეულ ინტერვალებში და დარჩენილის განზავება ახალი ნიადაგით. ასეთი პროცესი შეიძლება რამდენიმე თვე გრძელდებოდეს.

კულტივირების გამდინარე რეჟიმი საშუალებას იძლევა კულტურალურ სისტემას განუწყვეტლივ მიეწოდოს ახალ-ახალი საკვები ნიადაგი. ავტომატიზებული ფერმენტიორები ასეთ რეჟიმში შესაძლებელია რამდენიმე წლითაც კი ფუნქციონირებდნენ.

სიღრმულ სუსპენზიურ კულტივირებას მყარფაზოვან სტატიკურ მეთოდთან შედარებით აქვს მთელი რიგი უპირატესობები:

- ტემპერატურა, არის pH, აერაციის ხარისხი, სარეველას ბრუნვის სიჩქარე და სხვა ძირითადი პარამეტრები ავტომატურად ნარჩუნდება;
- კულტურალურ არეში კვების ძირითადი ელემენტების შესანარჩუნებლად ხდება განუწყვეტელი კონტროლი;
- კულტურალური სისტემა პერიოდულად ივსება ახალი საკვები ნიადაგით;
- კულტურის ინფიცირებისა და დაღუპვის თავიდან ასაცილებლად ხორციელდება განუწყვეტელი მიკრობიოლოგიური კონტროლი;
- ხორციელდება კონტროლი აქტიურად მიმდინარეობს თუ არა უჯრედების ზრდა და დაყოფა;
- ხდება ბად წარმოქმნის კონტროლი.

უნდა აღინიშნოს, რომ ბად-ების მისაღებად გამოიყენება არა მხოლოდ უჯრედული ბიომასა, არამედ კულტურალური ნიადაგიც. ზოგჯერ მიიღება ისეთი შტამები და უჯრედული ხაზები, რომლებიც ბან-ს გამოყოფენ თითქმის მთლიანად კულტურალურ სითხეში, რაც მნიშვნელოვნად ამსუბუქებს ასეთი სპეციფიკური სახის ნედლეულიდან მათი გამოყოფის პროცესს.

პროტოპლასტების კულტურა

პროტოპლასტი არის უგარსო უჯრედი. ასეთ ,,შიშველ“ უჯრედს უნარი აქვს აღიდგინოს ახალი გარსი, გაიყოს, წარმოშვას უჯრედული აგრეგატები, რომელთაგანაც შეიძლება მივიღოთ ახალი თვისებების უჯრედული კულტურა, ახალი მცენარე - **რეგენერანტი**. უჯრედული გარსის უქონლობა აადვილებს გენომის რეკონსტრუირებასთან დაკავშირებული სხვადასხვა გენეტიკური მანიპულაციების ჩატარებას, ასევე პროტოპლასტების შერწყმით მივიღოთ ჰიბრიდული უჯრედების პოპულაციები.

არსებობს უჯრედის გარსის მოშლის ორი ხერხი - მექანიკური და ფერმენტული. უკანასკნელი უჯრედებისათვის ატრავმატულია და უფრო ფართოდ გამოიყენება.

პროტოპლასტების მისაღებად მცენარეული მასალას (მაგალითად,მეზოფილისუჯრედების სუსპენზიას ანდა იზოლირებული უჯრედების კულტურის სუსპენზიას) ამუშავებენ პექტინაზით ადა ცელულაზით ან ფერმენტების უფრო რთულ ნარევებით.მთელი მცენარის უჯრედული სუსპენზიის მისაღებად უმჯობესია გამოვიყენოთ in vitro კულტივირებული სტერილური მცენარის ფოთლები, , რადგანაც ,,შიშველი“ პროტოპლასტების მიღებისას სტერილობის დაცვა აუცილებელია.

უჯრედის კედლების მოშლის შემდეგ პროტოპლასტების სუსპენზიას წმენდენ უჯრედებისა და ქსოვილებისაგან გაფილტვრით , ფერმენტების ნარევს აშორებენ ცენტრიფუგირებით. გაწმენდი მერე პროტოპლასტები რესუსპენდირებენ საკვებ ნიადაგში (კულტურალურ არეში). იზოლირებული პროტოპლასტები ფართოდ გამოიყენება მოდელური სისტემების სახით ფიზიოლოგიურ, ციტოლოგიურ, ფიტოპათოლოგიურ და სხვა ექსპერიმენტებში და აგრეთვე გენური ინჟინერიის მანიპულაციებში.

ამჟამად დამუშავებულია ახალი ჰიბრიდების მიღების მეთოდები სხვადასხვა მცენარის იზოლირეაბული პროტოპლასტების შერწყმის გზით. პროტოპლასტების ზედაპირს აქვს უარყოფითი მუხტი, ამიტომ ორი მათგანის შერწყმისათვის საჭიროა მათი განეიტრალება, რისთვისაც აწარმოებენ პოლიეთილენგლიკოლით მათ დამუშავებას. პროტოპლასტების შერწყმის სიხშირე შეიძლება გავზარდოთ დექსტრანის, პოლივინოლის დამატებით ან ელექტრული ველის გავლენით. შერწყმის შემდეგ ხდება უჯრედის კედლის რეგენერაცია. ეს ხდება დაახლოებით ერთ დღე-ღამეში, რის შემდეგაც უჯრედები იწყებენ დაყოფას. სხვადასხვა დედა-მცენარის პროტოპლასტების შერწყმის შემდეგ წარმოიქმნება ახალი უჯრედები, რომელთაგანაც შეიძლება კალუსის კულტურის საშუალებით აღვადგინოთ ახალი მცენარე დაგეგმილი თვისებებით.

პროტოპლასტების შერწყმით წარმოიშობა ორგვარი უჯრედები:

- ჰომოკარიონები (ჰომოკარიოციდები) - ისინი შეიცავენ ერთი მშობლის უჯრედებს;
- ჰეტეროკარიონები (ჰეტეროკარიოციდები) - ისინი ორივე მშობლის უჯრედებს შეიცავენ.

ჰეტეროკარიონები წარმოადგენენ დიდ ინტერესს; შერწყმის შემდეგ მათ შეარჩევენ მიკროსკოპულად: საწყის პროტოპლასტებს შეღებავენ სხვადასხვა ფერის ფლუორესცენტული საღებავებით. თუ ხდება მწვანე ფოთლის მეზოფილისა და უფერო იზოლირებული უჯრედული კულტურის შერწყმა, მაშინ მიიღება ისეთი ჰეტეროკარიონები, რომლებიც შეიცავენ უქლოროფილო და ქლოროფილშემცველ ზონებს, რაც იძლევა საშუალებას ვაწარმოოთ შერჩევა წინასწარი შეღებვის გარეშე.

მცენარეული გენომების (ბირთვებისა და ციტოპლაზმების) გაერთიანების შედეგად წარმოიშობა გენების ახალი კომბინაციები, რომელთა მიღება პრაქტიკულად შეუძლებელია სელექციის ჩვეულებრივი მეთოდებით. მეთოდი სხვადასხვა სახეობებისა და გვარების შეჯვარების საშუალებას იძლევა და ფართოდ გამოიყენება საკვები, სამკურნალო, დეკორაციული, ტექნიკური მცენარეების ახალი თვისობრიობების შესაქმნელად.

პროტოპლასტების გავლენით მიღებულია პომიდვრისა და კართოფილის ჰიბრიდი ,,ტომოფელი“ ზოგიერთი სამკურნალო მცენარის: ინდური ლემასა და შმაგას ჰიმალაიური სკოპოლიასა და შმაგას, ორი სახეობის ლემას (რომელიც 25%-ზე მეტ ტროპანულ ალკალოიდს შეიცავს, ვიდრე დედა -მცენარე) ჰიბრიდები და ა.შ.

მიკროკლონური გამრავლება (მცენარეთა ორგანოების კულტურა)

ქსოვილებისა და უჯრედების კულტურებმა სათესი მასალის გაჯანსაღებასა და მცენარეთა, მათ შორის სამკურნალო, მასიური გამრავლების საქმეში, ჰპოვა ფართო გამოყენება მემცენარეობაში. ამ მეთოდს უწოდეს ***მიკროკლონური გამრავლება.*** იგი საშუალებას იძლევა ერთი მერისტემიდან მივიღოთ

(რეგენერირება მოვახდინოთ) საკმაოდ დიდი რაოდენობით ახალი მცენარეები, მათ შორის in vitro კულტურაში.

მიკროკლონური გამრავლებისათვის აუცილებელი პირობაამიღებული მცენარეული მასალის იდენტურობა საწყისი, დედა-მცენარის მიმართ. კლონირებული მასალის მაქსიმალური გენეტიკური სტაბილობის უზრუნველყოფის მიზნით საწყისი ექსპლანტის სახით გამოიყენება ახალგაზრდა, სუსტად დიფერენცირებული ქსოვილები, კერძოდ, ახალგაზრდა ღეროების ყლორტები, ფესვების დაბოლოებები, ფოთლის უბის კვირტები, ჩანასახები, ახალგაზრდა ქერქების ნაწილები და სხვა მერისტემატური ქსოვილები. ისინი ვირუსებისაგან თავისუფალი კლონების მიღების საშუალებას იძლევიან. ვირუსების გავრცელება მცენარის სხვადასხვა ნაწილში განსხვავებულია, ხოლო მერსტემა, როგორც წესი, მათგან თავისუფალია.

მთელი მცენარის აღდგენა იზოლირებული კულტურის საშუალებით სხვადასხვა გზებით ხორციელდება.

პირდაპირი რეგენერაცია - ეს არის მცენარის მიღება ,,სინჯარაში“ უშუალოდ წვეროს ყლორტებისაგან, ფოთლის უბის კვირტებისაგან და ა.შ.

ირიბი რეგენერაცია - მთლიანი მცენარის მიღება მერისტემატური ქსოვილებისაგან, მაგრამ კალუსის შუალედური სტადიის გავლით. ორივე შემთხვევაში დიფერენციაცია და ორგანოგენეზი იმართება ფიტოჰორმონებით. სინჯარაში გამოზრდილი მცენარე გადააქვთ გრუნტში.

უნდა აღინიშნოს, რომ ვეგეტაციური გამრავლების ასეთი თავისებური მეთოდი დამყარებულია მცენარეული უჯრედის ტოტიპოტენტურობის თვისებაზე. არსით ეს არის მცენარეთა კლონირება. ცხოველთა კლონირებისაგან განსხვავებით, რომელიც ეს ბოლო ათწლეულია საყოველთაო მსჯელობის საგანია, მცენარეთა მიკროკლონური გამრავლების მეთოდი უკვე 40 წელზე მეტია რაც გამოიყენება. იგი პირველად წარმატებით გამოიყენა ფრანგმა ჟ. მორელმა 1960 წელს ჯადვარის გამრავლების მიზნით. ერთი უვირუსო ექსპლანტიდან მან ერთი წლის მანძილზე მიიღო 4 მილიონი, ვირუსული ინიფექციისაგან განთავისუფლებული, ახალი მცენარე. კლონური მიკროგამრავლების მეთოდი შეიძლება გამოყენებული იქნეს ელიტური და სუპერელიტური სარგავი მასალის წარმოებისათვის.

მიკროკლონური გამრავლების მეთოდის უპირატესობა სხვა კლასიკურ მეთოდებთან შედარებით მდგომარეობს გამრავლების ბევრად მაღალ კოეფიციენტში. თუ ჩვეულებრივი ხერხით კვირტებით, ბოლქვებით, ფესურებით და ა.შ. გამრავლებისას ერთი მცენარიდან შესაძლებელია 2-3-დან 100-მდე მცენარის მიღება წელიწადში, მიკროკლონური გამრავლების მეთოდით მათი რიცხვი რამდენიმე ათასიდან მილიონამდე შეიძლება გაიზარდოს წელიწადში.

დღეისათვის ცნობილია ,,სინჯარაში“ დაახლოებით ათასობით სახეობის მცენარის კლონირების შესაძლებლობა; მათგან 100-მდე სახეობისათვის ამ მეთოდს აქვს კომერციული მნიშვნელობა. მათ შორისაა - დეკორაციული, ხილკენკროვანი, ბოსტნეული, მერქნის მომცემი და ზოგიერთი სამკურნალო მცენარე.

ქსოვილებისა და უჯრედების კულტურის მეთოდი წარმატებით გამოიყენება სამკურნალო მცენარეთა ახალი, მათ შორის, მაღალპროდუქტიული ჯიშების გამოსაყვანად. ახალი ჯიშის მისაღებად კლასიკური მეთოდით გრუნტში საჭირო იყო 10-30 წელი. ქსოვილოვანი კულტურის მეთოდის წყალობით ეს პერიოდი რამდენიმე თვემდეა დაყვანილი იმიტომ, რომ აქ სეზონურობას არავითარი მნიშვნელობა არა აქვს.

11.4. მცენარეული უჯრედის კულტურა - როგორც სამკურნალო ნივთიერებათა წყარო

სამკურნალო მცენარეთა ბუნებრივი მარაგები თანდათან მცირდება, ხოლო ბან-ის სინთეზი ან ვერ ხორციელდება, ან არაა რენტაბელური. ამიტომ უჯრედული კულტურის საფუძველზე ბიომასის მიღების ტექნოლოგია დიდ მნიშვნელობას იძენს სამკურნალო საშუალებების წარმოებაში.

უჯრედული კულტურების გამოყენების უპირატესობა შემდეგშია:

- წყდება საწყისი ნედლეულის დეფიციტის პრობლემა, განსაკუთრებით ძვირფასი, გადაშენებადი სახეობებისა, რომლებიც არ ექვემდებარებიან პლანტაციურ კულტივირებას;
- შესაძლებელია ჰერბიციდებისაგან, პესტიციდებისაგან, მძიმე ლითონებისა და სხვ. სრულიად თავისუფალი ფიტომასის მიღება;

- შესაძლებლობა იქმნება მივიღოთ ახალი სამკურნალო ნივთიერებებიც, რომლებიც არ სინთეზირდებოდა ამ სამკურნალო მცენარეში;
- კულტივირების პირობების, საკვები ნიადაგების შემადგენლობის და სხვა ფაქტორების ცვლილებით შესაძლებელია სამკურნალო პროდუქტების ბიოსინთეზის მართვა;
- არის ზოგიერთი ბან-ის ინდუსტრიალიზაციისა და გაიაფების შესაძლებლობა, რომელთა სინთეზი ჯერ არ დამუშავებულა ან ძალიან ძვირია.

ამასთანავე, იზოლირებული უჯრედული კულტურიდან სამრეწველო მასშტაბით ბან-ის წარმოების განვითარებას აფერხებს რიგი ფაქტორები. იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების ზოგიერთი კულტურები ან არ ახდენენ მთელი მცენარისათვის დამახასიათებელი ბან სინთეზს, ან გამოიმუშავებენ მათ ბევრად მცირე რაოდენობით. მიკროორგანიზმებთან შედარებით მცენარეული უჯრედები იზრდებიან მნიშვნელოვნად ნელა, მათი გაორმაგების დრო საშუალოდ 20-ჯერ მეტია, ვიდრე მიკრობული უჯრედებისა. აღნიშნულის გამო მაღალია ინფიცირებისა და კულტურის დაღუპვის რისკი. ამასთანავე, მცენარეული უჯრედების სუსპენზიური კულტურები შედგება როგორც ერთეული უჯრედებისაგან, ასევე სხვადასხვა ზომის არაიდენტური აგრეგატებისაგან, რაც ართულებს ბან-ის წარმოების პროცესს. ზოგიერთი მცენარეული კულტურების მეორადი მეტაბოლიტები არ გამოიყოფიან საკვებ ნიადაგში, რაც ქმნის სირთულეებს მათ ექსტრაჰირებაში. დიდი ზომების გამო მცენარეული უჯრედები მგრძნობიარენი არიან გადაადგილებისა და ჟანგბადით მომარაგების მიმართ. სამკურნალო საშუალებების წარმოების თვითღირებულება საკმაოდ მაღალია. პროდუქციის სამრეწველო წარმოება მხოლოდ ზოგიერთი ისეთი განსაკუთრებით ძვირფასი ბან-ისათვის არის რენტაბელური, რომელთა ღირებულება მსოფლიო ბაზარზე ძალიან მაღალია, ნედლეული არაა ხელმისაწვდომი, სინთეზი ჯერ არ განხორციელებულა და კულტურის პროდუქტიულობა განსაკუთრებით მაღალია.

ამჟამად მიღებულია სამკურნალო მცენარეთა 30-ზე მეტი სახეობის უჯრედული კულტურა, რომლებიც ბან-ს გამოიმუშავებენ ან შესაბამისი ინტაქტური მცენარის დონეზე ან გაცილებით მეტი რაოდენობით.

ერთ-ერთი ასეთი პროდუქტია, მაგალითად, ,,ბიოჟენშენის“ ნაყენი, რომელიც რმა ფიზიოლოგიის ინსტიტუტის მიერ ლაბორატორიამ შეიმუშავა. იგი გამოიყენება ლოსიონების, კრემებისა და მატონიზირებელი სასმელების მოსამზადებლად. ჟენშენის საპონინების - გინსენოზიდების კომპლექსი, რომელიც ქსოვილოვანი კულტურიდანაა გამოყოფილი, გამოიყენება ანტიეპილეფსიურ საშუალებად.

გველისებრი რაუვოლფიას in vitro კულტივირებული უჯრედები ჰიპოთენზიური და ანტიარითმიული ინდოლური ალკალოიდების პერსპექტიული წყაროა. უჯრედული სელექციის მეთოდებით ქიმიური მუტაგენებისა და გამოზრდის პირობების ოპტიმიზაციით მიღებული იქნა მაღალპროდუქციული შტამი, რომელიც ანტიარითმიულ ალკალოიდს აიმალინს აგროვებს კულტურის მიერ სინთეზირებული მთელი ალკალოიდების ჯამის 50%-მდე.

მიღებულია სხვადასხვა სახეობის კოწახურის, Parva Pratis ruta-ს იზოლირებული უჯრედული კულტურები. ამ უკანასკნელი სუსპენზიური უჯრედული კულტურა წარმოქმნის ბერბერინს - მცენარეულ ანტიბიოტიკს და სიმსივნის საწინააღმდეგო საშუალებას, ამასთანავე სინთეზირებული ალკალოიდების 80%-ზე მეტი სეკრეტირდება კულტურალურ სითხეში.

იაპონიაში ხდება სიმსივნის საწინააღმდეგო ალკალოიდის ბერბერინის წარმოება Coptis Iaponica-ის უჯრედების კულტურიდან, აგრეთვე ნაფტოქინონური პიგმენტის შიკონინის (ფართო სპექტრის ბუნებრივი ანტიბიოტიკის) წარმოება ქვათესლას (Lithospermum arvense) უჯრედული კულტურიდან.

ურთხელის (Taxus, განსაკუთრებით Taxus baccata) სახეობების ქსოვილოვანი კულტურის გამოყენების პერსპექტივა უკავშირდება ტაქსოლის მიღების შესაძლებლობებს. ეს არის ნივთიერება, რომელსაც აქვს სიმსივნის საწინააღმდეგო მოქმედება. ერთი ავადმყოფის მკურნალობისათვის ერთი წლის განმავლობაში საჭიროა მცენარის მშრალი ქერქი - 120-130 გ. ურთხელის ნედლეულის მარაგი თანდათან მცირდება.

აშშ კიბოს ეროვნულმა ინსტიტუტმა გამოყო 1 მლნ დოლარი უჯრედული კულტურიდან ტაქსოლის მისაღებად კვლევების წარმოებისათვის.

გრძელდება გველის სუროს (Vinca rosacea) უჯრედული კულტურების აქტიური კვლევები; იგი გამოიმუშავებს კიბოს საწინააღმდეგო ალკალოიდებს. ვინკრისტინის სუბსტანციის 1 კგ-ის ღირებულება მსოფლიო ბაზარზე აღწევს 30 000 დოლარს, ხოლო ვინბლასტინის 1 კგ-ისა - 20 000-ს.

გერმანიაში შემუშავებულია კალუსის უჯრედული კულტურიდან როზმარინის მჟავას მიღების ხერხი. როზმარინის მჟავას აქვს სიმსივნის საწინააღმდეგო მოქმედება; იგი არის ფართო სპექტრის

ბუნებრივი ანტიბიოტიკი. თამბაქოს უჯრედული კულტურიდან მიღებულია უბიქინონი 10. უბიქინონის საფუძველზე ამზადებენ ინსულტების სამკურნალო და (спайки)შეხორცებების კუპირებისათვის გამოყენებულ პრეპარატს.

თავი 12. ტოქსიკური ნაერთების ბიოდეგრადაცია და ბიომასის უტილიზაცია

სულ ახლახან, არავის არ შეეპარებოდა ეჭვი იმაში, რომ გარემოს - მიწას, ჰაერს, წყალს ყოველთვის შეეძლოთ საყოფაცხოვრებო, სამრეწველო, სასოფლო-სამეურნეო ნარჩენების ეფექტური გადამუშავება. კაცობრიობა შეეჯახა ორ ფუნდამენტურ პრობლემას - ნარჩენების გადამუშავებას, რომლებიც მუდმივად წარმოიქმნება დიდი რაოდენობით და წყალში, ნიადაგსა და ნაგავსაყრელზე დაგროვილი ტოქსიკური ნაერთების დაშლას. ნარჩენებს წვავენ, ამუშავებენ ქიმიკატებით, მაგრამ ეს კიდევ უფრო ამძიმებს გარემოს დაბინძურებას და ამასთანავე არის ძვირი. სხვადასხვა ქვეყნები ამ პრობლემის მოგვარებას კანონმდებლობის დახმარებით ცდილობს, მაგრამ არც ამას მოაქვს დიდი წარმატება. სამეცნიერო-ტექნიკური პროგრესის პირობებში ეკოსფერო განიცდის მძლავრ ანთროპოგენულ ზემოქმედებას, რის შედეგადაც ირღვევა ათასწლეულების განმავლობაში გამეფებული ბუნებრივი ჰარმონია; ეს ძვრები ეკოსისტემაში იწვევენ მცენარისა და ცხოველის ზოგიერთი სახეობის გადაშენებას, მიკროორგანიზმების ახალი სახეობების წარმოშობას, ადამიანის იმუნური რეაქციების დარღვევას.

ამჟამად მიმდინარეობს მრავალი ტექნოლოგიური, ბიოტექნოლოგიური ხერხის გამოცდა, რის შედეგად შესაძლებელი უნდა გახდეს დიდი რაოდენობით ნარჩენებისა და ტოქსიკური ნივთიერების გადამუშავება. მრავალი ქვეყნის მთავრობა მოუწოდებს წარმოებებს, გადასამუშავებელ ნარჩენებში არსებული სასარგებლო ნივთიერებების განმეორებით გამოყენებისაკენ.

ტერმინი „ბიოდეგრადაცია“ გულისხმობს ატმოსფეროს დამაბინძურებელი ნივთიერებების დაშლას ცოცხალი მიკროორგანიზმების საშუალებით. ტერმინი „ბიომასა“ ნიშნავს კვების და სხვა წარმოების გვერდითი პროდუქტების, ნივთიერებებისა და მასალების ერთობლიობას, რომელიც ადრე ითვლებოდა ნარჩენებად, დღეს კი გახდა ნედლეული მრავალი მნიშვნელოვანი პროდუქტის წარმოებისათვის.

გასული საუკუნის 60-იანი წლებიდან ცნობილი გახდა მრავალი მიკროორგანიზმი, რომელთაც აქვთ ქსენობიოტიკების (ჰერბიციდების, პესტიციდების, ქლადაგენტების, ორგანული გამხსნელების და ა.შ.) დეგრადაციის უნარი. ნიადაგის მიკროორგანიზმების ძირითად ჯგუფს , რომლებიც ქსენობიოტიკებს შლიან, შეადგენენ Pseudomonas-ის რიგის ბაქტერიები, რომლის სხვადასხვა შტამებს უნარი აქვთ გახლიჩონ 100-ზე მეტი ორგანული შენაერთი.

რთული ორგანული მოლეკულის ბიოდეგრადაციაში, ჩვეულებრივ, მონაწილეობს რამდენიმე - სხვადასხვა ფერმენტი. ასეთი ენზიმების მაკოდირებელ გენებს შეიძლება ჰქონდეთ ქრომოსომული ლოკალიზაცია, მაგრამ უფრო ხშირად ისინი შედიან რთული პლაზმიდების შემადგენლობაში და ზოგჯერ ლოკალიზდებიან ქრომოსომულ და პლაზმიდურ დნმ-ებში.

არაჰალოგენირებული არომატული შენაერთების დამშლელი ბაქტერიები, როგორც წესი, გარდაქმნიან მათ კატეხოლად ან პროტოკატეხოატად. შემდეგ ჟანგვითი გახლეჩვის რამდენიმე რეაქციის შედეგად, ისინი გადაიქცევიან აცეტილ-კო-A და სუქცინატად; შეიძლება წარმოიშვას პირუვატები, აცეტალდეჰიდი; ამ უკანასკნელების მეტაბოლიზების უნარი შესწევს თითქმის ყველა მიკროორგანიზმს.

ჰალოგენირებული არომატული შენაერთები ძირითადად პესტიციდებისა და ჰერბიციდების უმრავლესობის შემადგენელ ძირითად კომპონენტებს წარმოადგენენ და ამავე ფერმენტების საშუალებითვე იშლებიან კატეხოლად, პროტოკატეხოატად, ჰიდროქინონად, ანდა მათ ჰალოგენირებულ წარმონაქმნებად; ამასთანავე მათი დეგრადაციის სიჩქარე საწყის ნაერთში ჰალოგენის ატომთა რიცხვის უკუპროპორციულია. ჰალოგენის ჩანაცვლებული ატომის ორგანული შენაერთიდან მოწყვეტის პროცესს დეჰალოგენირება ეწოდება. ეს აუცილებელია ნაერთის დეტოქსიკაციისათვის. დეჰალოგენირება ხორციელდება ბენზოლის ბირთვში ჰალოგენის ჰიდროქსილური ჯგუფით ჩანაცვლებით მიმდინარე არასპეციფიკური დიოქსიგენაზური რეაქციის მსვლელობაში.

12.1. გენური ინჟინერიის მეთოდით წარმოქმნილი ქსენობიოტიკების დეგრადაციის მეტაბოლური გზები

რიგ მიკროორგანიზმებს აქვთ სხვადასხვა ქსენობიოტიკის დეგრადაციის ბუნებრივი შესაძლებლობები, თუმცა:

- არც ერთ მათგანს არ ძალუძს ყველა ორგანული შენაერთის დაშლა;
- ზოგიერთი ორგანული ნაერთი მაღალი კონცენტრაციით თრგუნავს მათი დამშლელი მიკროორგანიზმების ზრდა-განვითარებას;
- დაბინძურების კერათა უმრავლესობა შეიცავს ქიმიკატების ნარევს; მიკროორგანიზმი, რომელსაც აქვს ამ ნარევის ერთი ან რამდენიმე კომპონენტის დეგრადაციის უნარი, შეიძლება თვითონ ინაქტივირდეს სხვა კომპონენტებით;
- მრავალი არაპოლარული ნაერთი ადსორბირდება ნიადაგის ნაწილაკებით და ნაკლებად ხდება მისაწვდომი;
- ორგანული ნაერთების ბიოდეგრადაცია საკმაოდ ნელა მიმდინარეობს.

ამ პრობლემათა ნაწილს წყვეტს ერთ რეციპიენტულ შტამში პლაზმიდების კონიუგირებული გადატანა. თუ ორი პლაზმიდა შეიცავს ჰომოლოგიურ მონაკვეთებს, მათ შორის ხდება რეკომბინაცია და წარმოიშობა ჰიბრიდული პლაზმიდა, რომელიც დიდი ზომისაა და თვისებებით ჰგავს საწყის პლაზმიდებს. თუ ორი პლაზმიდა არ შეიცავს ჰომოლოგიურ მონაკვეთებს და შეუთავსებლობის სხვადასხვა ჯგუფებს მიეკუთვნებიან, შესაძლებელია მათი თანაარსებობა ერთსა და იმავე ბაქტერიაში.

გასული საუკუნის 70-იან წლებში შეიქმნა ფართო კატაბოლური შესაძლებლობების პირველი ბაქტერიული შტამი. მან ნავთობის ნახშირწყლების უმეტესობა დაშალა და წოდებულია სუპერბაცილად. იგი მიიღეს პლაზმიდებისაგან, რომელთა შორის თითოეული კოდირებდა ნახშირწყალბადების განსაზღვრული კლასის დამშლელ ფერმენტს. ეს ფაქტი აღწერილია ნაშრომში „მოლეკულური ბიოტექნოლოგია“ (Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология/ Б. Глик, Дж. Пастернак - М., Мир, 2002. - 589 с.). სურათის ქსეროასლი, თუ გადავწყვიტე. სუპერბაცილის აღმომჩენმა მიიღო აშშ პატენტი, რომელიც აღწერს შტამის სტრუქტურას და მისი გამოყენების შესაძლებლობებს. ეს იყო გენეტიკურად მოდიფიცირებული მიკროორგანიზმის შექმნის პირველი პატენტი.

ქსენობიოტიკების დამშლელი ბაქტერიების უმრავლესობა მეზოფილებია. დაბინძურებული მდინარეებისა და ტბების წყალი ხასიათდება ტემპერატურის ქვედა დიაპაზონით, ამიტომ შექმნილი იქნა ბაქტერია, რომელსაც აქვს უფრო ფართო კატაბოლური შესაძლებლობები და უნარი აქვს გაიზარდოს და განვითარდეს უფრო დაბალ ტემპერატურაზე *(ტოლ. პლაზმიდა)*. ამ მიზნით პლაზმიდა, რომელიც ახდენს ტოლუოლის დაშლის დეტერმინაციას, კონიუგაციის მეთოდით გადაიტანეს Pseudomonas putida-ს ფსიქროფილურ შტამში; ეს უკანასკნელი ახდენს სალიცილატების უტილიზაციას 0 ^{0} C. ტრანსფორმირებული შტამი შეიცავდა მასში შეყვანილ *ტოლ. პლაზმიდას* და საკუთარ *სალ. პლაზმიდას*, რომელიც ახდენს 0 ^{0} C -ზე სალიცილატისა და ტოლუოლის დეტერმინაციას იყენებს-რა მათ როგორც ნახშირბადის წყაროს. არატრანსფორმირებული სახის ფსიქროფილურ შტამს არ შეეძლო განვითარება ნებისმიერ ტემპერატურაზე, თუ ნახშირბადის ერთადერთი წყარო ტოლუოლი იქნებოდა. ამ სამუშაომ დაამტკიცა ბაქტერიების ფსიქროფილური შტამების შექმნის პრინციპული შესაძლებლობა, რომლებიც ეფექტურად დაშლიდნენ ქსენობიოტიკებს ბუნებრივ პირობებში.

ერთ მიკროორგანიზმში სხვადასხვა მეტაბოლური გზების გაერთიანება კონიუგაციის საშუალებით არის მხოლოდ ახალთვისებიანი ბაქტერიის შექმნის ერთ-ერთი გზა. შეიძლება გაფართოვდეს მათი კატაბოლური შესაძლებლობებიც.

ტრიქლორეთილენი არის ნიადაგისა და ჰაერის დამაბინძურებელი ერთ-ერთი ყველაზე ფართოდ გავრცელებული ნივთიერება. იგი გამოიყენება როგორც გამხსნელი და გამაუწყლოებელი საშუალება. ტრიქლორეთილენი ხანგრძლივად რჩება გარემოში, ითვლება კანცეროგენად, უფრო მეტიც, ნიადაგის ანაერობული ბაქტერიები ახდენენ მის დეჰალოგენირებას და გარდაქმნიან მას კიდევ უფრო ტოქსიკურ შენაერთად - ვინილ ქლორიდად.

ისეთი არომატული ნაერთის, როგორიც ტოლუოლია, დამშლელი Pseudomonas putida-ს ზოგიერთი შტამები - შლიან ტრიქლორეთილენსაც. გენეტიკური გამოკვლევებით დადგენილია, რომ ტრიქლორეთილენის სრული დეტოქსიკაციისათვის არაა აუცილებელი ქსილოლისა და ტოლუოლის დახლეჩვის ყველა ფერმენტი; საკმარისია მხოლოდ ტოლუოლდიოქსიგენაზა, რომელიც ნორმალურ

პირობებში ახდენს ტოლუოლის დაჟანგვის კატალიზებას ცის-ტოლუოლდიჰიდროდიოლად. ფუნქციური ტოლუოლდიოქსიგენაზის წარმოშობა ოთხი გენით კოდირდება. ისინი გამოყვეს და მოახდინეს მათი ექსპრესია E. coli -ში ძლიერი პრომოტორის კონტროლის ქვეშ. ამ უკანასკნელის გააქტივება ხდება იზოპროპილ-ბეტა-დე-თიოგალაქტო-პირანოზიდით. შედეგად, ტრიქლორეთილენი იშლება უვნებელ ნაერთად. ტრიქლორეთილენის დეგრადაციის საწყისი სიჩქარე E. coli -ში უფრო მცირეა, ვიდრე Pseudomonas putida, მაგრამ იგი უფრო დიდხანს ნარჩუნდება E. coli -ში.

12.2. სახამებლისა და შაქრების უტილიზაცია

სახამებელი მცენარის ძირითადი სამარაგო პოლისაქარიდია; იგი შედგება D-გლუკოზის როგორც ხაზოვანი (ამილოზა), ისე განშტოებული (ამილოპექტინი) პოლიმერებისაგან. სახამებელი ფართოდ გამოიყენება კვების მრეწველობაში, ლუდსახარშებში, რისთვისაც წინასწარ ახდენენ მის ჰიდროლიზს დაბალმოლეკულურ კომპონენტებად და ამის შემდეგ გარდაქმნიან სხვა ნაერთებად - ფრუქტოზად, ეთანოლად. ამ დროს ძირითადი ფერმენტებია ალფა-ამილაზა, გლუკოამილაზა, გლუკოზოიზომერაზა, რომელთა ღირებულება ამჟამად მრეწველობაში გამოყენებული ფერმენტების ღირებულების 30%-ია. სახამებლიდან ფრუქტოზისა და ეთანოლის სამრეწველო წარმოება მრავალეტაპიანი პროცესია, რომლებიც მოიცავს ფერმენტაციისა და არაფერმენტაციულ სტადიებს:

1. გაცეხვილი (დაფშვნილი) ხორბლის მარცვლის დაჟელატინება (მარცვალში სახამებლის შემცველობა დაახლ. 40%-ია) წარმოებს ნაჯერი ორთქლით, რის შედეგადაც იშლება სახამებლის მარცვლები და იგი ხდება ხელმისაწვდომი მომდევნო ჰიდროლიზისათვის. მიღებულ პროდუქტს ჟელეს მსგავსი კონსისტენცია აქვს.
2. დაჟელატინებული სახამებლის გათხევადება ხორციელდება 50-60 ^{0} C-მდე გაცივებით და ალფა-ამილაზის დამატებით. ამ დროს ჰიდროლიზდება ალფა 1,4-კავშირები დაბალმოლეკულური პოლისაქარიდების წარმოშობამდე. მაღალი ტემპერატურა ხელს უწყობს ფერმენტის შეღწევას დაჟელატინებულ სახამებელში და ზრდის ჰიდროლიზის სიჩქარეს.
3. დაშაქრება (სრული ჰიდროლიზი) - როგორც ხაზოვანი, ასე განშტოებული დაბალმოლეკულური პოლისაქარიდებისა მიმდინარეობს ფერმენტის გლუკოამილაზის ზემოქმედებით.

ამგვარი გადამუშავების საბოლოო პროდუქტია გლუკოზა, რომლისგანაც საფუვრით ფერმენტაციით მიიღება ეთანოლი ანდა, გლუკოზოიზომერაზის მონაწილეობით - ფრუქტოზა. ალფა-ამილაზა შეიძლება გამოიყოს მრავალი მიკროორგანიზმიდან, სამრეწველო მიზნით კი იგი მიიღება Bacillus amiloliquefaciens-ისაგან, გლუკოამილაზას სინთეზს აგრეთვე აწარმოებს მრავალი მიკროორგანიზმი, მაგრამ იგი ჩვეულებრივ მიიღება სოკო Aspergillus niger-ისაგან.

გაცეხვილი ხორბლისაგან ეთანოლისა და ფრუქტოზის წარმოების ღირებულება იმ ფერმენტების ღირებულებით განისაზღვრება, რომლებიც ერთჯერადად გამოიყენება. ამიტომ ამ ფერმენტების იაფი, ფართომასშტაბური წარმოება მნიშვნელოვნად შეამცირებდა საბოლოო პროდუქტის ღირებულებას. ამ მიზნით გამოიყენება:

- α-ამილაზის სახესხვაობები (რაც გვხვდება ბუნებაში ან შექმნილია გენური ინჟინერიის გზით), რომელთაც აქვთ მაღალი აქტიურობა და საშუალებას იძლევიან 80-90 ^{0} C-ზე ვაწარმოოთ გათხევადება. ეს კი აჩქარებს დაჟელევებული სახამებლის ჰიდროლიზს, ზოგავს იმ ენერგიას, რომელიც იხარჯება ჰიდროლიზის ტემპერატურამდე გაცივებისათვის;
- α-ამილაზისა და გლუკოამილაზის მოდიფიცირებული გენები, რომ მათ მიერ კონტროლირებულ ფერმენტებს ჰქონდეთ ტემპერატურისა და pH-ის ერთნაირი ოპტიმუმები, რათა შეთავსებულ იქნას გათხევადებისა და დაშაქრების ეტაპები;
- კლონირებული ბაქტერიული გენები, რომლებიც კოდირებენ თერმოსტაბილურ, მაღალი კატალიზური აქტივობისა და ეთანოლის ზემოქმედების მიმართ მდგრად ფერმენტებს.

ეთანოლის სამრეწველო წარმოებაში სუბსტრატის დუღილი (ფუება) ძირითადად ხორციელდება Saccharomyces cerevisiae-ის საშუალებით, მაგრამ მეტად რაციონალურია Zymomonas mobilis-ის - გრამუარყოფითი ჩხირის, გამოყენება, რომელიც ხელს უწყობს გლუკოზის, ფრუქტოზის, საქაროზის დუღილს ეთანოლის მნიშვნელოვნად მეტი გამოსავალით.

Zymomonas mobilis-ის მიერ უტილიზებული სუბსტრატების სპექტრის გადიდებისათვის გამოყოფილი და Zymomonas mobilis-ში ჩანერგილი იქნა უცხო გენები (ლაქტოზის, სახამებლის,

ცელულოზის, ქსილოზის, ცელობიოზის, პეპტოზის ჰიდროლიზის ფერმენტების), კერძოდ ქსილოზის უტილიზაციისათვის საჭირო ფერმენტების გლუკოზო-ქსილოზოიზომერაზებისა და ქსილოკინაზების გენები. შემდეგ ეტაპზე აწარმოეს Zymomonas mobilis-ში იმპლანტირება პლაზმიდისა, რომელმაც შემოიტანა ორი ოპერონი; ერთ-ერთმა მათგანმა მოახდინა პეპტოზის მეტაბოლიზებისთვის საჭირო. ორი ფერმენტის კოდირება. შემდეგ ეს ორი ოპერონი ჩადგეს E. coli - Z. mobilis მაქოურ (მაქოს) ვექტორში, რომლებმაც მოახდინეს Z. mobilis ტრანსფორმირება. ტრანსფორმირებულმა უჯრედებმა მოახდინეს ქსილოზის უტილიზება და პენტოზების ეთანოლად გარდაქმნა. ამ დროს პროდუცენტები ეფექტურად იზრდებოდნენ, როცა ნახშირბადის წყაროდ იყენებდნენ ხისდამმუშავებელი და ცელულოზა-ქაღალდის მრეწველობის გვერდით პროდუქტებს.

მცენარეული მასალის გადამუშავებისას წარმოიქმნება დიდი რაოდენობით ლიგნოცელულოზის ნარჩენები, მათი წლიური რაოდენობა ძალიან დიდია, ამიტომ მიმდინარეობს ინტენსიური მუშაობა მათი ფერმენტული გახლეჩვის ხერხების დასახვეწად. ცელულოლიტური მიკროორგანიზმების ზემოქმედებას ეს ნარჩენები მხოლოდ მაშინ ექვემდებარებიან, თუ მათ წინასწარ დაამუშავებენ ძლიერი ტუტით ან მჟავათი, ან მაღალი ტემპერატურით წნევის ქვეშ, რაც არსებით ზეგავლენას ახდენს საბოლოო პროდუქტის ღირებულებაზე.

ცელულოზური გენები (ეგზო- და ენდოგლუკანაზები, β-გლუგაზიდაზა, ცელობიოჰიდროლაზა, ცელობიზა) კლონირებული და ექსპრესირებული იქნა E. coli-ში ან სხვა მიკროორგანიზმებში და მიღებული იქნა სასარგებლო თვისებების ახალი შტამები. ასე მაგალითად: Saccharomyces cerevisiae და Z. mobilis, რომლებიც ეფექტურად გარდაქმნიან მარტივ შაქრებს ეთანოლად, ცელულოზური გენების მათში შეყვანის შემდეგ, მათ შეძლეს ცელულოზის უშუალოდ ეთანოლად გარდაქმნა.

შესაძლებელია ცელულაზების გამოყენება ქაღალდის ნარჩენების ეთანოლად სამრეწველო ბიოგადამუშავებისათვის. ამისათვის ნარჩენებს ნაწილობრივ ცელულაზებით გახლეჩენ (დაყოფენ) 45 ^{0} C-ზე, შემდეგ არ მოაცილებენ-რა ცელულაზას, ახდენენ გამოთავისუფლებული გლუკოზის ფერმენტაციას Saccharomyces cerevisiae 37 ^{0} C-ზე. ამგვარი მიდგომა საშუალებას იძლევა 1 ტონა ქაღალდის ნარჩენებისაგან მივიღოთ 400 ლ ეთანოლი.

შეიქმნა Lactobacillus plantarum-ის შტამები, რომელიც იმ სასოფლო-სამეურნეო კულტურებიდან სილოსის უფრო ეფექტურ წარმოქმნას უწყობს ხელს, რომლებიც სახამებელს დიდი რაოდენობით შეიცავენ; ასეთი მცენარეა მაგალითად, იონჯა (Medicatus Sativa).

ერთუჯრედიანი მიკროორგანიზმების ცილები

ტერმინი აღნიშნავს ცილოვან პროდუქტებს, რომლებიც სინთეზირდება Methylophilus-ის მონოკულტურის მიერ (ძირითადი სუბსტრატის სახით ეს ბაქტერიები იყენებენ მეთანს) ბიომასის ზოგიერთ სახეობაზე: ცელულოზური ნარჩენები, ნავთობგადამუშავების პროდუქტები და სხვ.

ერთუჯრედიანი მიკროორგანიზმების ცილების წარმოება ვერ აღმოჩნდა რენტაბელური, რადგან ჯერ სათანადოდ არაა შესწავლილი მრავალი მიკროორგანიზმის ზრდის კინეტიკა, მეტაბოლიზმი, გენეტიკური მანიპულაციის შესაძლებლობები და უსაფრთხოება.

12.3. ძირითადი სანიტარული და ეკოლოგიური მოთხოვნები ბიოპრეპარატების წარმოების მიმართ

ყველა ეტაპზე - დაწყებული გამოკვლევებიდან და ლაბორატორიული გამოცდებიდან დამთავრებული საბოლოო პროდუქტის წარმოებითა და შეფუთვით, ბიოსაწარმოთა პროდუქცია მოითხოვს მკაცრი წესების დაცვას სამკურნალო საშუალებების ხარისხის, სიწმინდისა და უსაფრთხოების მიმართ.

სტერილური პრეპარატების წარმოება კიდევ უფრო მკაცრადაა რეგულირებული. ამგვარი ფარმაცევტული პროდუქტების წარმოების სახელმძღვანელოდ სხვადასხვა ქვეყნების (განსაკუთრებით - ევროკავშირის) მთავრობებმა შეიძლება აიღონ Good Manufacturing Practice (GMP) - სათანადო წარმოების პრაქტიკა (სსპ). არსებობს ISO (International Stadard Organisation) 1-დან ISO - 9 - მდე სისუფთავის კლასები: „სუფთა სათავსოებისა და დაბინძურების სუფთა ზონების კლასიფიკაცია“. ყოველმა ბიოწარმოებამ უნდა უზრუნველყოს შემდეგი დაცვის მექანიზმები:

- ნედლეულის, შუალედური და საბოლოო პროდუქტისა ნებისმიერი დაბინძურებისაგან;

- პერსონალისა იმ სუბსტანციისაგან, რომელთანაც მათ უხდებათ მუშაობა;
- გარემოსი იმ ნივთიერებებისაგან, რომლებიც შესაფერისი ზომებისა და კონტროლის უქონლობისას ჰაერის ნაკადით შეიძლება ბიოსაწარმოდან გავრცელდეს.

რეკომბინანტულ შტამებთან გაუფრთხილებელმა მუშაობამ შეიძლება გამოიწვიოს მათი გარემოში მოხვედრა, სადაც მათ შეუძლიათ გამოიწვიონ არა მხოლოდ მიკროორგანიზმების, არამედ უკონტროლო მუტაციები სხვა ცოცხალ არსებებში. ეს მოითხოვს გენური ინჟინერიით დასაქმებული პერსონალის მხრიდან დიდ პასუხისმგებლობასა და დისციპლინას.

ყველა რეკომბინანტული მიკროორგანიზმი უნდა იქნას ინაქტივირებული და მოცილებული აპარატურიდან განსაზღვრული ინსტრუქციების შესაბამისად. გადამუშავებულ კულტურალურ ნიადაგებს გულდაგულ შეამოწმებენ მათში სიცოცხლისუნარიანი მიკროორგანიზმების არსებობაზე, რათა გამოირიცხოს მათი გარემოში მოხვედრა.

სერიოზული ეკოლოგიური პრობლემები წარმოიშობა ბიოტექნოლოგიური პროცესის დროს დიდი რაოდენობით წარმოქმნილი ჩამდინარე წყლებისაგან წყალსატევების დაცვასთან დაკავშირებით. ამისათვის არსებობს ძვირადღირებული სპეციალური გამწმენდი მოწყობილობა, ან გამოიყენება წყალმიმოქცევის დახურული სისტემა. ჩამდინარე წყლების გაშვების წინ გამწმენდ მოწყობილობებში ნამუშევარი ნატივური ხსნარები განიცდიან წინასწარ ულტრაიისფერ დასხივებას; იმავდროულად შეყავთ დამჟანგველიც. ჩატარებული პროცედურები ხელს უწყობენ მაღალმოლეკულური ორგანული შენაერთებისაგან წარმოიქმნას დაბალმოლეკულური შენაერთები, რომლებიც გამწმენდი მოწყობილობის სისტემაში ადვილად ექვემდებარებიან ბიოლოგიურ დაჟანგვას. დაძაბულ საათებში უპირატესობა უნდა მიეცეს გენურ-ინჟინრული შტამების - დესტრუქტორების გამოყენებას, როგორიცაა მაგალითად - Pseudomonas-ის გვარის ბაქტერიის გამოყენება ისეთი პლაზმიდებისათვის, რომელთაც აქვთ დამჟანგველი ფერმენტების გენები. ამის შემდეგ მიდის გაწმენდის შემდეგი ეტაპები:

- პირველადი დამუშავება - ადვილად გამოსაყოფი დაბინძურების (მსხვილი ნაწილაკებისა და ზეთოვანი აპკების) მოცილება;
- მეორადი დამუშავება - ორგანული ბუნების სუსპენდირებული მყარი ნაწილაკების მოშორება; ამ მიზნით გამოიყენება ბიოლოგიური დაჟანგვა - აერაცია;
- მესამეული დამუშავება - ელექტროდიალიზის, უკუოსმოსის, ფილტრაციის ან/და ადსორბციის მეთოდებით ყველა დარჩენილი მინარევის სრული მოცილება.

იყენებენ ბიოლოგიურ ფილტრებსაც, მაგრამ უპირატესობა ეძლევა ბუნებრივ დამჟანგველ წყალსატევებს მიკროორგანიზმების ბუნებრივი კომპლექსით, როგორიცაა აქტიური ლამი. იგი მოგვაგონებს ბუნებრივ ეკოსისტემას, სადაც ფოტოსინთეზის პროცესში წყალმცენარეები გამოყოფენ ჟანგბადს და ინარჩუნებენ აერობულ რეჟიმს, დამაბინძურებელი ორგანული ნივთიერებების უტილიზატორი ბაქტერიების ნორმალური ფუნქციონირებისათვის.

გარემოს დაცვის მნიშვნელოვანი ამოცანაა ატმოსფეროში მავნე ნარჩენების გავრცელების შემცირება, რაც გამონაბოლქვი აირების ღრმა გაწმენდას გულისხმობს.

გარემოს დაცვის პრობლემის რაციონალური გადაჭრა დაფუძნებული უნდა იყოს ბიოტექნოლოგიური წარმოების გამართვის თანამედროვე პრინციპებზე და უნდა იყოს უდანაკარგო ან მცირე დანაკარგებით. ეს ეკოლოგიური პრობლემის გადაჭრის ყველაზე უფრო პროგრესული ხერხია, მათ შორის, სამედიცინო ბიოტექნოლოგიისათვისაც.

ნინო, დაჯექი და ამოხსენი ეს ტესტები!

შეამოწმეთ თქვენი ცოდნა

<u>თავი 2-3</u>

1. სწორია თუ არა საგნის, ბიოტექნოლოგიის განმარტება: „ბიოტექნოლოგია არის, უჯრედოვანი კულტურების, ბაქტერიების, ცხოველების, მცენარეების გამოყენება, რომელთა მეტაბოლიზმი და ბიოლოგიური შესაძლებლობები უზრუნველყოფს სხვადასხვაგვარი სამკურნალწამლო ფორმის მიღებას“,

ა) სწორია;

ბ) არაა სწორი;

გ) ითხოვს დაზუსტებას.

2. გენომიკა სწავლობს:

ა) ცალკეულ გენებს;

ბ) დნმ-ის სტრუქტურული კომპონენტების ერთობლიობას;

გ) ორგანიზმის ყველა გენის ერთობლიობას;

დ) გენის წარმოთქმისას მიმიკურ გამოვლინებებს;

ე) გენეტიკური ცვლილებების (მუტაციების) მექანიზმებს.

3. ბიოტექნოლოგიაში ცნებას „ბიოობიექტი“ შეესაბამება შემდეგი განმარტებები:

ა) ორგანიზმი, რომელზედაც ცდიან ახალ ბან-ებს;

ბ) ორგანიზმები, როლებიც იწვევენ ტექნოლოგიური აღჭურვილობის მიკრობულ კონტამინაციას;

გ) გენურ-ინჟინრული პროცესებისას გამოყენებული ფერმენტი;

დ) ორგანიზმი, რომელიც აწარმოებს ბან-ის წარმოქმნას;

ე) ფერმენტი, რომელიც სამკურნალო მიზნებისათვის გამოიყენება.

4. ეუკარიოტული უჯრედის განმასხვავებელი თავისებურებები:

ა) დიდი ზომა;

ბ) ბირთვის არსებობა;

გ) უჯრედის რიგიდული კედელი;

დ) სუბუჯრედული ორგანოიდების უქონლობა;

ე) ციტოპლაზმაში - ქრომოსომული დნმ.

5. პროკარიოტული უჯრედის განმასხვავებელი თავისებურებები:

ა) მცირე ზომა;

ბ) ბირთვის არარსებობა;

გ) სუბუჯრედოვანი ორგანოიდების არსებობა;

დ) მრავალფენიანი უჯრედული კედელი;

ე) ბირთვში ქრომოსომული დნმ.

6. მეზოფილური მიკროორგანიზმების განვითარების ოპტიმალური ტემპერატურული რეჟიმი:

ა) 45-90^{0}C;

ბ) 10-47^{0}C

გ) 37^{0}C

დ) -5-დან 35^{0}C-მდე;

ე) 90^{0}C და მეტი.

7. ფსიქროფილური მიკროორგანიზმების გამოყენების მიმართულებებია:

ა) როგორც თერმოლაბილური ფერმენტების მაკოდირებელი გენების წყარო;

ბ) როგორც თერმოსტაბილური ფერმენტების მაკოდირებელი გენების წყარო;

გ) ტოქსიკური ნარჩენების უტილიზაცია;

დ) ეთილის სპირტის წარმოება;

ე) ბიოაირის წარმოება.

8. ბიოტექნოლოგიაში ბიოობიექტების სახით გამოიყენება:
ა) Pseudomonas aeruginosa;
ბ) Staphylococcus aureus;
გ) Escherichia coli;
დ) Clostridium tetani;
ე) ეუკარიოტული უჯრედების კულტურა.

9. შაქრის ეთანოლად გარდაქმნის (დუღილის) უნარი აქვთ:
ა) Aspergillus oryzae;
ბ) Aspergillus terricola;
გ) Escherichia coli;
დ) Bacillus subtillis;
ე) Saccharomyces cerevisiae.

10. Saccharomyces cerevisiae განსხვავდება სხვა მიკროორგანიზმებისაგან:
ა) არაპათოგენურობით;
ბ) განვითარების აერობული წესით;
გ) განვითარების ანაერობული წესით;
დ) სრულფასოვანი ეუკარიოტული ცილების პროდუცირების უნარით;
ე) სრულფასოვანი ეუკარიოტული ცილების პროდუცირების უუნარობით.

თავი 4.

1. „დნმ არის გენეტიკური ინფორმაციის საცავი იმიტომ, რომ მისი მოლეკულები რნმ-ის მოლეკულებისაგან განსხვავებით უფრო სტაბილურია“. მტკიცებულება:
ა) ჭეშმარიტია;
ბ) მცდარია;
გ) დაზუსტებას მოითხოვს.

2. გენეტიკური ინფორმაციის მატარებელი უნდა აკმაყოფილებდეს მოთხოვნებს:
ა) რეპლიცირდებოდეს დიდი სიზუსტით;
ბ) არ ექვემდებარებოდეს ქიმიურ ჰიდროლიზს;
გ) აწარმოებდეს ცილოვანი მოლეკულების სინთეზის დეტერმინირებას;
დ) გამოვიდეს ენერგიის გადამტანის როლში;
ე) წარმოქმნას ჩაკეტილი რგოლისებრი სტრუქტურა.

3. დნმ-ის მოლეკულების დაყოფისათვის გამოიყენება:
ა) გამომარილება;
ბ) უკუოსმოსი;
გ) პულს-ელექტროფორეზი;
დ) გელ-ელექტროფორეზი;
ე) ელექტროდიალიზი.

4. რნმ-ის მოლეკულის განმასხვავებელი თვისება დნმ-ის მოლეკულისაგან:
ა) მონოსაქარიდია დეზოქსირიბოზა;
ბ) მონოსაქარიდია რიბოზა;
გ) აზოტოვანი ფუძეა თიმინი;
დ) აზოტოვანი ფუძეა ურაცილი;
ე) აზოტოვანი ფუძეა გუანინი.

5. დნმ-ის მოლეკულის სინთეზი ხორციელდება:

ა) დნმ-ლიგაზით;
ბ) დნმ-პოლიმერაზით;
გ) ნუკლეოტიდების L ფორმიდან;
დ) ნუკლეოტიდების D ფორმიდან;
ე) D და L ფორმების ნარევისაგან.

6. სპლაისინგი არის:
ა) მატრიცული რნმ-ის წინამორბედისაგან ეგზონების ამოჭრა და ინტრონებთან კოვალენტური ბმით შეერთება, რაც დასრულდება ზრდასრული მატრიცული-რნმ-ის წარმოქმნით;
ბ) მატრიცული რნმ-ის წინამორბედისაგან ინტრონების ამოჭრა და ეგზონებთამ კოვალენტური ბმით შეერთება, რაც დასრულდება ზრდასრული მატრიცული-რნმ-ის წარმოქმნით;
გ) სატრანსპორტო რნმ-ის მოლეკულების სინთეზი ცალკეული ნუკლეოტიდების მიკერების გზით ,,ტანი ტანთან (ტორსი ტორსთან)".
დ) მატრიცული რნმ-ის წინამორბედისაგან ინტრონების ამოჭრა და მათი კოვალენტური ბმით მიერთება, რაც დასრულდება ზრდასრული მატრიცული რნმ-ს წარმოქმნით;
ე) ეგზონებისა და ინტრონების თანამიმდევრული კოვალენტური დაკავშირება, რაც დასრულდება ზრდასრული მატრიცული-რნმ-ის წარმოქმნით.

7. კოდონი არის:
ა) მატრიცული რნმ-ის სამი მეზობელი ნუკლეოტიდი, რომლებიც აკოდირებენ განსაზღვრულ ამინომჟავას;
ბ) სატრანსპორტო რნმ-ის სამი მეზობელი ნუკლეოტიდი, რომლებიც კომპლემენტარულია მატრიცული რნმ-ს მოლეკულის სპეციფიკური კოდონის ნუკლეოტიდების მიმართ.
გ) სატრანსპორტო რნმ-ის სამი მეზობელი ნუკლეოტიდი, რომლებიც აკოდირებენ განსაზღვრულ ამინომჟავას;
დ) სატრანსპორტო რნმ-ის სამი მეზობელი ნუკლეოტიდი, რომლებიც აკოდირებენ ამინომჟავათა განსაზღვრულ თანამიმდევრობას.

8. რნმ-ის მოლეკულის უნიკალური სივრცული სტრუქტურა განსაზღვრავს:
ა) რეპლიკაციის პროცესს;
ბ) გენოტიპს;
გ) ფენოტიპს;
დ) სხვა მოლეკულებთან და გარეგან პირობებთან ურთიერთქმედების ხასიათს;
ე) რნმ-ის მოლეკულის ლოკალიზაციას.

9. ტრანსკრიპციის პროცესები მიმდინარეობს:
ა) მუდმივად, ერთნაირი სიჩქარით;
ბ) რეგულატორული სისტემის კონტროლის ქვეშ;
გ) პერიოდულად, ენერგიის დაგროვების კვალობაზე;
დ) დნმ-ის ფორმირების პროცესებთან შეუღლებული;
ე) სტრუქტურული გენების ფორმირების პროცესების პროპორციული სიჩქარით.

10. ოპერონი არის:
ა) დნმ-ის უბანი, რომელიც რამდენიმე სტრუქტურულ გენს შეიცავს;
ბ) დნმ-ის უბანი, რომელიც ერთ სტრუქტურულ გენს შეიცავს;
გ) ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა, რომელიც აკოდირებს ერთ ცილას;
დ) ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა, რომელიც აკოდირებს ერთზე მეტ ცილას;
ე) მატრიცული რნმ-ს გრძელი მოლეკულა, რომელიც აკოდირებს რამდენიმე ცილას.

თავი 5.

1. **სწორია თუ არა მტკიცებულება: „გენეტიკური რეკომბინაცია მდგომარეობს გენების გაცვლაში ორ ქრომოსომას შორის“:**
ა) სწორია;
ბ) მცდარია;
გ) დაზუსტებას საჭიროებს.

2. გენურ-ინჟინრული პრეპარატების მომზადების პროცესი მოიცავს:
ა) საჭირო პროდუქტის სინთეზზე პასუხისმგებელი ადამიანის გენის პირგადაღება (კოპირება);
ბ) საჭირო პროდუქტების სინთეზის გადიდებისათვის ავადმყოფის გენეტიკური აპარატის მოდიფიკაცია;
გ) რეკომბინანტული დნმ-იანი მიკრობული უჯრედის ჩანერგვა ადამიანის ორგანიზმში;
დ) რეკომბინანტული დნმ-იანი მიკრობული უჯრედის ჩანერგვა ცხოველის ორგანიზმში;
ე) ადამიანის გენის ჩანერგვა მიკრობული უჯრედის პლაზმიდაში.

3. მარესტრიცირებელი ენდონუკლეაზების ფუნქციონალური აქტიურობა:
ა) ნუკლეოტიდების მეთილირება;
ბ) ნუკლეოტიდების ჰიდროქსილირება;
გ) დნმ-ის დაწყვეტა;
დ) ნუკლეოტიდების მიკერება;
ე) ნუკლეოტიდების რეპლიკაცია.

4. დნმ-ლიგაზების ფუნქციონალური აქტიურობა:
ა) დნმ-ის ლიზირება (გახსნა, ჰიდროლიზი);
ბ) ფოსფოდიეთერული ბმების წარმოქმნა პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვების ბოლოებს შორის;
გ) ნუკლეოტიდების მეთილირება;
დ) დნმ-ის ნეიტრალიზაცია;
ე) დნმ-ის დაწყვეტა.

5. უცხო დნმ-ის შეღწევისაგან უჯრედების დაცვა მდგომარეობს:
ა) უჯრედის მემბრანის შეღწევადობის დარეგულირებაში;
ბ) უცხო დნმ-ის გამსხვილებაში;
გ) უცხო დნმ-ის ჰიდროლიზში (გახლეჩაში);
დ) უცხო დნმ-ის მეთილირებაში;
ე) უცხო დნმ-ის ნეიტრალიზაციაში.

6. გენური ინჟინერიით მეთოდით პრეპარატების წარმოებაში რეკომბინანტული დნმ-ის შეტანისათვის გამოიყენება:
ა) ქრომოსომები;
ბ) პლაზმიდები;
გ) რიბოსომები;
დ) ბაქტერიოფაგები;
ე) ლიზოსომები;
ვ) უჯრედის ბირთვი.

7. პლაზმიდა წარმოადგენს:
ა) ბიოტექნოლოგიური მიზნებისათვის გამოყენებულ ნაწლავის ჩხირის განსაზღვრულ შტამს;
ბ) დნმ-ის რგოლურ მოლეკულას;
გ) რნმ-ის ჯაჭვის უბანს, რომელიც ატარებს ინფორმაციას გენის სტრუქტურის შესახებ;
დ) გენეტიკური ინფორმაციის ქრომოსომასგარე ელემენტი;
ე) ვირუსი, რომელიც მიკრობული უჯრედის ციტოპლაზმაში მრავლდება;
ვ) ქრომოსომას, რომელიც გამოიყენება ვექტორის სახით ბაქტერიულ უჯრედში დნმ-ის შესაყვანად.

8. მოთხოვნები დნმ-ის ვექტორების მიმართ:

ა) მცირე ზომა;
ბ) დიდი ზომა;
გ) სახეობრივი სპეციფიკურობა;
დ) სელექტიური გენეტიკური მარკერების არსებობა რეკომბინანტული დნმ-ის მატარებელი რეციპიენტული უჯრედების იდენტიფიკაციისათვის;
ე) რესტრიქციის საიტის არსებობა, რომელშიც განხორციელდა ჩასმა (ჩანერგვა).

9. რეკომბინანტული დნმ-ის (ჰიბრიდული პლაზმიდის) შემცველი ტრანსფორმირებული უჯრედების გადარჩევა ხდება:
ა) სხვადასხვა ტემპერატურის მიმართ რეზისტენტულობაზე ტესტირებით;
ბ) განსაზღვრული ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტულობაზე ტესტირებით;
გ) ჰემატოქსილინით შეღებვის უნარის მიხედვით;
დ) მორფოლოგიური ნიშნებით;
ე) ზრდისა და გამრავლების სიჩქარის მიხედვით.

10. კლონირებული გენების სომატურ უჯრედებში შეყვანის ხერხები:
ა) მიკროინექციები;
ბ) იმ ქიმიური რეაგენტების დახმარებით, რომლებიც იწვევენ მემბრანების შეღწევადობის ცვლილებას;
გ) ლიპოსომების საშუალებით;
დ) ბაქტერიული უჯრედის ქრომოსომების ექსტრაკორპორალური დამუშავებით;
ე) რეკომბინანტული ვირუსებით უჯრედის ინფიცირებით.

თავი 6.

1. საკვები ნიადაგების დანიშნულება:
ა) უჯრედების დაცვა გარემო ფაქტორების ზემოქმედებისაგან;
ბ) უჯრედის ზრდის ოპტიმალური ფიზიკო-ქიმიური თვისებების შენარჩუნება;
გ) უჯრედების უზრუნველყოფა ბიომასის სინთეზისათვის საკვები ნივთიერებებით;
დ) უჯრედების უზრუნველყოფა საკვები ნივთიერებებითცხოველმოქმედებისათვის აუცილებელის პროდუქტების სინთეზისათვის ;
ე) ყველა პასუხი სწორია.

2. საკვებ ნიადაგებში გოგირდის წყარო:
ა) გოგირდწყალბადი;
ბ) სულფატები;
გ) ცისტეინი;
დ) კრისტალური გოგირდი;
ე) გოგირდმჟავა.

3. საკვები ნიადაგების სტერილობის მიღწევა და შენარჩუნება შესაძლებელია:
ა) ნიადაგის საწყისი კომპონენტების სტერილიზაციით;
ბ) ნიადაგის თერმული სტერილიზაციით;
გ) მასტერილებელი ფილტრაციით;
დ) ანტიბიოტიკების ჩამატებით;
ე) ყველა პასუხი სწორია.

4. პროდუცენტი კულტურების შენახვის რეჟიმი ითვალისწინებს:
ა) გაყინვას -20^{0}C ტემპერატურაზე;
ბ) გაყინვას -2....-5^{0}C -ზე დაბალ ტემპერატურაზე;
გ) ლიოფილურ შრობას;
დ) კონსერვირებას;
ე) თერმოსტატირებას 37^{0}C -ზე.

5. კულტურების მორფოლოგიური, ფიზიოლოგიური დახასიათება, კულტივირებისა და შენახვის პირობების აღწერა მოცემულია:
ა) მე-12 გამოცემა რუს. ფარმაკოპეაში;
ბ) კულტურის შტამის პასპორტზე;
გ) საცნობარო და სამეცნიერო ლიტერატურაში;
დ) პროდუცირებული პრეპარატის ნორმატიულ დოკუმენტში;
ე) შესაფუთზე.

6. კულტივირების ზედაპირული ხერხის ნიშნები:
ა) მყარი საკვები ნიადაგი;
ბ) უჯრედების სუსპენზიის მონოშრე;
გ) უჯრედების ფიქსირება რეაქტორის ზედაპირზე;
დ) მიკროსკოპული გრანულა-მატარებლების გამოყენება;
ე) ყველა პასუხი სწორია.

7. კულტივირების ლაგ-ფაზის ხანგრძლივობა განისაზღვრება:
ა) საკვები ნიადაგის გათბობოდ დროით;
ბ) სტაციონარული ფაზის ხანგრძლივობით;
გ) შენახვის ნიადაგისა და კულტივირების ნიადაგის განსხვავებებით;
დ) საწყისი კულტურის ზრდის ფაზით;
ე) საკვები ნიადაგის მორევის სიჩქარით.

8. დაასახელეთ კულტივირების ფაზა, რომელიც მეორადი მეტაბოლიტების (ანტიბიოტიკების) მაქსიმალური დაგროვებით ხასიათდება:
ა) ლაგ-ფაზა;
ბ) დაჩქარების ფაზა;
გ) ექსპონენციალური ანუ ლოგარითმული ფაზა;
დ) შენელების ფაზა;
ე) სტაციონარული ფაზა;
ვ) კვდომის ფაზა.

9. პერიოდული კულტივირებისას სუბსტრატის ულუფის დამატების დრო განისაზღვრება:
ა) pH-ით;
ბ) სინთეზირებული პროდუქტების (მჟავების) რაოდენობით;
გ) რეაქტორის მოცულობით;
დ) საკვები ნიადაგის მორევის სიჩქარით;
ე) საკვები ნიადაგის სიმკვრივით.

10. მაღალი სიმჭიდროვის (სიმკვრივის) კულტურებს ღებულობენ:
ა) დიდი რაოდენობით საკვები ნივთიერებების დამატებით;
ბ) კულტურალური ნიადაგის შემადგენლობის ოპტიმიზაციით;
გ) ჰაერის (ჟანგბადის) ჭარბი წნევის ქვეშ კულტივირებით;
დ) ჰაერის დაქვეითებული წნევის ქვეშ კულტივირებით;
ე) კულტივირების ტემპერატურის დაქვეითებით.

11. ერლიფტური რეაქტორის განმასხვავებელი ნიშნები:
ა) კულტურალური სითხის მექანიკური არევა;
ბ) ნიადაგის არევა დახუფხუფებით (ბარბოტირებით);
გ) ნიადაგის ცირკულაცია ჰაერის ნაკადის ხარჯზე;
დ) ნიადაგის ცირკულაცია ელექტრომაგნიტური ტალღებით;
ე) ნიადაგის ცირკულაცია თბური კონვექციის ხარჯზე.

12. ეფექტურობის მიხედვით ბიორეაქტორები შეიძლება დავალაგოთ შემდეგი თანმიმდევრობით:
ა) მექანიკური არევით ბარბოტაჟური ერლიფტური;
ბ) ბარბოტაჟური ერლიფტური მექანიკური არევით;
გ) ერლიფტური ბარბოტაჟური მექანიკური არევით;
დ) ბარბოტაჟური მექანიკური არევით ერლიფტური;
ე) მექანიკური არევით ერლიფტური ბარბოტაჟური.

13. ბიორეაქტორის სტერილიზაცია ხორციელდება:
ა) სადეზინფექციო ხსნარებით;
ბ) ულტრაიისფერი გამოსხივებით;
გ) სველი ორთქლით წნევის ქვეშ;
დ) მშრალი ჰაერით წნევის ქვეშ;
ე) საკვები ნიადაგის სტერილური ხსნარით.

14. ფერმენტაციის პროცესი კონტროლდება შემდეგი მაჩვენებლით:
ა) მინერალური ნივთიერებების კონცენტრაცია;
ბ) გახსნილი ჟანგბადის კონცენტრაციით;
გ) pH;
დ) ტემპერატურა;
ე) ბიომასის მორევის ინტენსიურობა.

15. ბიომასის კონტროლი ხდება შემდეგი მაჩვენებლით:
ა) უჯრედების რიცხვი და მათი ხაზური ზომები;
ბ) სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რიცხვი (შეღებვით);
გ) სუნთქვის ინტენსივობით (ნახშირორჟანგის დაგროვებით);
დ) ცილის შემადგენლობით;
ე) კონდუქტომეტრიულად.

16. უჯრედის აპოპტოზის დამახასიათებელი ნიშნები:
ა) გენეტიკური დეტერმინანტა, სპეციალური უჯრედშიგა მექანიზმების მონაწილეობა;
ბ) უჯრედების დაუპროგრამირებელი დაღუპვა;
გ) უჯრედების დაღუპვის პროგრამირებული ხასიათი;
დ) დაღუპვის პროცესი უმართავია;
ე) დაღუპვის პროცესი შექცევადია.

17. უჯრედების გამოსაყოფად კულტურალური ნიადაგიდან გამოიყენება:
ა) ფლოტაცია;
ბ) სედიმენტაცია;
გ) სეპარაცია;
დ) ცენტრიფუგირება;
ე) გაფილტრვა.

18. უჯრედების დაშლის ქიმიური მეთოდი გამოიყენება შემდეგ შემთხვევაში:
ა) თუ მიღებული პროდუქტი მდგრადია ტუტე არისადმი;
ბ) თუ მიღებული პროდუქტი არამდგრადია ტუტე არისადმი;
გ) თუ მიღებული პროდუქტი თერმოგამძლეა;
დ) თუ მიღებული პროდუქტი თერმოლაბილურია;
ე) ნებისმიერ შემთხვევაში.

19. უჯრედების ბალისტიკური დეზინტეგრაცია დაფუძნებულია:
ა) მძიმე ბირთვებით უჯრედის დაბომბვაზე;
ბ) ინერტული ბურთულების, სარეველებისა და რეაქტორის ზედაპირის გადანაცვლების (ძვრის) ძაბვაზე;

გ) უძრავ ზედაპირებზე უჯრედების დარტყმით ზემოქმედებაზე;
დ) ულტრაბგერით დამუშავებაზე;
ე) მაღალი წნევით ზემოქმედებაზე.

20. გრამდადებითი ბაქტერიების უჯრედის კედლის შედგენილობა:
ა) ნაწილობრივ ფოსფორილირებული მანატები და β-გლუკანები;
ბ) α- და β-გლუკანები, გლიკოპროტეიდები და ქიტინი.
გ) პეპტიდური ხიდებით შეერთებული N-აცეტილგლუკოზამინისა და N-აცეტილმურამის მჟავას ნაშთების პეპტიდოგლიკანური შრე;
დ) ფოსფოლიპაზები;
ე) ცელულოზა (უჯრედისი).

21. დამცავი ნიადაგების დანიშნულება:
ა) გაყინვის პროცესში ცვლილებებისაგან დაცვა;
ბ) გამოშრობისა და შემდეგი შენახვის პროცესში ცვლილებებისაგან დაცვა;
გ) ანტიბიოტიკების მიმართ მდგრადობის გადიდება;
დ) საკვები ნივთიერებების დამატებითი წყარო;
ე) მეტაბოლიზმის პროდუქტების გავლენისაგან დაცვა.

22. დამცავი ნიადაგების ფუნქციების შესრულება შეუძლია:
ა) მაღალკონცენტრირებულ მინერალურ მარილებს;
ბ) მმნ (პვპ, დექსტრანი, ჟელატინი, პეპტოლი);
გ) ზან (თვინი-80, სპენები);
დ) აეროსილს;
ე) დაბალმოლეკულურ და ბუფერულ კომპონენტებს (გლუტამატი, ტრისბუფერი).

თავი 7.

1. ანტისხეულის ანტიგენშემაკავშირებელი მოქმედება განისაზღვრება:
ა) Fab-ფრაგმენტით (Fv-ფრაგმენტით);
ბ) H- და L- ჯაჭვების ვარიაბელური ბოლოებით;
გ) კონსტანტური უბნით ან დომენით;
დ) ნატივური ანტისხეულის მთელი მოლეკულით;
ე) დისულფიდური ხიდების რაოდენობით L- და H- ჯაჭვებს შორის.

2. სამკურნალო ნივთიერების მოლეკულის მიერთებას მონოკლონალურ ანტისხეულებთან ან მათ Fv-ფრაგმენტებთან იყენებენ:
ა) სამკურნალო ნივთიერების სტაბილურობის ასამაღლებლად;
ბ) სამკურნალო ნივთიერების მიზანმიმართული მიწოდებისათვის მისი მოქმედების ადგილას;
გ) სამკურნალო ნივთიერების ფარმაკოლოგიური მოქმედების სპექტრის გაფართოებისათვის;
დ) სამკურნალო პრეპარატის ღირებულების შესამცირებლად;
ე) წამლის საწყისის (პროწამლის) მისაღებად.

3. მონოკლონალური ანტისხეულების საფუძველზე წამლის საწყისის მიღების მექანიზმი მდგომარეობს:
ა) წამლის გამოყენებაში არააქტიურ ფორმაში;
ბ) წამლის გამოყენებაში აქტიურ ფორმაში;
გ) წამლის ფერმენტთან შეკავშირებაში;
დ) ანტისხეულის ლიპოსომებში ჩართვაში;
ე) ფერმენტის მონოკლონალურ ანტისხეულთან შეკავშირებაში.

4. სამიზნე უჯრედთან სამკურნალო საშუალების გააქტიურება ხდება შემდეგის ხარჯზე:

ა) შეკავშირების აქტივატორების შეყვანა;
ბ) სამიზნე უჯრედის სიახლოვეს ტემპერატურის ლოკალური აწევა;
გ) ფერმენტის შეკავშირება მონოკლონალურ ანტისხეულთან;
დ) მონოკლონალური ანტისხეულის ანტიგენური სპეციფიკურობა;
ე) სამკურნალო ნივთიერების შეკავშირება ფერმენტთან.

5. პრეპარატ ურაკინაზის წყაროებია:
ა) კოჟრის (каллусные, мазольные, callus) იზოლირებული კულტურები;
ბ) ადამიანის ემბრიონის თირკმლის უჯრედების კულტურა;
გ) დონორული სისხლი;
დ) კლონირებული E. coli;
ე) სამკურნალო ნივთიერების ფერმენტთან შეკავშირება.

6. სტრეპტოკინაზა:
ა) მიიღება დონორული სისხლისაგან;
ბ) მიიღება C ჯგუფის β ჰემოლიტიკური სტრეპტოკოკისაგან;
გ) არის პირდაპირი თრომბოლიტიკი;
დ) აღწევს თრომბის შიგნით;
ე) ვერ აღწევა თრომბის შიგნით.

7. ურაკინაზას ფარმაკოთერაპიული თვისებების განსხვავება სტრეპტოკინაზასაგან, შემდეგშია:
ა) უფრო ნელა დგება ფიბრინოლიტიკური ეფექტი;
ბ) უფრო ჩქარა დგება ფიბრინოლიტიკური ეფექტი;
გ) არა აქვს გამოხატული ანტიგენური თვისებები;
დ) აქვს გამოხატული ანტიგენური თვისებები;
ე) ააქტივებს ენდო- და ეგზოთრომბოლიზს.

8. C ცილის რეკომბინანტული ჰიბრიდი ეს არის:
ა) ანტიკოაგულანტი;
ბ) შედედების სისტემი ვიტამინ-K-დამოკიდებული ინჰიბიტორი;
გ) ასკორბინმჟავას პროვიტამინი;
დ) ფიბრინოლიტიკი;
ე) ადამიანის სისხლის ცილა.

9. ამინომჟავების სამრეწველო მიღების წყაროა:
ა) დაბალმოლეკულური აზოტოვანი შენაერთები;
ბ) არასპორაწარმომქმნელი გრამდადებითი ნიადაგის ბაქტერიების მეტაბოლიზმის პროდუქტები;
გ) ცილის ჰიდროლიზატი;
დ) ტორფი;
ე) ადამიანის სისხლის ცილა.

10. ასკორბინმჟავას სამრეწველო სინთეზი ხორციელდება:
ა) ქიმიური სინთეზით;
ბ) არასპორაწარმომქმნელი გრამდადებითი ნიადაგის ბაქტერიების მეტაბოლიზმის პროდუქტები;
გ) ცილის ჰიდროლიზატი;
დ) ტორფი;
ე) ადამიანის სისხლის ცილა.

11. ასკორბინის მჟავას მიღების ბიოქიმიური პროცესი შედგება:
ა) Erwinica herbicola-ს ტრანსფორმირებული უჯრედების კულტივირება;
ბ) ცელულოზის მიკრობიოლოგიური დახლეჩა;
გ) მიკროორგანიზმების Corinebacterium -ისა და Erwinica herbicola -ს ერთდროული კულტივირება;

დ) მიკროორგანიზმების Corinebacterium -ისა და Erwinica herbicola -ს თანამიმდევრული კულტივირება;
ე) Streptococcus equisimilis შტამის კულტივირება.

12. ადამიანის ინსულინის იდენტური ინსულინის წარმოება ხორციელდება:
ა) ცხოველური წარმოშობის ინსულინის მაღალეფექტური გაწმენდით;
ბ) ღორის ინსულინის გარდაქმნა ალანინის ტრეონინით ჩანაცვლებით;
გ) ქიმიური სინთეზით;
დ) გენურ-ინჟინრული მეთოდით;
ე) ნებისმიერით ზემოჩამოთვლილიდან.

13. გენურ-ინჟინრული ინსულინის მიღების მეთოდი მოიცავს:
ა) E. coli -ის რეკომბინანტული შტამის ბიომასის გამოზრდა;
ბ) კულტურალური მასიდან პრეპროინსულინის გამოყოფა;
გ) ლიდერული პოლიპეპტიდის მოხლეჩა;
დ) სამი დისულფიდური ბმის აღდგენა და შემაკავშირებელი C პეპტიდის ფერმენტატიული გამონაწევრება;
ე) ინსულინის ქრომატოგრაფიული გასუფთავება.

14. ადამიანის ინსულინის გენურ-ინჟინრული პრეპარატების ჰეტეროგენულობა დაკავშირებულია:
ა) არასაკმარის გაწმენდასთან;
ბ) პოლიპეპტიდის ამინომჟავური შემადგენლობის განსხვავებასთან;
გ) შტამ-პროდუცენტის არასტაბილურობასთან;
დ) პრეპარატში უცხო გენეტიკური მასალის არსებობასთან;
ე) ექსპრესირებული გენის არაიდენტურობასთან.

15. გენურ-ინჟინრული სომატოტროპინის პრეპარატის განსხვავება ჰიპოფიზიდან გამოყოფილი ჰორმონისაგან მდგომარეობს:
ა) სიწმინდის სხვადასხვა ხარისხში;
ბ) სხვადასხვა ამინომჟავურ შემადგენლობაში;
გ) ნეიროტოქსიკური ვირუსის არარსებობაში;
დ) უფრო გამოხატულ ტოქსიკურობაში;
ე) ნედლეულის მასის ერთეულზე უფრო მაღალ გამოსავალში.

16. ერითროპოეტინის პრეპარატების სამრეწველო წყაროს წარმოადგენენ:
ა) ანემიით დაავადებულის შარდი;
ბ) ანემიით დაავადებული ცხოველების სისხლი;
გ) ძუძუმწოვრების უჯრედების კულტურა;
დ) მცენარეული უჯრედების კულტურა;
ე) ცხოველის თირკმელები.

17. ადამიანის ვირუსსაწინააღმდეგო ვაქცინების გამოყენება შეზღუდულია:
ა) ყველა პათოგენური მიკროორგანიზმის კულტივირების შეუძლებლობით;
ბ) პათოგენურ მიკროორგანიზმებთან და ვირუსებთან მუშაობის პოტენციურ საშიშროებაზე;
გ) ატენუირებული შტამების რევერტირები შესაძლებლობა;
დ) ტრადიციული ვაქცინების წარმოების მაღალი ღირებულება;
ე) ზოგიერთ ვირუსსზე იმუნური სისტემის აქტიურობის არარსებობა.

18. სუბერთეულოვანი ვაქცინა ეს არის:
ა) ვაქცინა ერთი გამომწვევის წინააღმდეგ;
ბ) ანტიგენური დეტერმინანტები (ცილები);
გ) გენმოდიფიცირებული პათოგენური მიკროორგანიზმი;

დ) არაპათოგენური მიკროორგანიზმი კლონირებული გენით, რომელშიც კოდირებულია პათოგენური ორგანიზმის ანტიგენური დეტერმინანტები;
ე) დნმ-ვაქცინები.

19. სუბერთეულოვანი ვაქცინების ნაკლი:
ა) დაბალი ეფექტურობა;
ბ) მაღალი ღირებულება;
გ) ცილის კონფორმაციის (ანტიგენური თვისებების) შეცვლის რისკი;
დ) ვირულენტობის გამომჟღავნების უნარი;
ე) კლასიკურ ვაქცინებთან შედარებით უფრო გამოხატული გვერდითი რეაქციები.

20. ორმაგი დელეციით შექმნილი პერორალური ვაქცინები ეს არის:
ა) მკვდარი ვაქცინები, რომლებმაც განიცადეს ორმაგი სტერილიზაცია;
ბ) ცოცხალი ვაქცინები პათოგენური ბაქტერიების საფუძველზე, რომელთაც გენომიდან მოშორებული აქვთ უბნები, პასუხისმგებელი დამოუკიდებელ სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვან ფუნქციებზე;
გ) ცოცხალი ვაქცინები პათოგენური ბაქტერიების საფუძველზე, რომელთაც გენომიდან მოშორებული აქვთ ვირულენტობაზე პასუხისმგებელი უბნები;
დ) ვაქცინები შეზღუდული პროლიფერაციული უნარით და დაქვეითებული პათოგენურობით;
ე) ვაქცინები ორი გამომწვევის (ინფექციის სახის) წინააღმდეგ.

21. ინტერფერონების დიდ რაოდენობას ღებულობენ:
ა) ქათმის ემბრიონის ექვსდღიანი ერთშრიანი უჯრედების კულტურებიდან;
ბ) განსაზღვრული სახის ვირუსით დასნებოვნებული ადამიანის სისხლის კულტივირებული ლეიკოციტებისაგან;
გ) განსაზღვრული სახის ვირუსით დასნებოვნებული ადამიანის სისხლის კულტივირებული ლიმფოციტებისაგან;
დ) განსაზღვრული სახის ვირუსით დასნებოვნებული ადამიანის სისხლის კულტივირებული ფიბრობლასტებისაგან;
ე) გენურ-ინჟინრული გზით.

თავი 8. ამოირჩიეთ სწორი პასუხები

1. ანტიბიოტიკები წარმოადგენენ:
ა) პირველად მეტაბოლიტებს;
ბ) მეორეულ მეტაბოლიტებს.

2. ანტიბიოტიკების ბიოლოგიური როლი:
ა) ისინი აუცილებელია უჯრედის გაყოფისათვის;
ბ) ეს არის მიკრობული ანტაგონიზმის ერთ-ერთი ფორმა;
გ) არიან უჯრედის მემბრანის სინთეზში მონაწილე ფერმენტების კოფაქტორები;
დ) არიან უჯრედის კედლის ფორმირებაში მონაწილე ფერმენტების კოფაქტორები.

3. ანტიბიოტიკების წარმოებაში კულტურალური ნიადაგის წინასწარი დამუშავების სტადიის მიზანი:
ა) კულტურალური სითხის ჟანგბადისაგან განთავისუფლება;
ბ) კულტურალური სითხის პროდუცენტისაგან განთავისუფლება;
გ) კულტურალური სითხის დამჟანგავებისაგან განთავისუფლება;
დ) კულტურალური სითხის აზოტოვანი ნაერთებისაგან განთავისუფლება.

4. პროცესები, რომლებიც არაა დამახასიათებელი ანტიბიოტიკების ბიოსინთეზის ტროპოფაზისათვის:
ა) პროდუცენტის ბიომასის ინტენსიური დაგროვება;

ბ) ჟანგბადის ინტენსიური შთანთქმა;
გ) pH-ის დონის დაქვეითება;
დ) ანტიბიოტიკის ინტენსიური წარმოქმნა.

5. ანტიბიოტიკების ბიოსინთეზის პროცესში პროდუცენტის მიცელიუმის ავტოლიზი დამახასიათებელია შემდეგი სტადიისათვის:
ა) ტროპოფაზის;
ბ) იდიოფაზის.

6. როგორც წესი, ნატურალური ნიადაგები არ გამოიყენება:
ა) მიკროორგანიზმების კულტურის შენარჩუნებისათვის;
ბ) ბიომასის დაგროვებისათვის;
გ) სადიაგნოსტიკო მიზნებით;
დ) ნივთიერებათა ცვლის შესწავლისათვის.

7. ნახშირორჟანგის წყაროს შერჩევა ხდება იმის გათვალისწინებით, რომ:
ა) პროდუცენტი აქტიურად ვითარდებოდეს როგორც იდიოფაზაში, ასევე - ტროპოფაზაში;
ბ) ანტიბიოტიკების დაგროვება მაქსიმალურად მიმდინარეობდეს როგორც იდიოფაზაში, ასევე - ტროპოფაზაში;
გ) პროდუცენტი აქტიურად ვითარდებოდეს იდიოფაზაში და ახდენდეს ანტიბიოტიკის მაქსიმალურ სინთეზირებას ტროპოფაზაში;
დ) ეფექტურად ხდებოდეს აზოტის რესურსის გამოყენება.

8. რომელი ანტიბიოტიკის ბიოსინთეზისათვის არის აუცილებელი ქლორის რესურსი:
ა) ამპიცილინის;
ბ) სტრეპტომიცინის;
გ) ლევომიცეტინის;
დ) გრამიციდინი C.

9. აზოტის წყაროდ კალიუმის ნიტრატის გამოყენების შემთხვევაში სუბსტრატი იქნება:
ა) შეტუტიანებული;
ბ) შემჟავებული;
გ) ნეიტრალური დარჩება.

10. აზოტის წყაროდ ამონიუმის სულფატის გამოყენების შემთხვევაში და კალციუმის იონების თანაობისას სუბსტრატი იქნება:
ა) შეტუტიანებული;
ბ) შემჟავებული;
გ) ნეიტრალური დარჩება.

11. ანტიბიოტიკი, რომელიც დამრღვევია უჯრედის კედლის სინთეზისა მიკროორგანიზმების:
ა) ერითრომიცინი;
ბ) ქლორტეტრაციკლინი;
გ) ქლორამფენიკოლი;
დ) ფენოქსიმეთილპენიცილინი.

12. ანტიბიოტიკი, რომლის მიმართ მიკროორგანიზმებს ნელა უვითარდებათ მეორეული რეზისტენობა:
ა) ერითრომიცინი;
ბ) სტრეპტომიცინი;
გ) ქლორამფენიკოლი;
დ) კანამიცინი.

13. კულტურალურ ნიადაგში ანტიბიოტიკის ბიოსინთეზის სტადიაზე <u>არ</u> შეყავთ:
ა) სტერილური ჰაერი;
ბ) ქაფით ჩამქრობები;
გ) ქაფწარმომშობები.

14. ანტიბიოტიკების ბიოსინთეზის დროს კულტურალურ ნიადაგში რა მიზნით შეიძლება იქნას შეყვანილი წყალბადის ზეჟანგი:
ა) ნიადაგის შემჟავების მიზნით;
ბ) ნიადაგის შეტუტიანების მიზნით;
გ) ნიადაგის გათხევადების მიზნით;
დ) პროდუცენტის ჟანგბადის შიმშილის სალიკვიდაციოდ.

15. ანტიბიოტიკების წარმოებაში მიკროორგანიზმების კულტივირების დროს გამოიყენება:
ა) ზედაპირული კულტივირება;
ბ) სიღრმული კულტივირება.

16. ანტიბიოტიკების წარმოებაში მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის გამოიყენება საკვები ნიადაგები:
ა) მყარი;
ბ) თხევადი;
გ) რბილი;
დ) აიროვანი.

17. რა მიზანს <u>არ ემსახურება</u> преследуется რეაქტორში ნიადაგის გადაადგილება:
ა) უჯრედების ზედაპირიდან ცვლის პროდუქტების მოშორებას და უჯრედების ლიზისს;
ბ) ხუფხუფასგან (ბარბოტიორისგან) გამომავალი ჰაერის გაფრქვევას;
გ) საკვები ნივთიერებების თანაბარ განაწილებას;
დ) კულტურალური ნიადაგის პროდუცენტისაგან გამოცალკევებას.

18. მიკროორგანიზმები, რომლებიც <u>არ გამოიყენებიან</u> ანტიბიოტიკების ბიოსინთეზის პროცესში:
ა) ვირუსები;
ბ) ბაქტერიები;
გ) აქტინომიცეტები;
დ) სოკოები.

19. ანტიბიოტიკების სამრეწველო წარმოებისას მათი გამოყოფისა და გაწმენდისათვის ფართოდ გამოყენება:
ა) თხელფენოვანი ქრომატოგრაფია;
ბ) იონმცვლელი ქრომატოგრაფია;
გ) მაღალეფექტური სითხოვანი ქრომატოგრაფია;
დ) ქრომატოგრაფია ქაღალდზე.

20. მოთხოვნილება, რომელიც მიუღებელია საკვები(ს) ანტიბიოტიკების მიმართ:
ა) არ უნდა შეიწოვებოდეს კუჭ-ნაწლავის ტრაქტიდან;
ბ) არ უნდა აბინძურებდეს ცხოველური წარმოშობის პროდუქტებს;
გ) უნდა გამოიყენებოდეს მედიცინაში;
დ) არ უნდა ხასიათდებოდეს უნარით გამოუმუშაოს მიკროორგანიზმებს მრავლობითი რეზისტენტულობა.

21. გრამიციდინი C-ს კულტურალური სითხიდან ლექავენ:
ა) ქლორწყალბადმჟავათი;
ბ) ამონიუმის სულფატით;

გ) ეთანოლით.

22. კულტურალური ნიადაგიდან პოლიმიქსინის გამოსაყოფად გამოიყენება:
ა) გელ-ფილტრაცია;
ბ) კათიონიტები;
გ) ანიონიტები;
დ) სილიკაგელი.

23. სტრეპტომიცინის სამრეწველო წარმოებისათვის გამოიყენება შტამები, რომლებიც კარგად ვითარდებიან ნიადაგებზე:
ა) სიმინდის;
ბ) ბარდას;
გ) ბამბის;
დ) სოიოს.

24. ცუდად გაწმენდილი სტრეპტომიცინის ტოქსიკურობა უკავშირდება:
ა) პრეპარატში ჰისტამინისმაგვარი ნივთიერებების არსებობას;
ბ) სტრეპტომიცინისაგან ტოქსიკური ნივთიერებების წარმოშობას;
გ) ორგანიზმის ქსოვილებში სტრეპტომიცინის შეღწევის სიჩქარის მომატებას;
დ) ორგანიზმის ქსოვილებში სტრეპტომიცინის შეღწევის სიჩქარის დაქვეითებას და ამის გამო სისხლში მის მიმატებულ შემცველობას.

თავი 9
ამოირჩიეთ სწორი პასუხები

1. იზოელექტრული წერტილი არის:
ა) არის pH, რომლის დროსაც ცილის მოლეკულას არა აქვს მუხტი;
ბ) არის pH, რომლის დროსაც ცილის მოლეკულას აქვს მაქსიმალური მუხტი;
გ) არის pH, რომლის დროსაც ფერმენტს აქვს მაქსიმალური აქტივობა;
დ) არის pH, რომლის დროსაც ფერმენტი აქტივობას კარგავს.

2. პეპტიდური ბმა გადამწყვეტ როლს თამაშობს:
ა) ცილის მოლეკულის პირველადი სტრუქტურის წარმოქმნაში;
ბ) ცილის მოლეკულის მეორადი სტრუქტურის წარმოქმნაში;
გ) ცილის მოლეკულის მესამეული სტრუქტურის წარმოქმნაში;
დ) ცილის მოლეკულის მეოთხეული სტრუქტურის წარმოქმნაში.

3. ვიტამინი PP შედის შემდეგი ფერმენტების არაცილოვან ნაწილში:
ა) ნიკოტინამიდ ადენინ დინუკლეოტიდ (ნად)- დამოკიდებულ დეჰიდროგენაზებში;
ბ) ფოსფორ ადენინ დინუკლეოტიდ (ფად)- დამოკიდებულ დეჰიდროგენაზებში;
გ) გადაამინირების ამინომჟავების;
დ) დეკარბოქსილაზების.

4. ვიტამინი B_{12} შედის ფერმენტის არაცილოვან ნაწილში:
ა) ნიკოტინამიდ ადენინ დინუკლეოტიდ (ნად)- დამოკიდებულ დეჰიდროგენაზებში;
ბ) ფოსფორ ადენინ დინუკლეოტიდ (ფად)- დამოკიდებულ დეჰიდროგენაზებში;
გ) გადაამინირების ამინომჟავების;
დ) დეკარბოქსილაზების.

5. ფერმენტების მიკრობიოლოგიური სინთეზის მეთოდის უპირატესობა მათ მიღებასთან შედარებით ცხოველური ნედლეულიდან:
ა) ნედლეულის ხელმისაწვდომობა;

ბ) წარმოების უსაფრთხოება;
გ) რაცემატის მიღება;
დ) შესაძლებელია სტანდარტიზაციის უფრო ხელმისაწვდომი მეთოდების გამოყენება.

6. ჩირქოვან-ნეკროზული პროცესების დროს გამოყენებული პრეპარატების შემადგენლობაში შედიან ფერმენტები:
ა) ამინოლიზური;
ბ) პროტეოლიზური;
გ) ლიპაზები;
დ) დეჰიდროგენაზები.

7. ამჟამად ფერმენტების წარმოებისათვის გამოიყენება მიკროორგანიზმების სამრეწველო კულტივირების მეთოდი:
ა) ზედაპირული კულტივირება;
ბ) სიღრმული კულტივირება.

8. სორბენტი ცილებისა და ფერმენტების გელ-ფილტრაციული გაწმენდისათვის:
ა) ალუმინის ჟანგი;
ბ) მოლსელექტი;
გ) იონმცვლელი ფისები;
დ) გააქტივებული ნახშირი.

9. ცილებისა და ფერმენტების გელ-ფილტრაციული გაწმენდის მეთოდის მექანიზმი დამყარებულია:
ა) აქტიურ ცენტრებზე სორბციულ-დესორბციულ პროცესებზე;
ბ) სორბენტის ფაზებში ნივთიერების განსხვავებულ ხსნადობაზე;
გ) იონურ ცვლაზე;
დ) მოლეკულურ ,,გაცხრილვაზე".

10. კულტურალური ნიადაგიდან ფერმენტების გამოყოფისა და მათი გაწმენდისათვის არ გამოიყენება:
ა) ექსტრაქცია;
ბ) სორბციული პროცესები;
გ) დალექვა (გამომარილება);
დ) წყლის ორთქლით გამოხდა.

11. გამოთქმა, რომელიც შეესატყვისება ცნებას „იმობილიზებული ფერმენტები":
ა) ფერმენტები, რომლებიც ინარჩუნებენ აქტივობას pH-ის ფართო დიაპაზონში;
ბ) ფერმენტები, რომლებიც დიდხანს ინარჩუნებენ თავიანთ სტრუქტურას და აქტიურობას.

12. ფერმენტების იმობილიზაციის ქიმიური მეთოდი:
ა) მატარებელსა და ფერმენტს შორის კოვალენტური ბმების წარმოშობა;
ბ) ფერმენტის ჩართვა მიკროკაფსულაში;
გ) ფერმენტის ჩართვა პოლიმერულ გელში;
დ) ფერმენტის ჩართვა პოლიმერის ბოჭკოში.

13. ბმა, რომელიც არ მონაწილეობს ცილის პირველადი სტრუქტურიდან ალფა-სპირალის წარმოქმნაში:
ა) პეპტიდური ბმა;
ბ) წყალბადური ბმა;
გ) იონური ურთიერთქმედებები;
დ) ვან-დერ-ვაალსის ურთიერთქმედებები.

14. კოფერმენტის ქიმიური ბუნება:
ა) მეტალის იონები;

ბ) ვიტამინები;
გ) ნუკლეოტიდები;
დ) ოლიგოსაქარიდები.

15. α-სპირალის ერთი ხვიის წარმომშობი ამინომჟავური ნაშთის სიდიდე:
ა) 0,54 ამინომჟავა;
ბ) 5,4 ამინომჟავა;
გ) 0, 36 ამინომჟავა;
დ) 3,6 ამინომჟავა.

16. რომელი მახასიათებელი არ მიეკუთვნება ცილების ხსნარებს:
ა) მაღალმოლეკულური ნივთიერებების ხსნარები;
ბ) ტინდალის კონუსი;
გ) შუქგაფანტვა;
დ) სინათლის სხივის გარდატეხა.

17. გელ-ფილტრაცია არის მეთოდი:
ა) ცილების გამომარილების;
ბ) გამხსნელის ხსნარისაგან გამოყოფის;
გ) ცილის მუხტის განსაზღვრის;
დ) ცილების ფრაქციონირების.

18. პროტეომიკა ახასიათებს მიკრობული პათოგენის მდგომარეობას:
ა) ფერმენტაციული აქტივობის შესახებ;
ბ) ზრდის სიჩქარის შესახებ;
გ) ცალკეული ცილის ექსპრესიის შესახებ;
დ) ზრდის ციკლის კონკრეტულ სტადიაზე ყოფნის შესახებ.
19. პათოგენურ მიკროორგანიზმში გენები house keeping ექსპრესირდება:
ა) მასპინძლის ინფიცირებულ ორგანიზმში;
ბ) ყოველთვის;
გ) მხოლოდ ხელოვნურ საკვებ ნიადაგებზე;
დ) ინდუქტორების ზეგავლენით.

20. სოკოს უჯრედებისაგან პროტოპლასტების მისაღებად იყენებენ:
ა) ლიზოციმს;
ბ) „ლოკოკინას ფერმენტს“;
გ) ტრიფსინს;
დ) პეფსინს.

21. ბაქტერიული უჯრედისაგან პროტოპლასტების მისაღებად იყენებენ:
ა) ლიზოციმს;
ბ) „ლოკოკინას ფერმენტს“;
გ) ტრიფსინს;
დ) პეფსინს.

22. ბიოსინთეზისა და ორგსინთეზის პროდუქტების გამოყოფა და გაწმენდა ერთმანეთისაგან პრინციპულად განსხვავდებიან პროცესის რომელ სტადიაზე:
ა) ყველა სტადიაზე;
ბ) ბოლო სტადიაზე;
გ) პირველ სტადიაზე;
დ) არ განსხვავდებიან პრინციპულად არც ერთ სტადიაზე.

23. სტეროიდების ფერმენტაციული ბიოკონვერსიის ძირითადი უპირატესობები ქიმიურ ტრანსფორმაციასთან შედარებით:
ა) რეაგენტების ხელმისაწვდომობა;
ბ) სტეროიდის განსაზღვრულ ფუნქციურ ჯგუფზე ზემოქმედების არჩევითობა;
გ) პროცესის მიმდინარეობის დროის შეკვეცა;
დ) პრინციპულად ახალი ნაერთების მიღება.

24. ფერმენტი ლიგაზა, რომელიც გენეტიკურ ინჟინერიაში გამოიყენება:
ა) მიამაგრებს ვექტორს მასპინძელი უჯრედის გარსზე;
ბ) ახდენს ვექტორის ჩართვის რეაქციის კატალიზს მასპინძელი უჯრედის ქრომოსომაში;
გ) ახდენს დნმ-გენაზის ნახშირწყლოვან-ფოსფორული ჯაჭვის კოვალენტურ შეკავშირებას დნმ-ვექტორთან;
დ) ახდენს პეპტიდური ხიდაკების შერთვის კატალიზს უჯრედული კედლის პეპტიდოგლიკანში.

25. ინდივიდუალური ფერმენტების იმობილიზაცია იზღუდება:
ა) როცა ფერმენტს აქვს კოფერმენტი;
ბ) როცა ფერმენტს აქვს ქვეერთეულები;
გ) იმით, ეკუთვნის თუ არა ფერმენტი ჰიდროლაზებს;
დ) ფერმენტის კატალიზური აქტივობით.

26. სამკურნალო ნივთიერებების პროდუცენტი მთლიანი უჯრედის იმობილიზაცია არაა რაციონალური შემდეგ შემთხვევაში:
ა) სამკურნალო ნივთიერების მაღალი ლაბილურობის დროს;
ბ) თუ სამკურნალო ნივთიერება გამოიყენება საინექციო წამლის ფორმის მოსამზადებლად;
გ) თუ სამკურნალო ნივთიერება ლოკალიზდება უჯრედის შიგნით;
დ) სამკურნალო ნივთიერების დიდი ჰიდროფილურობის შემთხვევაში.

27. ბიოტექნოლოგიურ მრეწველობაში ფერმენტის იმობილიზაციის მიზნები:
ა) აქტივობის ამაღლება;
ბ) სტაბილურობის ამაღლება;
გ) სუბსტრატული სპექტრის გაფართოება;
დ) მრავალჯერადი გამოყენება.

28. ცილოვანი სამკურნალო სუბსტანცია მოთავსებულია იმობილიზებული უჯრედის შიგნით. სისტემის დაურღვევლად უნდა მივაღწიოთ მის იმობილიზაციას შემდეგი მეთოდით:
ა) გავაძლიეროთ აქტიური გამოყოფის სისტემა;
ბ) დავასუსტოთ მემბრანის ბარიერული ფუნქციები;
გ) ცილას მივუერთოთ ლიდერული თანმიმდევრობა შიდა ცილიდან;
დ) გავადიდოთ ცილის სინთეზის სიჩქარე.

29. იმობილიზებულ ბიოობიექტებზე დამყარებული ბიოტექნოლოგიური წარმოების ეკონომიკური უპირატესობა ტრადიციულთან შედარებით განპირობებულია:
ა) შრომის ნაკლები დანახარჯებით;
ბ) უფრო იაფი ნედლეულით;
გ) ბიოობიექტის მრავალჯერადი გამოყენების შესაძლებლობით;
დ) საწარმოო პროცესის სიჩქარით.

30. ტერმინი „მულტფერმენტული კომპლექსი“ ნიშნავს:
ა) ფერმენტული ცილების ნარევს, რომელიც უჯრედიდან ექსტრაქციითა და დალექვით გამოიყოფა;
ბ) ფერმენტის უჯრედული მემბრანების კომპლექსს;
გ) პირველადი ან მეორადი მეტაბოლიზმის კატალიზის ფერმენტების კომპლექსს;
დ) ეგზო-და ენდოპროტეაზების კომპლექსს.

თავი 10

ამოირჩიეთ სწორი პასუხები:

1. მიკროორგანიზმები, რომელთაც ადამიანის სიცოცხლის განმავლობაში გვხვდება მის ორგანიზმში:

*ა) ტრანზიტორული - ორგანიზმში ხანგრძლივად ყოფნის უუნარო;

*ბ) უდავოდ სარგებლიანი;

*გ) პირობით-პათოგენური;

*დ) ინფექციური დაავადებების გამომწვევები.

2. ნაწლავის ნორმოფლორის დადებით ფუნქციებს მიეკუთვნება ყველა ფუნქცია, გარდა:

ა) მიკრობთაშორისი ანტაგონიზმი და იმუნური სისტემის აქტივაცია;

ბ) სინთეზისა და დეტოქსიკაციის;

გ) მიმოცვლითი;

*დ) ორგანიზმში ქსენობიოტიკების კონცენტრირება და შენარჩუნება;

ე) საჭმლის მომნელებელი.

3. დისბაქტერიოზის გამომწვევ მიზეზებს მიეკუთვნება:

ა) რაციონში საკვები ბოჭკოების გამოყენება;

*ბ) იმუნური დარღვევები, სომატური და ინფექციური დაავადებები;

*გ) კვების დარღვევა და მედიკამენტოზური ზემოქმედება;

დ) საკვებში რძისმჟავა პროდუქტების გამოყენება.

4. ეუბიოტიკები (პრობიოტიკები) ეს არის:

ა) დახოცილი მიკროორგანიზმები;

*ბ) სპეციალურად შერჩეული ცოცხალი მიკროორგანიზმები;

დ) ფერმენტული პრეპარატები, რომლებიც აუმჯობესებენ საჭმლის მონელებას;

ე) საკვები დანამატი.

5. ეუბიოტიკების შესაქმნელ მიკროორგანიზმებს უნდა ჰქონდეთ:

*ა) ანტიბიოტიკების მიმართ გამძლეობა;

*ბ) ანტაგონისტური აქტივობა;

გ) ადჰეზიის თვისებები;

*დ) ზრდის საკმარისი სიჩქარე.

6. ნორმოფლორის პრეპარატებისათვის საერთო არის:

ა) მომზადების წესი;

ბ) შეყვანის პარენტერალური ხერხი;

გ) წარმოების პირობები;

დ) ბიოლოგიური აქტიურობა.

7. ეუბიოტიკების პრეპარატებს უშვებენ:

ა) ტაბლეტების სახით,

ბ) სითხოვანი წამლის ფორმების სახით(უფრო იშვიათად);

გ) ამპულებში ან/და ფლაკონებში ლიოფილიზებული მასის სახით;

დ) პაკეტებში (სოშეტებშისოშეტები 10-50 მლ ტევადობის ფლაკონებს ეწოდება ინგლ.);

8. ლაქტობაქტერინის ამპულების წარმოების პროცესის ხანგრძლივობა (დღე-ღამეს) შეადგენს:

ა) 2;

ბ) 5;

გ) 7;

დ) 42 .

9. ლიოფილური შრობა არის:
ა) გაყინული მასალის შრობა ვაკუუმში;
ბ) შრობა ატმოსფერულ წნევაზე;
გ) ადსორბენტების დახმარებით შრობა.

თავი 11.

1. სამკურნალო მცენარეების უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურა პირველად მიიღეს:
ა) XX საუკუნის დასაწყისში;
ბ) XX საუკუნის შუა ხანებში;
გ) XX საუკუნის ბოლოს.

2. სამკურნალო მცენარეების იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების კულტივირების ოპტიმალური პირობები:
ა) ტემპერატურა 10-15^0 C, ჰაერის ფარდობითი ტენიანობა 30-40%;
ბ) ტემპერატურა 25-27^0 C, ჰაერის ფარდობითი ტენიანობა 60-70%;
გ) ტემპერატურა 35-40^0 C, ჰაერის ფარდობითი ტენიანობა 80-90%.

3. მცენარეების იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურების პრაქტიკული მნიშვნელობა:
ა) ციტოლოგიისა და გენეტიკის კვლევის ობიექტია;
ბ) ძვირფასი კულტურული მცენარეების ჯიშების ,,გაჯანსაღება“;
გ) მცენარეთა სახეობები ,,ბანკების“ შექმნა;
დ) მცენარეების სწრაფი კლონალური გამრავლება;
ე) ჯაჭვური ბან-ებების მიღება;
ვ) ყველა ზემოჩამოთვლილი.

4. დაასრულეთ: მცენარეული იზოლირებული უჯრედის თვისებას, გადავიდეს განვითარების პროგრამის შესრულებაზე, რის შედეგადაც კულტივირებადი სომატური უჯრედიდან წარმოიშობა მთლიანი მცენარე, უწოდებენ: ----------

5. საკვებ ნიადაგებს იზოლირებული მცენარეული ქსოვილებისა და უჯრედების გამოზრდისათვის ასტერილებენ:
ა) ბაქტერიოციდული გამომსხივარებით;
ბ) კონსერვანტების გამოყენებით;
გ) ორთქლით - წნევის ქვეშ;
დ) მემბრანულ ფილტრებში გაფილტვრით;
ე) ყველა ზემოჩამოთვლილი მეთოდით.

6. მყარი მატარებლების სახით კალუსური კულტურებისათვის გამოიყენება:
ა) კოლაგენის გელი;
ბ) ჟელატინის გელი;
გ) აგარ-აგარის გელი;
დ) ყველა ზემოჩამოთვლილს.

7. მცენარეთა ქსოვილებისა და უჯრედის კულტურისას გამოყენებული სელექციის მეთოდები:
ა) პროტოპლასტირება:
ბ) ფიზიკური და ქიმიური მეთოდები;
გ) სპონტანური მუტაციები;
დ) ყველა ზემოჩამოთვლილი.

8. in vitro კულტურაში პირველად შემოტანილი მცენარეული ობიექტები სტერილდება:
ა) გამდინარე ორთქლით *t= 100 ^{0}C;*
ბ) ნაჯერი ორთქლით - წნევის ქვეშ *t= 120 ^{0}C;*
გ) ბაქტერიოციდული გამომსხივარით;
დ) დამუშავებით სადეზინფექციო საშუალებებით;
ე) ყველა ზემოჩამოთვლილი მეთოდით.

9. ტექნოლოგიურ ჰაერს იზოლირებული მცენარეული უჯრედების აერაციისათვის ასტერილებენ:
ა) ბაქტერიოციდული გამომსხივარით;
ბ) გაცხელებით;
გ) გაფილტვრით;
დ) ანტისეპტიკების გამოყენებით.

10. უჯრედული კულტურის გამოზრდით მიღებული მცენარეული ნედლეულის უპირატესობა პლანტაციის ან ველურადმოზარდი მცენარეულ ნედლეულთან შედარებით:
ა) დაბალი ღირებულება;
ბ) სამკურნალო პროდუქტის მაღალი კონცენტრაცია;
გ) სტანდარტულობა;
დ) სამკურნალო პროდუქტის უფრო ადვილი გამოწვლილვის შესაძლებლობა.

11. აუქსინები - ესაა ტერმინი, რომლის ქვეშაც ერთიანდებიან:
ა) მცენარეული უჯრედების;
ბ) ცხოველური უჯრედების;
გ) ეუბაქტერიების;
დ) აქტინომიცეტების - **სპეციფიკური ჰორმონები (ზრდის სტიმულატორები).**

12. „შიშველი პროტოპლასტები“ ეს არის:
ა) კალუსური კულტურა;
ბ) უჯრედული სუსპენზია თხევად საკვებ ნიადაგში;
გ) უგარსო უჯრედები;
დ) ჩანასახები.

13. სხვადასხვა დედისეული უჯრედების პროტოპლასტების შერწყმით მიღებულ ჰიბრიდებს ეწოდება:
ა) ჰომოკარიოტები;
ბ) ჰეტეროკარიოტები;
გ) ზიგოტები;
დ) მუტანტები.

14. რომელია იზოლირებული პროტოპლასტების ყველაზე ლმობიერი მეთოდი?
ა) ელექტრული დენის ზემოქმედება;
ბ) მაგნიტური დასხივება;
გ) მექანიკური ზემოქმედება;
დ) ფერმენტების ნარევის გამოყენება.

15. მცენარეული უჯრედებიდან იზოლირებული პროტოპლასტების მისაღებად გამოიყენება ფერმენტები:
ა) ლიზოციმი;
ბ) ტრიფსინი;
გ) პექტინაზა;
დ) ცელულაზა.

16. პროტოპლასტების სუსპენზიაში შეტანილი პოლიეთილენგლიკოლი:
ა) ხელს უწყობს მათი შერწყმის თავიდან აცილებას;
ბ) ხელს უწყობს მათ შერწყმას;
გ) თავიდან აგვაცილებს მიკრობულ კონტამინაციას;
დ) ასრულებს კონსერვანტის როლს.

17. დაასრულეთ: უჯრედების დიფერენციაცია და ორგანოგენეზი იზოლირებული მცენარეული უჯრედებიდან მთელი მცენარის რეგენერაციის დროს რეგულირდება ----------

ტესტები ფინალური ტესტირებისათვის

1.
გენომიკის, როგორც სამეცნიერო დისციპლინის, წარმოშობას დასაბამი მისცა:
ა) დნმ-ის სტრუქტურის დადგენამ;
ბ) გენის კონცეფციის შექმნამ;
*- გენის რეგულატორული და სტრუქტურული უბნების გამოყოფამ;
დ) რიგ ორგანიზმებში გენის სრულმა სეკვენირებამ.
2.
პათოგენურ ორგანიზმში გენის არსებითობა -კოდირებული გენომი აუცილებელი პროდუქტია:
ა) უჯრედის გამრავლებისათვის; ?
*- ცხოველმოქმედების შენარჩუნებისათვის;
გ) ქსოვილში ინვაზიისათვის;
დ) ანტიმიკრობული ნივთიერების ინაქტივაციისათვის.
3.
გენები house keeping პათოგენურ ორგანიზმებში ექსპრესირდება:
ა) მასპინძლის დაინფიცირებულ ორგანიზმში.
*- ყოველთვის;
გ) მხოლოდ ხელოვნურ საკვებ ნიადაგებზე;
დ) ინდუქტორების გავლენით.
4.
პროტეომიკა ახასიათებს მიკრობული პათოგენის მდგომარეობას:
ა) ფერმენტატიული აქტივობის მიხედვით;
ბ) ზრდის სიჩქარის მიხედვით;
*-ცალკეული ცილების ექსპრესიის მიხედვით;
დ) ზრდის ციკლის კონკრეტულ სტადიაზე ყოფნის მიხედვით.
5.
სოკოს უჯრედებიდან პროტოპლასტის მისაღებად იყენებენ:
ა) ლიზოციმს;
ბ) ტრიფსინს;
*-ლოკოკინას ფერმენტს;
დ) პეფსინს.
6.
მიკრობული უჯრედიდან პროტოპლასტების წარმოშობაზე დაკვირვებისათვის შეიძლება გამოვიყენოთ მეთოდი:
ა) ვისკოზიმეტრია;

ბ) კოლორიმეტრია;
*ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპია;
დ) ელექტრონული მიკროსკოპია.
7.
ბაქტერიული უჯრედიდან პროტოპლასტების მისაღებად გამოიყენება:
*ლიზოციმი;
ბ) ლოკოკინას ფერმენტი;
გ) ტრიფსინი;
დ) პეფსინი.
8.
სხვადასხვა სახეობისა და გვარის უჯრედების გენომების გაერთიანება შესაძლებელია სომატური ჰიბრიდიზაციის დროს:
ა) მხოლოდ ბუნებრივ პირობებში;
*მხოლოდ ხელოვნურ პირობებში;
გ) ბუნებრივ და ხელოვნურ პირობებში.
9.
პროტოპლასტების მაღალ სტაბილურობას აღწევენ შენახვისას:
ა) სიცივეში;
* ჰიპერტონულ არეში;
გ) ანტიბიოტიკებიან არეში;
დ) ანაერობულ პირობებში.
10.
პროტოპლასტების სუსპენზიაში შეტანილი პოლიეთილენგლიკოლი (პეგ):
* ხელს უწყობს მათ შერწყმას (შეერთებას);
ბ) ხელს უშლის მათ შერწყმას;
გ) ადიდებს სუსპენზიის სტაბილურობას;
დ) ხელს უშლის მიკრობულ დასნებოვნებას.
11.
პროტოპლასტირებისათვის ყველაზე შესაფერისია სუსპენზიური კულტურები:
ა) ლაგ-ფაზაში;
ბ) აჩქარებული ზრდის ფაზაში;
*ლოგარითმულ ფაზაში;
დ) შენელებული ზრდის ფაზაში;
ე) სტაციონარულ ფაზაში;
ვ) კვდომის ფაზაში.
12.
პროტოპლასტების ჰიბრიდიზაცია შესაძლებელია:
ა) სქესობრივი შეთავსებულობისას;
ბ) სქესობრივი შეუთავსებლობისას;
* შეთავსებულობას არა აქვს არსებითი მნიშვნელობა.
13.
გენურ-ინჟინრული ინსულინის უპირატესობაა:
ა) მაღალი აქტიურობა;
* ნაკლები ალერგენულობა;
გ) ნაკლები ტოქსიკურობა;
დ) მაღალი სტაბილურობა.
14.
მიკრობიოლოგიური სინთეზით ადამიანის სახეობრივსპეციფიკური ცილების მიღების უპირატესობაა:
ა) აღჭურვილობის სიმარტივე;
ბ) ეკონომიურობა;
გ) დეფიციტური ნედლეულის უქონლობა;
* ეთიკური პრობლემებისაგან განთავისუფლება.

15.
რეკომბინანტული ერითროპოეტინის მიღების დამუშავებული ტექნოლოგია დამყარებულია გენის ექსპრესიაზე:
ა) ბაქტერიის უჯრედებში;
ბ) საფუვრების უჯრედებში;
გ) მცენარეულ უჯრედებში;
*ცხოველურ უჯრედულ კულტურაში.
16.
პეპტიდური ფაქტორებისა და ქსოვილების ზრდის თავისებურებებს წარმოადგენენ:
ა) ქსოვილოვანი სპეციფიკურობა;
ბ) სახეობრივი სპეციფიკურობა;
გ) შინაგანი სეკრეციის ჯირკვლებით წარმოშობა;
*წარმოქმნა არა შინაგანი სეკრეციის ჯირკვლებში.
17.
RIA-ს უპირატესობა ინსულინის განსაზღვრის მეთოდთან შედარებით ცხოველების სისხლში გლუკოზის კონცენტრაციის აფეთქების მიხედვით:
ა) ანალიზის ნაკლები ღირებულება;
ბ) დეფიციტური რეაგენტები არაა საჭირო;
გ) ათვისება მარტივია;
*ანალიზის შედეგებზე არა აქვთ გავლენა სხვა ცილებს;
ე) ანალიზი დროის ხანგრძლივობა.
18.
გენურ-ინჟინრული ინსულინის ხარისხის შეფასებისათვის განსაკუთრებით დიდი ყურადღება უნდა მიექცეს ტესტს:
ა) სტერილობაზე;
ბ) ტოქიკურობაზე;
გ) ალერგიულობაზე;
*პიროგენობაზე.
19.
ერითრომიცინის, აზიტრომიცინის, როქსიტრომიცინის, კლარიტრომიცინის ნახევრადსინთეზური წარმოებულების უპირატესობა ბუნებრივ ანტიბიოტიკებთან შედარებით განპირობებულია:
ა) ნაკლები ტოქსიკურობით;
ბ) ბაქტერიოციდულობით;
*უჯრედშიგნით ლოკალიზებულ პარაზიტების წინააღმდეგ აქტიურობით;
დ) სოკოებზე მოქმედებით.
20.
ანტიბიოტიკი პათოგენის უჯრედში თვითპრომოტირებადი შეღწევით:
ა) ბეტა ლაქტამური;
*ამინოგლიკოზიდური;
გ) მაკროლიდური;
დ) გლიკოპეპტიდური.
21.
სიმსივნის საწინააღმდეგო აგენტების მიმართ სიმსივნეების მრავლობითი რეზისტენტობის გამოვლინება განპირობებულია:
ა) მემბრანის შეუღწევადობით;
ბ) ფერმენტატიული აქტივაციით;
გ) უჯრედშიგა სამიზნეების მსგავსების შემცირებით;
*აქტიური გამოყოფით (გამოტანით) выброс.
22.
პოლისინთეტიკური ამინოგლიკოზიდის ამიკაცინის პრაქტიკული მნიშვნელობა განპირობებულია:
ა) აქტივობით ანაერობული პათოგენების წინააღმდეგ;
ბ) ნეფროტოქსიკურობის არარსებობით;

*ბაქტერიების დამცავი ფერმენტების მიმართ მდგრადობით, რომლებიც ინაქტივაციას უკეთებენ სხვა ანტიბიოტიკებს;
დ) აქტივობით პათოგენური სოკოების წინააღმდეგ.
23.
პოლიენების - ნისტატინისა და B ამფოტერცინის სოკოებზე და არა ბაქტერიებზე აიხსნება:
ა) სოკოებში რიბოსომების თავისებურებებით;
ბ) მიტოქონდრიების არსებობით;
გ) უჯრედის კედელში ქიტინის არსებობით;
*მემბრანაში ერგოსტერინის არსებობით.
24.
პოლიენების - ნისტატინისა და B ამფოტერცინის ფუნგიციდურობა გამოწვეულია:
ა) დნმ-თან ურთიერთქმედებით;
ბ) ლიტიკური ფერმენტების აქტივაციით;
*მემბრანაში წყლის არხების ფორმირებით და უჯრედის მიერ დაბალმოლეკულური მეტაბოლიტებისა და არაორგანული იონების დაკარგვით;
დ) ელექტრონული ტრანსპორტის სისტემების დათრგუნვა.
25.
ამინოგლიკოზიდების პროდუცენტების დაცვა საკუთარი ანტიბიოტიკისაგან:
ა) რიბოსომების დაბალი მსგავსება;
ბ) აქტიური გამოყოფა;
*დროებითი ფერმენტატიული ინაქტივაცია;
დ) კომპარტმენტაცია.
26.
სიგნალური ტრანსდუქცია ეს არის:
*სიგნალის გადაცემა უჯრედის მემბრანიდან გენომზე;
ბ) ცილის სინთეზის ინიციაცია;
გ) ცილის პოსტტრანსლაციური ცვლილებები;
დ) ლიტიკური (დამშლელი) ფერმენტების გამოყოფა.
27.
მიკროორგანიზმების მეორადი მეტაბოლიტებიდან სიგნალური ტრანსდუქციის ინჰიბიტორებს წარმოადგენს:
ა) სტრეპტომიცინი;
ბ) ნისტატინი;
*ციკლოსპორილი A;
დ) ერითრომიცინი.
28.
ტრანსფერაზები ახორციელებენ:
ა) ჟანგვა-აღდგენითი რეაქციის კატალიზს;
ბ) ფუნქციონალური ჯგუფების წყლის მოლეკულაზე გადატანის რეაქციების კატალიზს;
გ) ორმაგი ბმებით შეერთების რეაქციების კატალიზს;
*ფუნქციონალური ჯგუფების სუბსტრატზე გადატანის რეაქციების კატალიზს.
29.
მეოთხე თაობის ცეფალოსპორინი, რომელიც გამძლეა გრამუარყოფითი ბაქტერიების ბეტალაქტამაზების მიმართ:
ა) ცეფალექსინი;
ბ) ცეფაზოლინი;
*ცეფპირომი:
დ) ცეფაკლორი.
30.
მეოთხე თაობის ცეფალოსპორინი, რომელიც გამძლეა გრამდადებითი ბაქტერიების ბეტალაქტამაზების მიმართ:
ა) ცეფაზოლინი;

ბ) ცეფტრიაქსონი;
გ) ცეფალორიდინი;
*- ცეფეპიმი.
31.
პენიცილინაცილაზა გამოიყენება:
ა) პენიცილინის ქარხნული სერიების სტერილურობის შემოწმების დროს;
ბ) რეზისტენტული ბაქტერიების წინააღმდეგ პენიცილინური სტრუქტურების ეფექტურობის შეფასებისას;
*- ნახევრადსინთეზური პენიცილინების მიღების დროს;
დ) პენიცილინზე ალერგიული რეაქციის მოსახსნელად.
32.
პენიცილინაცილაზა აკატალიზებს:
ა) ბეტალაქტამური რგოლის გაწყვეტას;
ბ) თიაზოლიდინის რგოლის გაწყვეტას;
*- გვერდითი რადიკალის მოხლეჩას C_6-თან;
დ) თიაზოლიდინური რგოლის დემეთილირება.
33.
წარმოებაში მონოკლონალური ანტისხეულები მიიღება:
ა) ორგანიზმის ანტისხეულების ფრაქციონირებით;
ბ) ლიმფოციტების ფრაქციონირებით;
*- ჰიბრიდების დახმარებით;
დ) ქიმიური სინთეზით.
34.
ბიოობიექტების უჯრედში ფიზიკური და ქიმიური მუტაგენების სამიზნეს წარმოადგენს:
*- დნმ;
ბ) დნმ-პოლიმერაზა;
გ) რიბოსომა
დ) საინფორმაციო რნმ.
35.
აქტიური ლამი, რომელიც გამოიყენება ბიოტექნოლოგიური წარმოების ჩასადინარის(ჩანარეცხების) გაწმენდისათვის, ესაა:
ა) სორბენტი;
ბ) სორბენტების ნარევი;
გ) გენურ-ინჟინრული მეთოდით მიღებული მიკროორგანიზმების ნარევი;
*- მიკროორგანიზმების ბუნებრივი კომპლექსი.
36.
საწარმოო ჩასადინარის გაწმენდისათვის გაცხოველებული მუშაობის საათებში, გამოიყენება:
ა) ბუნებრივი მიკროორგანიზმები;
ბ) აქტიური ლამის მუდმივი კომპონენტები;
გ) სტაბილური გენურ-ინჟინრული შტამები;
*- არასტაბილური გენურ-ინჟინრული შტამები.
37.
შტამ-დესტრუქტორების მუდმივი ყოფნა აეროტენკებში ნაკლებეფექტურია ; მათი პერიოდული შეყვანა კომერციული წარმოებისას გამოწვეულია(აეროტენკი არის გამწმენდი მოწყობილობა ან რეზერვუარი, რომელიც გამოიყენება ჩასადინარის გასაწმენდად მათი ბაქტერიებით დაჟანგვის საშუალებით; ეს ბაქტერიები იმყოფებიან იმ ფენაში, სადაც მიეწოდება გაზი):
ა) მათი გამრავლების დაბალი სიჩქარით;
ბ) აქტიური ლამის მიკროფლორის წარმომადგენლების მიერ მათი გამოძევებით;
*- პლაზმიდების დაკარგვით, სადაც ლოკალიზებულია დამჟანგავი ფერმენტების გენები;
დ) უსაფრთხოების ტექნიკის პრობლემებით.
38.
ფერომონების ფუნქციებია:

ა) ანტიმიკრობული აქტიურობა;
ბ) ანტივირუსული აქტიურობა;
*- იმ ორგანიზმის ნირის შეცვლა, რომელსაც აქვს სპეციფიკური რეცეპტორი;
დ) ტემპერატური მარეგულირებელი აქტიურობა;
ე) სიმსივნის საწინააღმდეგო აქტიურობა.
39.
ბიოსინთეზისა და ორგეინთეზის პროდუქტების გამოყოფა და გაწმენდა პრინციპულად განსხვავდებიან პროცესის შემდეგ სტადიაზე:
ა) ყველა;
ბ) ბოლო;
*-პირველ;
დ) პრინციპული განსხვავება არ არის.
40.
სტეროიდების ფერმენტაციული ბიოკონვერსიის ძირითად უპირატესობას ქიმიური ტრანსფორმაციის წინაშე, წარმოადგენს:
ა) რეაგენტების მისაწვდომობა;
*- სტეროიდების განსაზღვრულ ფუნქციონალურ ჯგუფზე შერჩევითი ზემოქმედება;
გ) პროცესის დროის შემცირება;
დ) პრინციპულად ახალი შენაერთების მიღება.
41.
სტეროიდის ბიოტრანსფორმაციისას მიზნობრივი პროდუქტის გამოსავლის გაზრდა მიიღწევა:
ა) მორევის ინტენსივობის ამაღლებით;
ბ) აერაციის ინტენსივობის ამაღლებით;
გ) ფერმენტაციის ტემპერატურის მომატებით;
დ) მიკრობული კონტამინაციის გამორიცხვით;
*- სტეროიდული სუბსტრატის კონცენტრაციის ამაღლებით საფერმენტაციო ნიადაგში;
ვ) სტეროიდული სუბსტრატის ქიმიური სტრუქტურის მიზანმიმართული შეცვლით.
42.
სათანადო საწარმოო პრაქტიკის (GMP) მოთხოვნების თანახმად ფარმაცევტული წარმოების დირექტორი უნდა იყოს:
ა) ინჟინერ-ეკონომისტი;
ბ) იურისტი;
*- ფარმაცევტი, უმაღლესი განათლებით;
დ) ექიმი.
43.
GMP-ის წესები ითვალისწინებს ცალკე სათავსში და ცალკე აპარატურაზე წარმოებას:
*-პენიცილინებისას;
ბ) ამინოგლიკოზიდებისას;
გ) ტეტრაციკლინებისას;
დ) მაკროლიდებისას;
ე) პოლიენებისას.
44.
GMP-ს წესების თანახმად, ბეტალაქტამების გადამუშავება პრეპარატების მისაღებად უნდა მოხდეს ცალკე სათავსში, შემდეგი თვისების გამო:
ა) საერთო ტოქსიკურობა;
ბ) ქრონიკული ტოქსიკურობა;
*- ემბრიოტოქსიკურობა;
დ) ალერგიულობა.
45.
GLP არეგლამენტირებს:
ა) ლაბორატორიულ გამოკვლევებს;
ბ) საძიებო სამუშაოების დაგეგმვას;

*- ტესტების (სინჯების) აღებას კლინიკამდელი გამოკვლევებისას;
დ) მონაცემთა მათემატიკური დამუშავების მეთოდებს.
46.
GCP-ის თანახმად, ეთიკური კომიტეტების ვალდებულებაში შედის:
ა) სამკურნალო-პროფილაქტიკური დაწესებულებების სანიტარული მდგომარეობის კონტროლი;
*- იმ ავადმყოფთა უფლებების დაცვა, რომლებზეც გამოიცდება სამკურნალწამლო პრეპარატები;
გ) მკურნალობის დანიშნული რეჟიმების დამტკიცება;
დ) შინაგანაწესის დაცვაზე კონტროლი.
47.
ადამიანის გენის პროკარიოტის უჯრედში უშუალო ექსპრესიის შეუძლებლობის მიზეზი:
ა) ნუკლეაზების მაღალი კონცენტრაცია;
ბ) პლაზმიდების რეპლიკაციის შეუძლებლობა;
გ) ტრანსკრიპციის არარსებობა;
*- სპლაისინგის შეუძლებლობა.
48.
უცხო დნმ-ის პირდაპირი გადატანა პროტოპლასტებში შესაძლებელია შემდეგი ფაქტორის დახმარებით:
ა) მიკროინექციით;
ბ) ტრანსფორმაციით;
*- ლიპოსომაში შეფუთვით;
დ) პროტოპლასტების კულტივირებით შესაბამის საკვებ ნიადაგებში.
49.
გენური ინჟინერის მიერ გამოყენებული რესტრიქტაზების სუბსტრატია:
ა) ჰომოპოლისაქარიდი;
ბ) ჰეტეროპოლისაქარიდი;
გ) ნუკლეინის მჟავები;
დ) ცილები.
50.
გენეტიკურ ინჟინერიაში გენი-მარკერი აუცილებელია:
ა) ვექტორის ჩასანერგად მასპინძლის უჯრედში;
*- კოლონიების გადასარჩევად, რომლებიც იმ უჯრედების მიერ წარმოიქმნება, სადაც შეაღწია ვექტორმა;
გ) მუშა-გენის ვექტორში ჩასანერგად;
დ) ვექტორის სტაბილურობის ასამაღლებლად.
51.
ცნება „მწებვარე ბოლოები“ გენეტიკურ ინჟინერიაში გამოიყენება შემდეგის აღსანიშნავად:
*- ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების კომპლემენტარობის;
ბ) ნუკლეინის მჟავებისა და ჰისტონების ურთიერთქმედების;
გ) SH-ჯგუფების ურთიერთრეაგირების, რომლის დროსაც წარმოიშობა დისულფიდური ბმები;
დ) ლიპიდების ჰიდროფობური ურთიერთქმედების.
52.
ახალი რესტრიქტაზების ძიება გენეტიკურ ინჟინერიაში გამოსაყენებლად, აიხსნება:
ა) კატალიზურ აქტივობაში განსხვავებით;
*- სუბსტრატზე ზემოქმედების განსხვავებული ადგილით;
გ) სახეობრივსპეციფიკურობით;
დ) მაღალი ღირებულებით.
53.
გენეტიკურ ინჟინერიაში უფრო მეტი წარმატებაა მიღწეული რეკომბინანტული ცილების, ვიდრე რეკომბინანტული ანტიბიოტიკების შექმნაში; ეს აიხსნება:
ა) ცილის უფრო მარტივი სტრუქტურით;
ბ) მასპინძლის ნიშნების შეხამება ანტიბიოტიკების სინთეზისათვის;
*- სტრუქტურული გენების დიდი რაოდენობით, რომლებიც ჩართული არიან ანტიბიოტიკების ბიოსინთეზში;
დ) საწარმოო პროცესის უსაფრთხოების პრობლემებით.

54.
ფერმენტი ლიგაზა გენეტიკურ ინჟინერიაში გამოიყენება იმიტომ, რომ:
ა) მიამაგრებს ვექტორს მასპინძელი უჯრედის გარსთან;
ბ) აკატალიზებს ვექტორის ჩანერგვას მასპინძელი უჯრედის ქრომოსომაში;
*** აკატალიზებს კოვალენტურ შეკავშირებას დნმ-გენის ნახშირწყლოვან-ფოსფორულ ჯაჭვსა და დნმ-ვექტორს შორის;
დ) აკატალიზებს პეპტიდური ხიდების შერთვას უჯრედის კედლის პეპტიდოგლიკონში.
55.
ბიოტექნოლოგს გენი-მარკერი სჭირდება:
ა) რეკომბინანტის აქტიურობის ასამაღლებლად;
ბ) კომპეტენტური მასპინძლის უჯრედების წარმოსაქმნელად;
გ) რესტრიქტაზების სუბსტრატთან ურთიერთქმედების ადგილის მოდიფიკაციისათვის;
*** რეკომბინანტების შერჩევისათვის (აღებისათვის).
56.
მიკროორგანიზმ-რეკომბინანტების, რომლებიც პროდუცირებენ ადამიანის ჰორმონებს, გამოყენებაზე შეზღუდვების შესუსტება შესაძლებელი გახდა შემდეგი გარემოების გამო:
ა) გენურ-ინჟინრული რეკომბინანტების გარემოსაგან იზოლირების მეთოდების სრულყოფის გამო;
ბ) რეკომბინანტებთან მომუშავე პერსონალის კვალიფიკაციის ამაღლება;
გ) რეკომბინანტების ექსპერიმენტულად დადასტურებული სუსტი სიცოცხლისუნარიანობის გამო;
*** უცხო გენების გარდაუვალი დაკარგვის ექსპერიმენტულად დადასტურების გამო.
57.
ვექტორი პლაზმიდის ფუძეზე უმჯობესია, ვიდრე ვექტორი ფაგური დნმ-ის ფუძეზე:
ა) დიდი ზომის წყალობით;
ბ) ნაკლები ტოქსიკურობის გამო;
გ) ჩართვის მეტი სიხშირის გამო;
*** მასპინძელ-უჯრედის ლიზისის არარსებობის გამო.
58.
უხსნადი მატარებლის გააქტიურება ფერმენტის იმობილიზაციის შემთხვევაში აუცილებელია:
ა) ფერმენტის გელში ჩართვის გაძლიერებისათვის;
ბ) ფერმენტის სორბციის ამაღლებისათვის;
გ) ფერმენტის აქტივობის ამაღლებისათვის;
*** კოვალენტური ბმის წარმოშობისათვის.
59.
ინდივიდუალური ფერმენტების იმობილიზაცია შეიზღუდება ისეთი გარემოებით, როგორიცაა:
ა) ფერმენტის მაღალი ლაბილობა;
*** ფერმენტს აქვს კოფერმენტი;
გ) ფერმენტს აქვს სუბერთეული;
დ) ფერმენტი ეკუთვნის ჰიდროლაზებს.
60.
სამკურნალო ნივთიერების პროდუცენტი მთელი უჯრედების იმობილიზაცია არარაციონალურია შემთხვევებში:
ა) თუ მიზნობრივ პროდუქტს (სამკურნალო ნივთიერებას) აქვს მაღალი ლაბილობა;
ბ) თუ მიზნობრივ პროდუქტს ვიყენებთ მხოლოდ საინექციო ფორმაში;
*** თუ მიზნობრივ პროდუქტს აქვს უჯრედშიდა ლოკალიზაცია;
დ) თუ მიზნობრივ პროდუქტს აქვს მაღალი ჰიდროფილურობა.
61.
პროდუცენტი უჯრედების იმობილიზაცია მიზანშეწონილია იმ დროს, თუ მიზნობრივი პროდუქტი:
*** იხსნება წყალში;
ბ) არ იხსნება წყალში;
გ) ლოკალიზებულია უჯრედის შიგნით;
დ) მას წარმოადგენს უჯრედების ბიომასა.
62.

ფერმენტების იმობილიზაციის მიზნებს ბიოტექნოლოგიურ წარმოებაში წარმოადგენს:
ა) ხვედრითი აქტივობის ამაღლება;
ბ) სტაბილურობის ამაღლება;
გ) სუბსტრატული სპექტრის გაფართოება;
*მრავალჯერადი გამოყენება.
63.
მიზნობრივი ცილოვანი პროდუქტი ლოკალიზებულია იმობილიზებული უჯრედის შიგნით. სისტემის დაურღვევლად მისი მოპოვება შეიძლება:
ა) აქტიური გამოყოფის სისტემის გაძლიერებით;
ბ) მემბრანის ბარიერული ფუნქციის შესუსტებით;
* ცილასთან ლიდერული თანამიმდევრობის მიერთებით შინაგანი ცილისაგან;
დ) ცილის სინთეზის სიჩქარის ამაღლებით.
64.
სვეტოვანი ბიორეაქტორი მთელი უჯრედის იმობილიზაციისათვის უნდა განსხვავდებოდეს რეაქტორისაგან ფერმენტების იმობილიზაციისათვის:
ა) სვეტის დიდი დიამეტრით;
* გაზების არინებით;
გ) გამხსნელი უფრო ჩქარი მოძრაობით;
დ) უხსნადი მატარებლის ნაწილაკების ფორმით.
65.
ტექნოლოგია, რომელიც დაფუძნებულია ბიოობიექტის იმობილიზაციაზე, ამცირებს სამკურნალწამლო პრეპარატში შემდეგი მინარევების არსებობას:
ა) მძიმე მეტალების კვალის;
* ცილების;
გ) მექანიკური ნაწილაკების;
დ) ორგანული გამხსნელების კვალის.
66.
იმობილიზებულ ბიოობიექტებზე დამყარებული ბიოტექნოლოგიური წარმოების ეკონომიური უპირატესობა ტრადიციულის წინაშე, განპირობებულია:
ა) შრომის ნაკლები დანაკარგებით;
ბ) უფრო იაფი ნედლეულით;
* ბიოობიექტის მრავალჯერადი გამოყენებით;
დ) საწარმოო პროცესის დაჩქარებით.
67.
ბიოსინთეზი ანტიბიოტიკებისა, რომლებიც გამოიყენება, როგორც სამკურნალო ნივთიერება, ძლიერდება და ადრე იწყება შემდეგ ნიადაგზე:
ა) აზოტით მდიდარზე;
ბ) ნახშირბადით მდიდარზე;
გ) ფოსფორით მდიდარზე;
* საკვები ნივთიერებებისაგან გამოფიტულზე.
68.
ბიოსინთეზის პროცესში რეგულირებადი ფერმენტაციის მიღწევა შესაძლებელია შემდეგი ხერხის დროს:
ა) პერიოდულის;
ბ) უწყვეტის;
გ) ჩამოშვება-ჩამატების;
* ნახევრადპერიოდულის.
69.
ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების ბიოსინთეზის დროს საბოლოო პროდუქტით რეტროინჰიბირება არის:
ა) მეტაბოლურ ჯაჭვში უკანასკნელი ფერმენტის დათრგუნვა;
* მეტაბოლურ ჯაჭვში საწყისი ფერმენტის დათრგუნვა;
გ) ყველა ფერმენტის დათრგუნვა მეტაბოლურ ჯაჭვში.

70.
ტერმინი „მულტიფერმენტული კომპლექსი“ აღნიშნავს:
ა) უჯრედებიდან ექსტრაქციისა და დალექვის გზით მიღებულ ფერმენტული ცილების კომპლექსს;
ბ) უჯრედის მემბრანის ფერმენტების კომპლექსს;
*** პირველადი ან მეორადი მეტაბოლიზმის სინთეზის მაკატალიზებელი ფერმენტების კომპლექსს;
დ) ეგზო- და ენდოპროტეაზების კომპლექსს.
71.
პოლიკეტიდური სინთეზის გზით წარმოებს აწყობა მოლეკულის;
*** ტეტრაციკლინის;
ბ) პენიცილინის;
გ) სტრეპტომიცინის;
დ) ციკლოსპორინის.
72.
პენიცილინის წარმოებისას ფერმენტაციის მკვეთრად ამაღლებისათვის გამოიყენება საკვები ნიადაგის კომპლექსური კომპონენტი:
ა) სოიოს ფქვილი;
ბ) ბარდას ფქვილი;
*** სიმინდის ექსტრაქტი;
დ) ბამბის ფქვილი.
73.
პენიცილინის წინამორბედი, რომელიც ნიადაგში მისი ჩამატებისას მკვეთრად ადიდებს პროდუქტის გამოსავალს:
ა) ბეტადიმეთილცისტეინი;
ბ) ვალინი;
*** ფენილძმარმჟავა;
დ) ალფა-ამინოადიპინის მჟავა.
74.
პენიცილინის ბიოსინთეზის დროს წინამორბედს (გამძღოლს) უმატებენ:
ა) ფერმენტაციის დასაწყისში;
*** ფერმენტაციის დაწყებიდან მეორე-მესამე დღეს;
გ) ყოველდღე 5-დღიანი პროცესის განმავლობაში.
75.
ბიოტექნოლოგიური წარმოების ჰაერს ასტერილებენ:
ა) გახურებით;
*** გაფილტრვით;
გ) დასხივებით.
76.
ანტიბიოტიკების წარმოებაში ფერმენტაციის საამქროებში ფაგურ ინფექციებთან ბრძოლა უფრო რაციონალურია შემდეგი გზით:
ა) ტექნოლოგიური ჰაერის სტერილიზაციის კონტროლის გამკაცრებით;
ბ) საკვები ნიადაგის სტერილიზაციის კონტროლის გამკაცრებით;
*** ბიოობიექტის ფაგგამძლე შტამების მიღება და გამოყენება;
დ) კონტროლის გამკაცრება აღჭურვილობის სტერილიზაციაზე.
77.
მცენარეული ნედლეულის უპირატესობა, რომელიც მიიღება უჯრედული კულტურების გამოზრდით, იმ ნედლეულთან შედარებით, რომელსაც ამზადებენ პლანტაციებში ან ველურადმოზარდი მცენარეებიდან:
ა) მიზნობრივი პროდუქტის მაღალი კონცენტრაცია;
ბ) ნაკლები ღირებულება;
*** სტანდარტულობა;
დ) მიზნობრივი პროდუქტის გამოწვლილვის სიმარტივე.
78.
აუქსინი - ტერმინია, რომლის ქვეშ ერთიანდება ზრდის სპეციფიკური სტიმულატორები:

*- მცენარეული უჯრედებისა;
ბ) აქტინომიცეტებისა;
გ) ცხოველური ქსოვილებისა;
დ) ეუბაქტერიებისა.
79.
კარდენოლიდ დიგიტოქსინის გარდაქმნა უფრო ნაკლებტოქსიურ დიგოქსინად (12 - ჰიდროქსილირება), ხორციელდება უჯრედების კულტურით:
ა) Acremonium chrysogenum;
ბ) Saccharomyces cerevisiae
*-Digitalis lanata;
დ) Tolypocladium inflatum.
80.
ახალი ბეტალაქტამური ანტიბიოტიკური პრეპარატის „უნაზინის“ და „აუგმენტინის“ მაღალეფექტურობის მიზეზია:
ა) ამპიცილინთან და ამოქსაცილინთან შედარებით დაბალი ტოქსიკურობა;
ბ) დაბალი ღირებულება;
*- ბეტა-ლაქტამების მიმართ რეზისტენტულ შტამებზე ზემოქმედების უნარი;
დ) ეფექტის პროლონგაცია.
81.
ახალი ბეტა-ლაქტამური ანტიბიოტიკის რომელი თვისებაა მნიშვნელოვანი აივ-ით დაავადებული ავადმყოფების სამკურნალოდ ბაქტერიული გართულებების დროს:
ა) ბეტალაქტამაზებისადმი მდგრადობა;
ბ) სუსტი ტოქსიკურობა;
*- შეკავშირება პენიცილინშემაკავშირებელ ცილებთან - ПСБ 2-თან;
დ) პროლონგირებული ცირკულაცია.
82.
პენიცილინის სერიული საინექციო რომელი პრეპარატის შემოწმებისათვის გამოიყენება სამედიცინო მრეწველობაში პენიცილინაზა (ბეტალაქტამაზა):
ა) ტოქსიკურობის;
ბ) გამჭვირვალობის;
*- სტერილურობის;
დ) პიროგენულობის.
83.
პათოგენის ანტიბიოტიკოტელერანტულობა განპირობებულია:
ა) ანტიბიოტიკის დაშლით;
ბ) აქტიური გამოდევნით;
*- ავტოლიზინების დაბალი შემცველობით;
დ) ანტიბიოტიკისათვის სამიზნის არარსებობა.
84.
მიკობაქტერიები - თანამედროვე ტუბერკულოზური ინფექციის გამომწვევები - მდგრადნი არიან ქიმიოთერაპიის მიმართ შემდეგი მიზეზით:
*- კომპენსატორული მუტაცია;
ბ) ნელი ზრდა;
გ) უჯრედშიდა განლაგება;
დ) მასპინძლის ორგანიზმის იმუნიტეტის დასუსტება.
85.
მონიტორინგი (წამალთან გამოყენებაში):
ა) ორგანიზმში შეყვანა;
ბ) გამოყოფა;
გ) გამოვლენა ქსოვილებში;
*-კონცენტრაციის ცვლილების დინამიკის კონტროლი ორგანიზმის ბიოლოგიურ სითხეში.
86.

სკრინინგი (წამლების):
ა) სრულყოფა ქიმიური ტრანსფორმაციის გზით;
ბ) სრულყოფა ბიოტრანსფორმაციის გზით;
* ბუნებრივი სტრუქტურების ძიება და გადარჩევა (,,გაცრა“);
დ) სრული ქიმიური სინთეზი.
87.
ტარგეტი:
ა) საიტი უჯრედის ზედაპირზე;
ბ) შუალედური სამიზნე უჯრედის შიგნით;
* უჯრედშიგა ბოლო სამიზნე;
დ) მაკრომოლეკულის ფუნქციონალური ჯგუფი.

ბიოტექნოლოგიაში გამოყენებული ძირითადი ცნებები და ტერმინები

ადაპტორი. 1) სინთეზური ორჯაჭვიანი ოლიგონუკლეიდი ერთი ბლაგვი ბოლოთი და ერთი მწებვარე ბოლოთი. ბლაგვი ბოლოთი ადაპტორის მიკერების შემდეგ დნმ-სამიზნეზე, ეს უკანასკნელი შეიძლება ჩავაშენოთ შესაფერის ვექტორში, გამოვიყენებთ-რა მის მიერ ახლადშეძენილ მწებვარე ბოლოს. 2) სინთეზური ერთჯაჭვიანი ოლიგონუკლეიდი, რომელსაც თვითჰიბრიდიზაციის შემდეგ უჩნდება მწებვარე ბოლოები და შიდა საიტი მარესტრიცირებელი ენდონუკლეაზისათვის. როცა ადაპტორს ჩააშენებენ კლონირებად ვექტორში, ვექტორს უჩნდება რესტრიქციის ახალი საიტი.

ადენინი. პურინული ფუძეა, თიმინისა და ურაცილის კომპლემენტარული. დნმ-სა და რნმ-ში შემავალ აზოტოვან ფუძეთა შორის ერთ-ერთი.

აერობული მიკროორგანიზმები. მიკროორგანიზმები, რომლებიც იზრდებიან მხოლოდ ჟანგბადის არსებობისას.

ავტოლოგიური უჯრედები. უჯრედები, რომლებიც აიღეს მოცემული ორგანიზმიდან, მოახდინეს მათი კულტივაცია, შესაძლებელია, გენეტიკურადაც შეცვალეს და კვლავ შეყვანილი იქნა ორგანიზმ-დონორში.

ავტოსომა. ნებისმიერი ქრომოსომა, რომელიც არ არის სასქესო. ადამიანის სომატურ უჯრედებში არის 22 წყვილი ავტოსომა და ერთი წყვილი სასქესო ქრომოსომა.

ავტოსომური მემკვიდრეობა. რომელიმე ნიშნის სქესთან დაუკავშირებელი (გადაუბმელი) მემკვიდრეობა.

,,აზრობრივსაწინააღმდეგო“ ჯაჭვი. 1) ტრანსკრიბირებადი (კოდირებადი) ჯაჭვი ქრომოსომული დნმ-ის მოლეკულაში. 2) ერთ-ერთი ძაფი დნმ-ის ორჯაჭვიან მოლეკულაში, რომლის ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა კომპლემენტარულია ასეთივესთან, შესაბამის საინფორმაციო რნმ-ში.

ალგინატი. პოლისაქარიდი, რომელიც სხვადასხვა წყალმცენარეებითა და ბაქტერიებით სინთეზირდება; შედგება β-D-მანურონატისა და α-L-გულურონატის (ჰულურონატის) ნაშთებისაგან.

ალელი. გენის ალტერნატიულ სტრუქტურულ ფორმათა შორის ერთი-ერთი ორთაგან (ან რამდენიმეთაგან).

ალოსტერული რეგულაცია. ფერმენტის აქტივობის რეგულაცია - რომელიც ხორციელდება ეფექტორული მოლეკულით, რომელიც უკავშირდება ფერმენტის მოლეკულის აქტიური ცენტრიდან დაცილებული მონაკვეთს.

ალტერნატიული სპლაისინგი.მოცემული გენის ეგზონების სხვადასხვა კომბინაციებით შეერთება საინფორმაციო რნმ-ის განსხვავებული ზრდასრული მოლეკულის წარმოქმნის დროს.

ამინოაცილ-სატრანსპორტო რნმ (ამინოაცილ ტ-რნმ). ტ-რნმ მოლეკულა, რომლის 3` ბოლოზე მიერთებულია სპეციფიკური ამინომჟავა.

ამინოაცილური საიტი ანუ A- საიტი. რიბოსომის მონაკვეთი, რომელიც ამინოცილ-ტ-რნმ-ს აკავშირებს ტრანსლაციის პროცესში.

ამინომჟავა. ცილის მოლეკულების მონომერული ერთეული, ,,სამშენებლო ბლოკი".

ამპლიკონი. ტიპი 1 მარტივი ჰერპესის ვირუსის პლაზმიდური ვექტორი.

ანაერობული მიკროორგანიზმები. მიკროორგანიზმები, რომლებიც იზრდებინა ჟანგვადის გარეშე.

ანტიბიოტიკი. ერთი მიკროორგანიზმის მიერ სინთეზირებული ნივთიერება, რომელიც ახდენს მეორე მიკროორგანიზმისა და კიბოს უჯრედების ინჰიბირებას.

ანტიგენი. ნივთიერება, რომელიც აღიქმება ორგანიზმის მიერ როგორც უცხო და იწვევს სპეციფიკურ იმუნურ პასუხს - ანტისხეულის გამომუშავებას.

ანტიკოდონი. სატრანსპორტო-რნმ-ის მოლეკულაში ნუკლეოტიდების ტრიპლეტი, რომელიც საინფორმაციო რნმ-ს მოლეკულაში სპეციფიკური კოდონის ნუკლეოტიდების კომპლემენტარულია.

ანტიპარალელური ორიენტაცია. ნუკლეინის მჟავების ორჯაჭვიან მოლეკულებში ჯაჭვების დაპირისპირებული მიმართულობა (5'3'და 3' 5).

ანტიშრატი. სისხლის თხევადი კომპონენტი, რომელიც შეიცავს ანტისხეულებს.

ანტისხეული. ცილა (იმუნოგლობულინი), რომელიც B ლიმფოციტების მიერ სინთეზირდება ორგანიზმში სხვადასხვა ანტიგენის მოხვედრის საპასუხოდ.

ანტიფრიზული ცილა. ალანინით მდიდარი ცილა, რომელიც გამომუშავდება ზოგიერთი წყლის ორგანიზმების ღვიძლში და არის სისხლის პლაზმის გაყინვის თავიდან ასაცილებელი. აღმოჩენილია ზოგიერთი მწერის, მცენარის, ბაქტერიის უჯრედებშიც, სადაც იგი არეგულირებს ყინულის კრისტალების წარმოქმნას დაბალ ტემპერატურაზე.

აპტამერი. სინთეზური პოლინუკლეოტიდია, უკავშირდება ცილას, რომელიც ნორმაში არ ურთიერთქმედებს ნუკლეინის მჟავებთან.

ატენუირებული (დასუსტებული) ვაქცინა. ვაქცინა, რომელიც მომზადებულია ამა თუ იმ სახით დასუსტებული მიკროორგანიზმების გამოყენებით.

აქტივატორი. 1) სპეციფიკური გენისა და ოპერონის ტრანსკრიპციის მასტიმულირებელი ნივთიერება.

2) ცილა, რომელიც უკავშირდება ოპერონს და აჩქარებს ტრანსკრიპციას; გამოიყენება ასევე დასახელება ,,აქტივატორული ცილა".

აქტინი. კუნთოვანი ბოჭკოების ცილა; შედის აქტომიოზინის შემადგენლობაში,რომელიც კუნთის ძირითადი სეკრეტორული ცილაა.

აცილგადამტანი ცილა. დაბალმოლეკულური ცილა, უფრო მსხვილი კომპლექსის კომპონენტი, რომელიც მონაწილეობს ცხიმოვანი მჟავებისა და პოლიკეტიდების ბიოსინთეზში.

B უჯრედები. ლიმფოციტები ძვლის ტვინის უჯრედებისაგან, რომლებიც აპროდუცირებენ ანტისხეულებს.

ბაკმიდა. მაქოური ვექტორი, AcMNPV გენომის ფუძეზე, რომელსაც უნარი აქვს იარსებოს E. coli-ის უჯრედებში.

ბალისტიკური ტრანსფექცია. დნმ-ის შეყვანა მცენარეულ და ცხოველურ უჯრედებში ან ორგანოიდებში ვოლფრამის ან ოქროს ბურთულების დახმარებით. დნმ-ს დალექავენ, დნმ-ით დაფარავენ ბურთულებს, და დაუშენენ მათ უჯრედებს.

ბაქტერიოფაგი. ბაქტერიების დამაინფიცირებელი ვირუსი.

ბაქტერიოცინი. ნივთიერება, რომელსაც ასინთეზირებს ერთი მიკროორგანიზმი და რომელიც კლავს მეორე მიკროორგანიზმის უჯრედებს.

ბლაგვი ბოლო. დნმ-ის ორჯაჭვიანი მოლეკულის ბოლო, რომელსაც არც ერთი ჯაჭვი არა აქვს გამოწეული.

ბეტაინი. დაბალმოლეკულური შენაერთი, მეთილის ჯგუფის დონორი მეთიონინის ბიოსინთეზის დროს.

ბიბლიოთეკა კ-დნმ-ისა. კომპლემენტარული დნმ-ის კლონების კოლექცია, რომელიც სინთეზირდება in vitro საინფორმაციო რნმ-ს მატრიცებზე, და წარმოდგებიან ან ერთი ქსოვილისაგან ან ერთი და იმავე პოპულაციისაგან.

ბინარული ვექტორული სისტემა. Agrobacterium-ის ორპლაზმიდური სისტემა, განკუთვნილია იმ სატრანსპორტო დნმ-ის მონაკვეთის გადასატანად, რომელსაც მიაქვს კლონირებული გენები მცენარეულ

უჯრედებში. ვირულენტობის გენები ლოკალიზებულია ერთ პლაზმიდაზე, ხოლო ჩაშენებული მონაკვეთი ტ-დნმ - მეორეზე.

ბინარული დაყოფა. პროკარიოტული უჯრედის დაახლოებით ერთნაირი ზომის შვილეულ უჯრედებად პირდაპირი გაყოფა, რომელიც არაა დაკავშირებული სქესობრივ პროცესთან.

ბიოდეგრადაცია. ცოცხალი მიკროორგანიზმების საშუალებით გარემოში მოხვედრილი დამაბინძურებელი ნივთიერებების დაშლა.

ბიოკონტროლი. პროცესი, რომელშიც გამოყენებულია ცოცხალი ორგანიზმები პათოგენური მიკროორგანიზმების ზრდა-განვითარების შესაზღუდავად.

ბიომარკერი. ბიოლოგიური ნიშანი, რომელიც მიგვანიშნებს პათოლოგიური პროცესის პროგრესირებაზე ან მკურნალობის ეფექტურობაზე.

ბიომასა. 1) ცოცხალი ორგანიზმების ცხოველმოქმედების შედეგად წარმოშობილი უჯრედული მასა. 2) ორგანული ნივთიერება, რომელიც შეიძლება გამოვიყენოთ, როგორც ენერგიის ან ქიმიური შენაერთების წყარო.

ბიორეაქტორი, ფერმენტიორი. მოწყობილობა, რომელშიც მიმდინარეობს ბიოქიმიური რეაქცია ცოცხალი მიკროორგანიზმების, უჯრედული ექსტრაქტების ან ფერმენტების მონაწილეობით. ხშირად ეს ტერმინი იხმარება იმ ჭურჭლის აღსანიშნავად, რომელშიც იზრდებიან მიკროორგანიზმები.

ბლოტინგი. დაყოფილი მოლეკულების ერთი ნიადაგიდან (მაგ. გელიდან) მყარ მატარებელზე (ქაღალდი, ნეტროცელულოზური ფილტრი) გადატანა.

ბროში, брошь (ხარვეზი). ერთი ან რამდენიმე ნუკლეოტიდის არარსებობა ორჯაჭვიანი დნმ-ის ერთ-ერთ ჯაჭვში.

გამეტა. მრავალუჯრედიანი ორგანიზმის რეპროდუქციული ჰაპლოიდური უჯრედი.

გამორიცხვა. დნმ-ის სეგმენტის ამოჭრა ქრომოსომიდან ან კლონირებადი ვექტორიდან, ხორციელდება in vivo ან in vitro სპეციფიკური ფერმენტის დახმარებით.

გენი. ქრომოსომის ტრანსკრიბირებადი უბანი, რომელიც ახდენს ფუნქციონალური ცილის კოდირებას, ან სატრანსპორტო რნმ-ის ან რიბოსომული რნმ-ის.

გენების კარტირება. ამ გენის მდგომარეობის განსაზღვრა ქრომოსომაზე სხვა გენებთან შეფარდებით.

გენერაციის დრო. გაორმაგების დრო. დრო, რომლის განმავლობაში ერთუჯრედიანი ორგანიზმების პოპულაციაში უჯრედების რიცხვი ორმაგდება; მას ასევე ეწოდება გაორმაგების დრო.

გენეტიკური კოდი. გენეტიკური ინფორმაციის ჩაწერის სისტემა ნუკლეოტიდების თანამიმდევრობის სახით, რომელშიც ყოველი სამი ნუკლეოტიდი, რომლებიც კოდონს შეადგენენ, აკოდირებს ერთ ამინომჟავას. შედგება 64 კოდონისაგან, რომლებიც აკოდირებენ მთელს 20 ამინომჟავას და სამ მატერმინირებელ კოდონს.

გენი-კანდიდატი. სტრუქტურული გენი ადამიანის გენომში, რომელშიც მუტაცია, სავარაუდოდ, წარმოადგენს კონკრეტული მემკვიდრული დაავადების მიზეზს.

გენი-სამიზნე. 1) კლონირებული გენი. 2) გენი, რომელიც ექვემდებარება სპეციფიკურ ზემოქმედებას. 3) გენი, რომელიც მკვლევარს აინტერესებს.

გენური იმუნიზაცია. ანტიგენის შეყვანის გარეშე ორგანიზმისათვის იმუნური პასუხის ინდუქცია გენის უჯრედში ცილის მაკოდირებელი ანტიგენის ჩანერგვით.

გენური თერაპია ex vivo. გენის (გენების) შეყვანა ავადმყოფის იზოლირებულ უჯრედებში. კულტივირებისა და ტრანსფორმაციის შემდეგ უჯრედები შეყავთ ავადმყოფის ორგანიზმში ტრანსფუზიის, ინფუზიის ან ინიექციის საშუალებით. ეს პროცედურა საშუალებას იძლევა მოვიშოროთ გენეტიკური დეფექტები.

გენური თერაპია in vivo. გენის (გენების) შეყვანა უშუალოდ ქსოვილში ან ორგანოში გენეტიკური დარღვევის თავიდან აცილების მიზნით.

გენომი. მოდემული ორგანიზმის ქრომოსომების ჰაპლოიდური ნაკრების გენების ერთობლიობა.

გენომური ბიბლიოთეკა, გენების ბანკი. დნმ-ის კლონირებული ფრაგმენტების ნაკრები, რომლებიც ერთიანობაში შეადგენენ ინდივიდუალურ(ჯგუფურ, სახეობრივ) გენომს. თუ ლაპარაკია მსხვილ გენომზე (ძუძუმწოვრები), მიიღება ქრომოსომოსპეციფიკური ბიბლიოთეკები.

გენოტიპი. ორგანიზმის გენეტიკუტი კონსტრუქცია, მისი ყველა ალელის (ალტერნატიული ფორმის) ნაკრები.

გენების კლონირება. კლონირებულის დნმ-ის მისაღებად გამოყენებული მეთოდების სისტემა: საჭირო გენის გამოყოფა რომელიმე ორგანიზმიდან, მისი ჩანერგვა პლაზმიდაში (ვექტორი), მასპინძელი ორგანიზმის უჯრედში შეყვანა, მრავალჯერადი რეპლიკაცია.

გუანინი. პურინული ფუძე, ციტოზინის კომპლემენტარული, ერთ-ერთი ოთხი აზოტოვან ფუძეთაგან, რომლებიც შედიან დნმ-ისა და რნმ-ის შემადგენლობაში.

დეჰალოგენირება. ჰალოგენის (ქლორი, იოდი, ბრომი, ფტორი) ატომის მოხლეჩა, ჩვეულებრივ, ბიოდეგრადაციის დროს.

დეზოქსირიბოზა. ხუთნახშირბადიანი მონოსაქარიდი, რომელიც დნმ-ის შემადგენლობაში შედის.

დეზოქსირიბონუკლეაზა იგივე 1, დნმ-აზა. ფერმენტი, რომელიც ხლეჩს ორჯაჭვიან დნმ-ს. გამოიყენება რნმ-ის პრეპარატებისა და უუჯრედო ექსტრაქტების გაწმენდისათვის.

დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავა - დნმ. პოლიმერი, რომელიც შედგება დეზოქსირიბონუკლეოტიდებისაგან; გენეტიკური ინფორმაციის სახეობრივსპეციფიკური მატარებელია.

დელეცია. ქრომოსომის მონაკვეთი გამოვარდნა (წაშლა) მისი შემადგენლობიდან.

დენატურაცია. 1) დნმ-ის ან რნმ-ის ორჯაჭვიანი მოლეკულის გაშლა. 2) ბიოლოგიური მაკრომოლეკულების ნატივური კონფორმაციის დარღვევა არაკოვალენტური (წყალბადური) ბმების გაწყვეტის შედეგად.

დიპლოიდი. ორგანიზმი, რომლის უჯრედები შეიცავენ ქრომოსომების ორ ჰომოლოგიურ ნაკრებს.

დისულფიდური ბმა. კოვალენტური ბმა გოგირდის ორ ატომს შორის ცისტეინის მოლეკულაში; სტაბილურობას ანიჭებს პოლიპეპტიდური ჯაჭვების მესამეულ სტრუქტურას.

დითიოტრეიტოლი. დაბალმოლეკულური თიოლშემცველი აღმდგენელი აგენტი. დაბალი კონცენტრაციით ემატება ბუფერულ ხსნარებს ცილებში სულფჰიდრილური ჯგუფების დაჟანგვის თავიდან ასაცილებლად.

დნმ-ზონდი. დნმ-ის ფრაგმენტი, ამა თუ იმ სახით ნიშნული და გამოყენებული ჰიბრიდიზაციისათვის დნმ-ის მოლეკულის სპეციფიკურ უბანთან.

დნმ-ლიგაზა. ფოსფორო-დიეთერული ბმების წარმოშობის კატალიზატორები მეზობელი ნუკლეოტიდების 3’ ჰიდროქსილურ ჯგუფსა და 5’ ფოსფატს შორის დნმ-ის მოლეკულის ცალჯაჭვიანგაწყვეტის ადგილზე.

დნმ-პოლიმერაზა. ცალკეული ნუკლეოტიდებისაგან პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვის სინთეზის კატალიზატორი ფერმენტი; იყენებს-რა ამ დროს მეორე ჯაჭვს მატრიცის სახით და თავისუფალი 3’- OH-ჯგუფის მქონე დნმ-ს ამნთების სახით.

დომენი. პოლიპეპტიდური ჯაჭვის მონაკვეთი, რომელიც ასრულებს განსაზღვრულ ფუნქციას (მაგალითად, ციტოპლაზმატური დომენი, ტრანსმემბრანული დომენი და ა. შ.).

ეგზოგენური დნმ. დნმ, გამოყოფილი დონორი-ორგანიზმიდან და ჩანერგილი მასპინძელი ორგანიზმის ვექტორში ან ქრომოსომულ დნმ-ში.

ეგზონი. პირველადი ტრანსკრიპტის შემადგენლობაში შემავალი გენის უბანი, რომელიც მასში რჩება პროცესინგის (ნიტრონების ამოჭრა) შემდეგ. სხვა ეგზონებთან ერთად წარმოშობს ზრდასრულ მატრიცულ (საინფორმაციო) რნმ-ს.

ელექტროფორაცია. ელექტრული დენის გავლენით უჯრედის მემბრანებში ფორების წარმოშობა. ამ ფორებით უჯრედში გააღწევენ უცხო დნმ-ები.

ელექტროფორეზი. დნმ, რნმ ან ცილის დამუხტული მოლეკულების გაყოფის მეთოდი, რომელიც ემყარება ელექტრულ ველში მათი გადაადგილების სხვადასხვა სიჩქარეს.

ელონგაცია. პოლიმერულ ჯაჭვთან მონომერების თანამიმდევრული მიერთება.

ენდონუკლეაზა. ფერმენტი, რომელიც ახდენს შინაგანი ფოსფოდიეთერული ბმების ჰიდროლიზს და დნმ-ისა და რნნ-ს მოლეკულების გახლეჩას. ენდონუკლეაზები მონაწილეობენ რეკომბინაციაში, რეპარაციაში და რესტრიქციაში; ბოლო შემთხვევაში მათ ეწოდება რესტრიქტაზები ანუ მარესტრიქცირებელი ენდონუკლეაზები.

ენდოტოქსინი. ტოქსინი, რომელიც არ გამოიყოფა გარემოში, არამედ შედის უჯრედის კედლის შემადგენლობაში; მრავალი ენდოტოქსინი გამომუშავდება გრამ-უარყოფითი ბაქტერიის მიერ და იწვევს ანთებას.

ენოლაზა. 2-ფოსფოგლიცერატის ფოსფოენოლპირუვატად გარდაქმნის კატალიზატორი ფერმენტი.

ენოლრედუქტაზა. პოლიკეტიდური ანტიბიოტიკების სინთეზში მონაწილე ფერმენტი.

ერთჯაჭვიანი დნმ-ის კონფორმაციული პოლიმორფიზმი. ერთჯაჭვიანი დნმ-ების განსხვავება კონფორმაციაში, განსხვავებული ერთმანეთისაგან მხოლოდ ერთი ნუკლეოტიდით. ანალიზებადი დნმ-ები ექვემდებარებიან დენატურაციას. დენატურირებული ჯაჭვები ღებულობენ სხვადასხვა კონფორმაციას და გელ-ელექტროფორეზის დროს სხვადასხვა სიჩქარით მიგრირებენ.

ერლიფტური ბიორეაქტორი. ცილინდრული ბიორეაქტორი, რომელშიც მორევა ხდება გაზის ნაკადით, რომელიც ქვემოდან მიეწოდება.

ეუკარიოტები. ორგანიზმი, რომელსაც: 1) აქვს ბირთვი, რომელიც შეიცავს ქრომოსომებს. 2) ციტოპლაზმაში აქვს სხვადასხვა ორგანოიდები - მიტოქონდრიები ქლოროპლასტები და ა. შ. ეუკარიოტებს მიეკუთვნება ცხოველები, მცენარეები, სოკოები, ზოგიერთი წყალმცენარე.

ეფექტორი. პატარა მოლეკულა, რომელიც უკავშირდება რეპრესორს ან ფერმენტს და იწვევს მათ ინჰიბირებას ან აქტივაციას.

ეფექტორული უჯრედები. იმუნური სისტემის უჯრედები, რომლებიც შლიან ანტიგენებს.

ექსპრესირებადი ვექტორი. პლაზმიდური ვექტორი, ისეთნაირად კონსტრუირებული, რომ კლონირებული გენი ექსპრესირებდეს უჯრედული ციკლის მხოლოდ განსაზღვრულ ფაზაში და მხოლოდ განსაზღვრული დროის განმავლობაში. ამისათვის პლაზმიდაში ჩანერგავენ ძლიერ რეგულირებად პრომოტორს.

ექსპრესია. გენის ტრანსკრიპცია და ტრანსლაცია.

ვაქცინაცია. ანტიგენის შეყვანა ორგანიზმში, რომ მასში მოვახდინოთ ანტისხეულის გამომუშავების ინდუცირება შესაძლებელი დამაინფიცირებელი აგენტის მიმართ.

ვარიაბელური დომენები. ანტისხეულის პოლიპეპტიდური ჯაჭვების მონაკვეთები, სხვადასხვა ანტისხეულების მოლეკულებს აქვთ არაერთნაირი ამინომჟავური თანამიმდევრობა; პასუხისმგებელი არიან მათ სპეციფიკურობაზე.

ვექტორი. დნმ-ის თვითრეპლიცირებადი მოლეკულა (მაგ. ბაქტერიული პლაზმიდა), რომელიც გენურ ინჟინერიაში გამოიყენება გენების გადატანისათვის დონორი ორგანიზმიდან რეციპიენტ-ორგანიზმში; აგრეთვე ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების კლონირებისათვის.

ვესტერნ ბლოტინგი. გელ-ელექტროფორეზის საშუალებით გაყოფილი ცილოვანი მოლეკულების გადატანა მყარ სადებზე.

ვირიონი. ვირუსული ნაწილაკი.

ვირულენტობა. მიკროორგანიზმის პათოგენურობის დახასიათება.

ვირუსი-დამხმარე. ვირუსის ვირულენტური შტამი, რომლის თანდასწრებით დეფექტური ვირუსი შეიძლება გამრავლდეს მასპინძელ უჯრედში.

ვექტორის ტევადობა. დნმ-ის მონაკვეთი მაქსიმალური ზომა, რომელიც შესაძლებელია კლონირებული იყოს მოცემულ ვექტორში.

ზონდი. 1) ამა თუ იმ ხერხით ნიშნული შენაერთი გამოყენებული რთულ ნიმუშში მონათესავე ბიოქიმიური მოლეკულების გამოსავლენად. 2) ოლიგონუკლეოტიდი, გამოყენებული კომპლემენტარული თანამიმდევრობების გამოსამჟღავნებლად ჰიბრიდიზაციის დახმარებით.

თბური შოკის ცილები. ცილები, რომლებიც სინთეზირდებიან ტემპერატურის უცბად აწევის საპასუხოდ.

თვითრეპლიცირებადი ელემენტი. ნუკლეინის მჟავას ქრომოსომგარე მოლეკულა, რომელსაც შეუძლია ქრომოსომული დნმ-ისაგან დამოუკიდებელი რეპლიკაცია. ასეთივე ელემენტის მაგალითია პლაზმიდა.

„თვითმკვლელობის“ ანუ სუიციდალური გენი. გენი, რომელიც განსაზღვრულ პირობებში საკუთარი უჯრედის სიკვდილს იწვევს.

თიმინი. პირიმიდინული ფუძე; დნმ-ის შემადგენელ ოთხ აზოტოვან ფუძეთაგან ერთ-ერთი.

იმუნოთერაპია. ანტისხეულის ან ქიმერული ცილის გამოყენება, რომელიც შეიცავს ანტისხეულის შეკავშირების საიტს, რომ ვუმკურნალოთ ავადმყოფს ან შევამსუბუქოთ მისი მდგომარეობა.

ინტერლეიკინი-2. ლიმფოკინი, რომელიც ზოგიერთი T-ლიმფოციტის მიერ სეკრეტირდება და ასტიმულირებს T-უჯრედების პროლიფერაციას.

ინტრონი. გენის ტრანსკრიბირებადი მონაკვეთი, რომელიც არ შეიცავს კოდონებს და რომელიც ამოჭრილია პირველადი ტრანსკრიპტიდან ფუნქციონალური რნმ-ის წარმოშობის პროცესინგის მსვლელობაში.

იმუნური პასუხი. ორგანიზმში ფიზიოლოგიური პროცესების ერთობლიობა, მასში უცხო ანტისხეულის მოხვედრის დროს.

იმუნოაფინური ქრომატოგრაფია. გაწმენდის მეთოდი, რომლის დროსაც მატრიცაზე ფიქსირებული ანტისხეული შეიკავშირებს სხვა ცილებთან რთულ ნარევში არსებულ სპეციფიკურ ცილას.

იმუნოლოგიური ანალიზი. მეთოდი, რომელიც დამყარებულია ანტისხეულის უნარზე, იცნოს სპეციფიკური კომპონენტი ბიოლოგიურ ნიმუშში.

იმუნოსუპრესია. ორგანიზმის იმუნური სისტემის იმუნური პასუხის უნარის დაკარგვა ამა თუ იმ ანტიგენზე.

იმუნოტოქსინი. ორი დომენისაგან შემდგარი ქიმერული ცილა, რომელთაგან ერთს აქვს ანტისხეულის, ხოლო მეორეს - ტოქსინის თვისება. პირველი დომენი უზრუნველყოფს ქიმერული ცილის შეკავშირებას სპეციფიკურ მოლეკულასთან ან უჯრედთან, ხოლო მეორე - ინაქტივაციას უკეთებს სამიზნე მოლეკულას, ანუ კლავს უჯრედს.

ინტეგრაციის ქრომოსომული საიტი. ადგილი ქრომოსომაში, რომელშიც შეიძლება ჩაეშენოს უცხო დნმ, ხშირად, მასპინძელი-უჯრედისათვის ყოველგვარი შედეგების გარეშე.

იონური არხი. ტრანსმემბრანული ცილა, რომელიც ამსუბუქებს ზოგიერთი იონების ტრანსპორტს.

ინჰიბირება საბოლოო პროდუქტით. ფერმენტის ინჰიბირება მეტაბოლიტით - მეტაბოლური გზის საბოლოო პროდუქტით.

ინდოლიზ - 3- ძმარმჟავა. მცენარეული ჰორმონია, მიეკუთვნება აუქსინის კლასს, რომელიც მცენარეთა ზრდას ასტიმულირებს.

ინდუქტორი. პატარა მოლეკულა, რომელიც უკავშირდება რეგულატორულ ცილას - რეპრესორს, რასაც მივყავართ შესაბამისი გენების დერეპრესიისაკენ.

ინდუქცია. გენის, ან გენების ჯგუფის დერეპრესია ინდუქტორის მოქმედებით.

ინიციაცია. ბიოპოლიმერის სინთეზის დასაწყისი.

კაფსიდი. ვირუსული ნაწილაკის ცილოვანი გარსი.

კონიუგატივური პლაზმიდები. პლაზმიდები, რომელთაც უნარი აქვთ გადაეცენ ერთი უჯრედიდან მეორეს კონიუგაციის დროს.

კლონი. ერთი წინაპარი უჯრედის ან მოლეკულის იდენტური უჯრედების ან მოლეკულების პოპულაცია.

კლონირება. კლონის მისაღებად გამოყენებული პროცედურების ერთობლიობა.

კლონირებადი ვექტორი. დნმ-ის მოლეკულა (პლაზმიდური ან ვირუსული დნმ), დნმ-სამიზნის კლონირებისათვის.

კოდონი. სამი მეზობელი ნუკლეოტიდი, რომლებიც აკოდირებენ განსაზღვრულ ამინომჟავას. სულ არსებობს ნუკლეოტიდების 64 შერწყმა კოდონებში; მათ შორის 61 აკოდირებს 20 ამინომჟავას, 3 კი წარმოადგენს ნონსენს-კოდონებს.

კომპეტენცია. ბაქტერიული ჯრედის თვისება, აღიქვას ტრანსფორმირებადი დნმ (პლაზმიდა).

კომპლემენტი. სისხლის შრატის ცილოვანი კომპონენტი, ერთ-ერთი შემადგენელი თანდაყოლილი იმუნიტეტისა. მონაწილეობას იღებს ანთებითი პროცესების რეგულაციაში, ფაგოციტოზის გააქტივებაში და უჯრედის მემბრანებზე ლიტიკურ მოქმედებაში; აქტივდება ურთიერთქმედებით იმუნურ კომპლექსთან.

კომპლემენტარული დნმ (კ-დნმ). დნმ-ის მოლეკულა, სინთეზირებული რნმ-მატრიცაზე რნმ-დამოკიდებული დნმ-პოლიმერაზის (უკუ-ტრანსკრიპტაზის) მონაწილეობით.

კომპლემენტარული ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობები. პოლინუკლეოტიდური თანამიმდევრობები, რომლებიც ურთიერთქმედებენ ერთმანეთთან ფუძეების შეწყვილების წესების შესაბამისად: ადენინი - თიმინთან ან ურაცილთან, ხოლო გუანინი - ციტოზინთან.

კომპლემენტის სისტემა. კომპლემენტის აქტივაციის თანამიმდევრული პროცესებისა და ფერმენტული რეაქციების სერია, რომელიც ამუშავდება ანტიგენ-ანტისხეულის კომპლექსის წარმოშობის პასუხად.

კომპლემენტარობის დარღვევა. დნმ-ის ორჯაჭვიან მოლეკულაში ერთი ან რამდენიმე წყვილი არაკომპლემენტარული ფუძის არსებობა.

კონსტიტუტიური სინთეზი. უჯრედში ან მთელს ორგანიზმში რნმ-ის ან რომელიმე ცილის მუდმივად მიმდინარე სინთეზი.

კონიუგაცია. სქესობრივი პროცესის ფორმა. ბაქტერიებში - დნმ-ის ერთმიმართულებიანი გადატანა ერთი კონტაქტირებადი უჯრედიდან მეორეში.

კოფაქტორი. დაბალმოლეკულური ნივთიერება, რომელიც აუცილებელია განსაზღვრული ფერმენტატიული რეაქციის მიმდინარეობისათვის.

კოფერმენტაცია. ორი მიკროორგანიზმის ერთდროული ზრდა ერთ რეაქტორში.

ქსილოზა. ხუთნახშირბადიანი შაქარი, ჰემიცელულოზის ძირითადი კომპონენტი.

კულტურა. მიკროორგანიზმებისკონტროლირებად პირობებში გამოზრდილი უჯრედების ან მიკროორგანიზმების პოპულაცია.

კულტურალური ნიადაგი. In vitro მიკროორგანიზმების გამოსაზრდელად გამოყენებული მყარი ან თხევადი ნიადაგი.

ლიგირება. დნმ-ის ორი მოლეკულის შეერთება ფოსფოდიეთერული ბმებით; In vitro კატალიზდება ფერმენტ დნმ-ლიგაზით.

ლიზისი. უჯრედის კედლების დარღვევა ლიზოსომებში არსებული ფერმენტებისან სხვა აგენტების მოქმედებით.

ლინკერი. სინთეტიური ოლიგონუკლეოტიდია, რომელსაც შეიცავს რესტრიქციის საიტი. გამოიყენება ვექტორული და მაკლონირებელი დნმ-ის შესაერთებლად, რომლის ბოლოებზე ბლაგვი ბოლოების მიკერების მეთოდის მიხედვით მიერთებულია ლინკერები.

ლიპაზა. ლიპიდების გამხლეჩი (დამყოფი) ფერმენტი.

ლიპოპოლისაქარიდი. შენაერთი, რომელიც შეიცავს პოლისაქარიდთან შეერთებულ ლიპიდს. ბაქტერიის უჯრედის კედლის ერთ-ერთი კომპონენტია.

ლიპოსომა. ბუშტუკია, რომელსაც წარმოშობს ერთ- ან ორშრიანი მემბრანა და რომელიც ლიპიდური მოლეკულებისაგან შედგება. ამ მოლეკულების ჰიდროფობური ნაწილი მიმართულია ბუშტუკის შიგნით, ჰიდროფილური - გარეთ. ბუშტუკის შიგნით შეიძლება იმყოფებოდეს ნუკლეინის მჟავები, სამკურნალწამლო და სხვა ნივთიერებები, რომელიც ლიპოსომამ საჭირო მისამართზე უნდა მიაწოდოს.

ლიტიკური ციკლი. ვირუსის მასპინძელ-უჯრედში გამრავლება მთავრდება უჯრედის ლიზისით.

ლოკუსი. ადგილი ქრომოსომაზე, სადაც იმყოფება სპეციფიკური გენი.

მაინიციირებელი კოდონი. ტრანსლიაციის ინიციაციის სიგნალი.

მაინიციირებელი კომპლექსი. პოლიპეპტიდური ჯაჭვის რიბოსომებით სინთეზის ინიციაციისათვის აუცილებელი სტრუქტურა.

მაინტეგრირებელი ვექტორი. სპეციალურად იმისათვის კონსტრუირებული ვექტორი, რომ მისი დახმარებით შეიძლებოდეს კლონირებული დნმ-ის მასპინძელი უჯრედის გენომში ჩანერგვა (ინტეგრირება).

მაკროფაგი. მსხვილი ლეიკოციტი, რომელსაც აქვს ფაგოციტოზის უნარი.

მარკერული გენი. ცნობილი ქრომოსომული ლოკალიზაციის გენი, რომელსაც აქვს მკაფიო ფენოტიპიური გამოვლინება (ანტიბიოტიკისადმი მდგრადობა, ფერმენტატიული აქტიურობა და ა. შ.).

მარკერული პეპტიდი. ჰიბრიდული ცილოვანი მოლეკულის უბანი, რომელიც ამსუბუქებს ცილის იდენტიფიკაციას ან გაწმენდას.

მატერმინირებელი კოდონი. პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვის სინთეზის დასასრულის (ტერმინაციის) განმსაზღვრელი კოდონი.

მატრიცული რნმ, იგივე საინფორმაციო რნმ. რნმ-ს მოლეკულა, რომელშიც შენახულია ინფორმაცია განსაზღვრული ცილოვანი მოლეკულის ამინომჟავური თანამიმდევრობის შესახებ.

მატრიცული ჯაჭვი. დნმ-ის ჯაჭვი ან სხვა პოლინუკლეოტიდი, გამოყენებული დნმ-პოლიმერაზის მიერ როგორც მატრიცა კომპლემენტარული ჯაჭვის სინთეზისათვის.

მაქოური ვექტორი. პლაზმიდური დნმ, რომელსაც აქვს უნარი რეპლიცირდეს ორი სხვადასხვა ტიპის უჯრედებში (მაგ. E. coli და საფუვრის უჯრედებში).

მეზოფილური მიკროორგანიზმები. ორგანიზმები, რომლებიც იზრდებიან 20-დან 50^0 C ტემპერატურაზე. ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურაა 37^0 C.

მერისტემა. მცენარის უჯრედი, რომელსაც აქვს აქტიური დაყოფის უნარი. ახალგაზრდა მცენარეებს იგი აქვთ ფესვებისა და ყლორტების წვეროებზე.

მეორადი მეტაბოლიტი. ნივთიერება, რომელიც არაა აუცილებელი უჯრედის ზრდის ან ფუნქციონირებისათვის, მაგრამ სინთეზირდება სტაციონარულ ფაზაში (ჩვეულებრივ მონაწილეობს უჯრედების, მიკროორგანიზმების დაცვაში ამა თუ იმ ზემოქმედებისაგან).

მდგრადი უჯრედული ხაზები. უჯრედების კულტურა, რომლებსაც აქვთ in vitro განუსაზღვრელი ზრდის უნარი. მიიღება გადანერგილი (აცრილი) უჯრედული კულტურებიდან, რომლის უჯრედების ნაწილი იძენს სელექციურ უპირატესობებს და ექნებათ ზრდის გაზრდილი სიჩქარე.

„მოწმის ეფექტი“. მეზობელი გენეტიკურად ტრანსფორმირებული უჯრედების მიერ სინთეზირებული ციტოტოქსიკური პროდუქტით არამოდიფიცირებული სიმსივნური უჯრედების განადგურება.

მასეკვენირებელი გელი. პოლიელამიდური გელის გრძელი ფირფიტა, რომლის საშუალებითაც ტარდება ერთმანეთისაგან მხოლოდ 1 ნუკლეოტიდის სიგრძით განსხვავებული ოლიგო- და პოლინუკლეოტიდების ელექტროფორეზული დაყოფა.

მეტაბოლიზმი. ფიზიკური და ქიმიური პროცესების ერთობლიობა, რომლებიც მიმდინარეობენ ორგანიზმში და უზრუნველყოფენ მის არსებობას. მეტაბოლიზმის პროდუქტებს მეტაბოლიტები ეწოდება.

მეტაბოლური გადატვირთვა. მასპინძელი ორგანიზმის მეტაბოლიზმის დარღვევა მის გენომსა და ექსპრესიაში უცხო დნმ-ის შეყვანის დროს.

მექანიკურმორევადი რეაქტორი. ბიორეაქტორი, რომელშიც გაზის მთელს მოცულობაში თანაბარი განაწილებისათვის გამოიყენება სარეველა.

მიცელიუმი, მიცელა (мицелий). სოკოს ვეგეტატიური სხეული, რომელიც წვრილი დატოტვილი ძაფებისაგან შედგება.

მოლეკულარული დიაგნოსტიკა. მოლეკულარულ-ბიოლოგიური მეთოდებით ამა თუ იმ დაავადებაზე პასუხისმგებელი პათოგენური მიკროორგანიზმების, სპეციფიკური ნივთიერებების ან შეცვლილი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის აღმოჩენა.

მონოკლონური ანტისხეულები. ერთტიპიური ანტისხეულები; მკაცრად სპეციფიკური ერთ ეპიტოპთან (ეპიტოპი არის ანტიგენური დეტერმინანტი); სინთეზირდებაიან ჰიბრიდომების - უჯრედული ჰიბრიდების მიერ, რომლებიც მიიღება ნორმალური ანტისხეულწარმომქმნელი უჯრედების შერწყმით მიელომურ სიმსივნურ უჯრედთან, რომელსაც განუსაზღვრელი ზრდის უნარი აქვს. ზოგიერთი მიელომური უჯრედი მონოკლონურ სხეულებს დამოუკიდებლადაც ასინთეზირებენ.

მოწვა. ცალფა პოლინუკლეოტიდური კომპლემენტარული ჯაჭვებისაგან ორჯაჭვიანი მოლეკულების (დნმ-დნმ ან დნმ-რნმ) წარმოქმნის პროცესი.

მატერმინირებელი კოდონი. პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვის სინთეზის დასასრულის (ტერმინაციის) განმსაზღვრელი კოდონი.

მუტაგენეზი. ფიზიკური ან ქიმიური აგენტების მეშვეობით მუტაციის ხელოვნური შეტანა.

მუტანტი. მუტაციის შედეგად შეცვლილი ორგანიზმი; როგორც წესი, განსხვავებული საწყისი ფორმის - ველური ტიპისაგან.

მუტაცია. გენის სტრუქტურის სპონტანური ან ინდუცირებული შეცვლა.**მწებვარე ბოლოები.** დნმ-ის ურთიერთკომპლემენტარული ერთჯაჭვიანი უბნები, რომლებიც გამოშვერილია ორჯაჭვიანი მოლეკულების ბოლოებზე; წარმოიშობა ორჯაჭვიანი მოლეკულების საფეხურეობრივი დაჭრის შედეგად.

ნეომიცინფოსფოტრანსფერაზა. ანტიბიოტიკების, ნეომიცინისა და კანამიცინის ინაქტივაციის ფერმენტი; გამოიყენება, როგორც სელექტიური მარკერი ტრანსგენური მცენარეებისათვის.

ნუკლეაზა S1. ერთჯაჭვიანი დნმ-ის სპეციფიკურად დამანგრეველი (დეგრადაცია) ფერმენტი.

ნუკლეოზიდი. პურინული ან პირიმიდინული აზოტოვანი ფუძე, რომელიც ხუთნახშირბადიან შაქარს (პენტოზას) უკავშირდება კოვალენტური ბმით. თუ შაქარი რიბოზაა, მაშინ ნივთიერებას ეწოდება რიბონუკლეოზიდი, თუ დეზოქსირიბოზა - დეზოქსირიბონუკლეოზიდი.

ნუკლეოტიდი. ნუკლეოზიდი, რომელთანაც მიერთებულია ერთი ან რამდენიმე ფოსფატური ჯგუფი, მიერთება მიმდინარეობს შაქროვანი ბირთვის 5`ნახშირბადის ატომთან. რიბოზასთან დაკავშირებულ ნუკლეოზიდებს ეწოდება რიბონუკლეოზიდმონო-ფოსფატები, რიბონუკლეოზიდდიფოსფატები ან რიბონუკლეოზიდტრიფოსფატები. დეზოქსირიბოზასთან დაკავშირებულ ნუკლეოზიდებს კი შესაბამისად - დეზოქსირიბონუკლეოზიდ მონო-, დი- და ტრიფოსფატები.

N- ბოლო. ცილის მოლეკულის პირველი ამინომჟავა ან რამდენიმე ამინომჟავა.

ნატრიუმის დოდეცილსულფატი. ანიონური დეტერგენტი, რომელიც ცილების დენატურაციისათვის გამოიყენება.

ოლიგონუკლეოტიდი, ოლიგომერი. ერთჯაჭვიანი დნმ-ის მოკლე, 6-10 ნუკლეოტიდისაგან შემდგარი სეგმენტი; მიიღება ქიმიური მეთოდით.

ონკოგენი. გენი, რომლის ექსპრესიას მოაქვს უჯრედების უკონტროლო (არაკონტროლირებადი) პროლიფერაცია (ტრანსფორმაცია).

ოპერატორი. დნმ-ის უბანი, რომელიც უშუალოდ ეკვრის სტრუქტურულ გენს და არეგულირებს მის ტრანსკრიპციას რეპრესორის ან აქტივატორის მონაწილეობით.

ოპერონი. ნდმ-ის უბანი, რამდენიმე სტრუქტურულ გენს შეიცავს, რომლებიც ტრანსკრიბირებენ ერთი პოლიცისტრონული მატრიცული-რნმ-ის წარმოქმნით.

პასიური იმუნიტეტი. იმუნიტეტის ფორმა, რომელიც წარმოიშობა სხვა ორგანიზმების აქტიური იმუნიზაციის შედეგად გამომუშავებული ანტისხეულების შემცველი შრატის ორგანიზმში შეყვანის დროს.

პეპტიდი. პეპტიდური ბმებით შეერთებული ამინომჟავების მოკლე ჯაჭვი.

პეპტიდილ-სატრანსპორტო რნმ. ზრდად პოლიპეპტიდური ჯაჭვთან შეერთებული სატრანსპორტო რნმ-ს მოლეკულა.

პეპტიდური ვაქცინა. სპეციფიკური ინფექციური აგენტის მიმართ ანტისხეულის წარმოქმნის მაინდუცირებელი ამინომჟავების მოკლე ჯაჭვი.

პეპტიდური ბმა. კოვალენტური ბმაა პოლიმერულ ჯაჭვში ერთი ამინომჟავას α- ნახშირბადის ატომთან მყოფი თავისუფალი ჰიდროქსილის ჯგუფსა და მეზობელი ამინომჟავას ასეთივე ატომთან მყოფი თავისუფალი კარბოქსილის ჯგუფს შორის.

პირველადი კულტურა. უშუალოდ ორგანიზმიდან აღებული უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურა.

პერიოდული ფერმენტაცია. მიკროორგანიზმების კულტივირება დროის შეზღუდული ინტერვალის განმავლობაში. აწარმოებენ კულტივირებას უწყვეტ რეჟიმში სანამ პროცესი თავისით არ დასრულდება.

პერიოდული ფერმენტაცია სუბსტრატის დამატებით. მიკროორგანიზმების კულტივირება დროის შეზღუდული ინტერვალის განმავლობაში სუბსტრატის პერიოდული დამატებით და პროდუქტის აღებით მხოლოდ პროცესის დასასრულს.

პერიპლაზმატური სივრცე. სივრცე ბაქტერიული უჯრედის პლაზმატურ მემბრანასა და <u>გარე მემბრანას ანუ უჯრედის კედელს</u> შორის.

პირიმიდინები. აზოტოვანი ფუძის ერთ-ერთი ტიპი ორთაგან, რომელიც შედის ნუკლეინის მჟავების შემადგენლობაში; პირიმიდინებია თიმინი, ციტოზინი, ურაცილი. აზოტოვან ფუძეთა მეორე ჯგუფია **პურინები,** მათ მიეკუთვნება ადენინი და გუანინი.

პლაზმიდა. ქრომოსომგარე გენეტიკური ელემენტია, რომელსაც აქვს ხანგრძლივი ავტონომიური არსებობისა და რეპლიკაციის უნარი.

პლაზმიდური შეუთავსებლობა. ბაქტერიულ უჯრედში ერთი ტიპის პლაზმიდების ასლების (კოპიოების) რიცხვის რეგულაციის მექანიზმი. უზრუნველყოფს უჯრედშიგა თანაარსებობის შეუძლებლობას იმ პლაზმიდებისას, რომლებიც მიეკუთვნებიან შეთავსებულობის ერთ ჯგუფს.

პლასტიდა. მცენარეული უჯრედის ორგანოიდი, მაგალითად, ქლოროპლასტი; მრავალ პლასტიდას აქვს საკუთარი გენომი.

პოლივალენტური ვაქცინა. ვაქცინა, რომელიც იმუნურ პასუხს იძლევა რამდენიმე ინფექციურ აგენტზე, ან ერთი და იმავე მოლეკულის სხვადასხვა ეპიტოპებზე.

პოლიკეტიდსინთეტაზა. პოლიკეტიდური ანტიბიოტიკების სინთეზში მონაწილე ფერმენტი.

პოლიკეტიდური ანტიბიოტიკები. ანტიბიოტიკების კლასი, რომლებიც წარმოიშობიან კარბონის მჟავების (აცეტატი, პროპიონატი და სხვ.) თანამიმდევრული ფერმენტატიული კონდენსაციის შედეგად.

პოლილინკერი. დნმ-ის მოკლე მონაკვეთი, რომელიც შეიცავენ რამდენიმე უნიკალურ ცნობის საიტს ენდონუკლეაზებისათვის; ამ საიტებში ჩანერგავენ უცხო დნმ-ს ანუ ახდენენ კლონირებას.

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია. დნმ-ის სპეციფიკური სეგმენტის ამპლიფიკაციის მეთოდი თერმოსტაბილური დნმ-პოლიმერაზის საშუალებით ოლიგონუკლეოტიდური დნმ-ზონდების გამოყენებით, რომლებიც დნმ-ის ურთიერთსაწინააღმდეგო ჯაჭვების თანამიმდევრობების

კომპლემენტარულებია (ფლანკირებას უწევენ აპლიფიცირებად სეგმენტს). პროცესი შედგება ციკლურად გამეორებადი რეაქციების სერიისაგან: დნმ-ის დენატურაცია, ზონდების მოწვა, დნმ-ის სინთეზი.

პოლიმორფული საიტი. ქრომოსომის უბანი, რომელიც პოპულაციაში წარმოდგენილია ერთზე მეტი ვარიანტით სიხშირით არაუმცირეს 1%-ისა.

პოლინუკლეოტიდი. ხაზური პოლიმერი. შედგება 20 ან მეტი ნუკლეოტიდისაგან, რომლებიც შეერთებულია ფოსფოდიეთერული ბმებით. პოლიპეპტიდია ცილოვანი მოლეკულა.

პოლიცისტრონული მატრიცული (საინფორმაციო) რნმ. მ-რნმ-ს მოლეკულა, რომელიც ერთზე მეტ ცილას აკოდირებს. წარმოიშობა ერთი ოპერონის შემადგენლობაში მყოფი ორი და მეტი მეზობელი გენის ტრანსკრიბციის დროს

პოსტტრანსლაციური მოდიფიკაციები. ცილოვანი მოლეკულების სტრუქტურის შეცვლა რიბოსომებით მათი სინთეზის დასრულების შემდეგ. ასეთ მოდიფიკაციებს მიეკუთვნება: ფოსფორილირება, გლიკოზილირება, ცისტეინის დაჟანგვა, სასიგნალო თანამიმდევრობების მოხლეჩა და ა. შ.

პრაიმერი. მოკლე ოლიგონუკლეიდი, რომელიც ჰიბრიდიზირდება მატრიცასთან ერთად და ამნთების როლს ასრულებს მისი კოპირების (პირგადაღების) დროს.

პროკარიოტები. ორგანიზმები, რომელთაც არა აქვთ მემბრანებით შემოსაზღვრული ბირთვი და ორგანოიდები. პროკარიოტებს მიეკუთვნება ყველა ბაქტერია.

პრომოტორი. დნმ-ის მოლეკულის უბანი, რომელსაც უკავშირდება რნმ-პოლიმერაზა, რასაც თან ახლავს შესაბამისი გენების ტრანსკრიპციის ინიციაცია.

პროტეინაზები, პროტეოლიტური ფერმენტები. ცილის მოლეკულის პეპტიდური ბმების გამხლეჩი ფერმენტები.

პროტეოლიზი. ცილების ფერმენტატიული დახლეჩა.

პროტოპლასტი. ბაქტერიული, საფუვრის ან მცენარეული უჯრედი, რომლის კედელი დარღვეულია ფერმენტატიული ან ქიმიური გზით.

პროცესინგი. უჯრედში რნმ-ისა და ცილების ზრდასრული მოლეკულების წარმოქმნის პროცესების ერთობლიობა. მოიცავს ენდონუკლეაზებით ან პროტეინაზებით მოლეკულა-წინამორბედების რიგ თანამიმდევრულ გახლეჩვებს.

პურინები. იხ. პირიმიდინები.

პლაზმინოგენის ქსოვილოვანი აქტივატორი. ცილა, რომელიც სისხლის კოლტის დაშლაში მონაწილეობს.

ჟე-ცილები (G-ცილები). მემბრანული ცილები, რომლებიც აქტივდებიან GTP-თან ურთიერთქმედების შემდეგ. მონაწილეობენ სიგნალის გადაცემაში უჯრედული რეცეპტორებიდან მემბრანის შიგა ზედაპირზე არსებულ ფერმენტებზე.

რესტრიქციული ფრაგმენტების სიგრძის პოლიმორფიზმი. სიგრძეების ვარიაბელურობა დნმ-ის ფრაგმენტებისა, რომლებიც წარმოიშობიან მათი რესტრიქტაზებით დახლეჩის დროს. განპირობებულია რესტრიქციის საიტების მუტაციური ცვლილებით ან ახალი საიტების წარმოშობით. შეინიშნება ფრაგმენტების გელ-ელექტროფორეზის საშუალებით დაყოფის დროს.

რეგულატორული ცილა. ტრანსკრიპციის ჩამრთველი ან გამომრთველი ცილა.

რეკომბინანტული დნმ. დნმ-ის მოლეკულა, რომელიც მიიღება in vitro სხვადასხვაგვარი, ბუნებაში ერთად არსად არარსებული დნმ-ის ფრაგმენტების გაერთიანებით.

რეკომბინანტული პლაზმიდა. გენური ინჟინერიის მეთოდებით შეცვლილი პლაზმიდა. შედგება სხვადასხვა პლაზმიდებისაგან ან შეიცავს სხვა ორგანიზმების დნმ-ების სეგმენტებს.

რეკომბინანტული ცილა. კლონირებული რეკომბინანტული დნმ-ის მიერ კოდირებული ცილა.

რენატურაცია. დენატურაციისას გაყოფილი დნმ-ის ორი ჯაჭვის ხელახლა შეერთება.

რეპრესია. ინდუქციის მსგავსად, გენების რეგულაციის ალტერნატიული მექანიზმი. მდგომარეობს ტრანსკრიპციის ან ტრანსლაციის დათრგუნვაში ოპერონთან ცილა-რეპრესორის შეერთების გზით.

რეპრესორი. ცილა, რომელიც შეუკავშირდა მოცემული გენის ოპერატორს ან პრომოტორს და დაამუხრუჭა ამ ელემენტებთან დნმ-პოლიმერაზის შეკავშირება.

რესტრიქტაზა, მარესტრიცირებელი ენდონუკლეაზა. ბაქტერიული ფერმენტი, რომელიც ხლეჩს სპეციფიკურ საიტებში დნმ-ის ორჯაჭვიან მოლეკულებს.

რესტრიქციული რუკა. რესტრიქტაზების ამოცნობის საიტების დნმ-ის მოლეკულაზე განლაგების რუკა.

რეტროვირუსები. რნმ-შემცველი ვირუსების ჯგუფი, რომლებიც შეიცავენ უკუტრანსკრიპტაზას; ორჯაჭვიანი დნმ სინთეზირებული რნმ-მატრიცაზე შეიძლება ჩაინერგოს ამ ვირუსით ინფიცირებული უჯრედის ქრომოსომაში

რიბოზა. ხუთნახშირბადიანი მონოსაქარიდი; შედის რნმ-ს შემადგენლობაში.

რიბოზიმი. რნმ-ის მოლეკულა, რომელსაც აქვს ფერმენტული აქტივობა.

რიბონუკლეინის მჟავა, რნმ. ნუკლეინის მჟავა - შედგება რიბონუკლეოტიდებისაგან, რომელთა შაქარის რიბოზა, ხოლო ერთ-ერთი პირიმიდინი - ურაცილი (თიმინის მაგიერ).

რიბოსომა. უჯრედის ორგანოიდი, რიბონუკლეოპროტეიდული ნაწილაკი, რომლის მონაწილეობითაც ხორციელდება ცილის სინთეზი (ტრანსლაცია). შედგება ორი - დიდი და მცირე, სუბნაწილაკისაგან.

რიბოსომული რნმ, რ-რნმ. რნმ, რომელიც შედის რიბოსომის შემადგენლობაში.

რნმ-პოლიმერაზა. რიბონუკლეოზიდტრიფოსფატებისაგან რნმ მასინთეზირებელი ფერმენტი. მატრიცის როლი შეიძლება შეასრულოს დნმ-მა ან რნმ-მა, შესაბამის რნმ-პოლიმერაზებს ეწოდება დნმ- და რნმ- დამოკიდებული.

რესტრიქციის საიტი. რესტრიქტაზის მიერ ცნობადი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა დნმ-ის მოლეკულაში.

სამიზნე. ფართო გაგებით, ბიოლოგიური ობიექტი (ქსოვილი, მოლეკულა, უჯრედი, მიკროორგანიზმი), რომელიც მკვლევარს აინტერესებს.

სეკრეცია. უჯრედიდან ნივთიერების გამოყოფა გარემოში. Внешняя среда

სიგმა-ფაქტორი. ბაქტერიული ცილა, რომელიც უზრუნველყოფს დნმ-პოლიმერაზის მიერ დნმ-ის მოლეკულაში მისი დაკავშირების უბნის ამოცნობას და ტრანსკრიპციის ინიციაციას.

სასიგნალო თანამიმდევრობა. გენში ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა, რომელიც არის ტრანსკრიპციის მარეგულირებელი ცილის (ტრანსკრიპციის ფაქტორის) დაკავშირების ადგილი.

სასიგნაოლო პეპტიდი, სასიგნალო თანამიმდევრობა, ლიდერი-პეპტიდი. 15-30 ამინომჟავას სიგრძის ცილის მოლეკულის N-ბოლო უბანი, რომელიც უზრუნველყოფს ცილის სეკრეციას. სეკრეციის შემდეგ ეს უბანი მოწყდება ცილის მოლეკულას.

სიმბიოზი. სხვადასხვა ორგანიზმების თანაარსებობა, როცა თითოეული მათგანი ასრულებს თავის ფუნქციებს. ზოგიერთ შემთხვევაში ურთიერთსარგებლიანია.

სომატური უჯრედი. მრავალუჯრედიანი ორგანიზმის ნებისმიერი არასასქესო უჯრედი.

სპლაისინგი. მ-რნმ-ის წინამორბედიდან ინტრონებისა და ეკზონების კოვალენტური შეერთების ამოჭრა მ-რნმ-ის ზრდასრული მოლეკულების წარმოქმნით.

სტაციონარული მდგომარეობა. ფერმენტაციის უწყვეტი პროცესის მდგომარეობა, რომლის დროსაც ფერმენტიორიდან აღებული და მასში მიწოდებული უჯრედების რიცხვი ერთნაირია.

სატრანსპორტო რნმ, ტ-რნმ. რნმ-ს მოლეკულა, რომელიც გამოდის ადაპტორის როლში ტრანსლაციის პროცესში ამინომჟავების სპეციფიკური გადატანის დროს მზადი პოლიპეპტიდური ჯაჭვისაკენ.

სტრუქტურული გენი. გენი, რომელიც აკოდირებს რომელიმე ცილას.

საფეხურეობრივი გაწყვეტა. ორჯაჭვიანი დნმ-ის დაჭრა, რომლის დროსაც გაწყვეტილები კომპლემენტარულ ჯაჭვებში განლაგებულია არა ზუსტად ერთი მეორის პირისპირ, არამედ ცოტა არეულად.

სუბკლონირება. დნმ-ის უკვე კლონირებული მოლეკულის ნაწილის გადატანა მეორე კლონირებად ვექტორში.

სუბსტრატი. ნივთიერება, რომლის გარდაქმნა კატალიზდება სპეციფიკური ფერმენტით.

სუბერთეულოვანი ვაქცინა. პათოგენური მიკროორგანიზმის მხოლოდ ცალკეული კომპონენტების შემცველი ვაქცინა.

სუპრესია. დაკარგული გენეტიკური ფუნქციის აღდგენა, განპირობებული ერთი მუტაციის ეფექტის დათრგუნვით მეორის ზემოქმედებით.

ტენდემური გამეორება. ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა, რომელიც შედგება ერთმანეთთან თავბოლომიერთებული (თავი კუდი) რამდენიმე ერთნაირი ელემენტისაგან.

ტერმინაცია. მაკრომოლეკულის სინთეზის შეწყვეტა.

ტ-უჯრედები. იმუნურ პასუხში გადამწყვეტი როლის მქონე ლიმფოციტები.

ტ-ხელპერები, ტნ-ლიმფოციტები. ტ-ლიმფოციტები, რომლებიც მთავარ როლს ასრულებენ უცხო ანტიგენის ამოცნობაში.

ტრანსგენული ორგანიზმი. ორგანიზმი, რომლის გენომი შეიცავს გენური ინჟინერიის მეთოდებით ჩართულ გარეშე გენეტიკურ მასალას.

ტრანსგენოზი. გარეშე გენის შეყვანა მცენარეულ ან ცხოველურ უჯრედში და მისი შთამომავლობაში (რიგ თაობებში) გადაცემა.

ტრანსკრიპცია. რნმ-პოლიმერაზით კატალიზებული რნმ-ის სინთეზის პროცესი, რომელშიც მატრიცის სახით დნმ-ის ერთ-ერთი ჯაჭვი გამოიყენება.

ტრანსლაცია. რიბოსომის მიერ პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზი მატრიცის სახით მ-რნმ-ის (მატრიცული ანუ საინფორმაციო რნმ-ის)გამოყენებით.

ტრანპოზაზა. ზოგიერთი მობილური გენეტიკური ელემენტის ტრანსპოზიციაში (ერთი საიტიდან მეორეზე გადანაცვლებაში) მონაწილე ფერმენტი.

ტრანსფექცია. ეუკარიოტულ უჯრედებში დნმ-ის იზოლირებული მოლეკულების ხელოვნური შეყვანა.

ტრანსფორმაცია. 1) გენეტიკური ინფორმაციის გადატანა ბაქტერიულ უჯრედებში პლაზმიდების მონაწილეობით ან მათ გარეშე, მაგრამ ყოველთვის ვირუსების მონაწილეობის გარეშე. 1) ცხოველთა ნორმალური უჯრედების გადაქცევა სიმსივნურ უჯრედებად.

ტრანსფორმაციის სიხშირე. იმ უჯრედების წილი უჯრედულ პოპულაციაში, რომლებმაც მიიღეს უცხო დნმ; გამოისახება ტრანსფორმანტების რიცხვით უჯრედების საერთო რიცხვის მიმართ.

ტრანსკრიპციის ფაქტორი. ცილა, რომელიც რნმ-პოლიმერაზას ეხმარება რომ გაიაროს ტრანსკრიპციის ყველა ეტაპი და უზრუნველყოს ამ პროცესის შერჩევითობა.

უჯრედული ხაზი. უჯრედების ჯგუფი, რომელიც ნარჩუნდება კულტურაში პროცესების გზით.

უჯრედული (клеточно-опосредованный) იმუნიტეტი. იმუნური რეაქციები, ინიცირებული უჯრედებით, და არა ანტიგენებით ან სხვა ჰუმორალური ფაქტორებით.

უწყვეტი ფერმენტაცია. მიკროორგანიზმების კულტივირება ბიორეაქტორში ნიადაგის უწყვეტი დამატებით და ასეთივე რაოდენობის სუსპენზიის გამოტანით.

ურაცილი. პირიმიდინული ფუძე; ერთ-ერთი რნმ-ის შემადგენლობის 4 აზოტოვან ფუძეთაგან.

უკუ-ტრანსკრიპტაზა. რნმ-დამოკიდებული დნმ-პოლიმერაზა, რომელიც რნმ-ის მოლეკულას იყენებს მატრიცად დნმ-ის კომპლემენტარული ჯაჭვის სინთეზის დროს.

უკუ-ტრანსკრიპცია იგივე პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია. დიდი რაოდენობით კომპლემენტარული დნმ-ის მიღების მეთოდი, რომელიც ორი ეტაპისაგან შედგება: ჯერ in vitro მოახდენენ კ-დნმ-ის სინთეზს უკუ-ტრანსკრიპტაზის გამოყენებით, მატრიცად იყენებენ მატრიცულ რნმ-ს, ხოლო მეორე ეტაპზე კ-დნმ-ით ახდენენ პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის ამპლიფიცირებას.

ფსიქროფილები. 0-5^{0}C ტემპერატურაზე ზრდის უნარის მქონე მიკროორგანიზმები.

ფენოტიპი. პიროვნების ყველა ნიშან-თვისების ერთობლიობა, რომელიც ყალიბდება მისი გენოტიპისა და გარემოს ურთიერთქმედებით.

ფერმენტაცია. სამრეწველო მიკრობიოლოგიაში - მიკროორგანიზმების მსხვილ-მასშტაბიანი კულტივირება სპეციალურ ჭურჭლებში (ფერმენტიორებში, ბიორეაქტორებში).

ქრომოსომა. სტრუქტურა, რომლის საფუძველია დნმ-ის კონდენსირებული მოლეკულა; გენეტიკური ინფორმაციის მატარებელი. ქრომოსომას აქვს კვლავწარმოების უნარი რიგ თაობებში სტრუქტურულ-ფუნქციური ინდივიდუალობის შენარჩუნებით. ეუკარიოტებში იმყოფება უჯრედის ბირთვში, პროკარიოტებში - უშუალოდ ციტოპლაზმაში.

ღეროვანი უჯრედები. მიტოზურად აქტიური ღეროვანი უჯრედები, რომელთა დაყოფის შედეგად მრავალუჯრედოვან ორგანიზმში მიმდინარეობს დაღუპული უჯრედების ჩანაცვლება.

შეუთავსებლობის ჯგუფი. პლაზმიდების ჯგუფი, რომელთა წარმომადგენლებს ერთ უჯრედში შეუძლიათ თანაარსებობა.

შტამი. გენეტიკურად ერთგვაროვანი მიკროორგანიზმების კულტურა.

შეთავსებულობის ჯგუფი. პლაზმიდების ჯგუფი, რომელთა წევრებს უნარი არა აქვთ იარსებონ ერთ ბაქტერიულ უჯრედში.

ჩანაცვლებითი თერაპია. ორგანიზმში მეტაბოლიტების, კოფაქტორების, ჰორმონების შეყვანა, რომლებიც გენეტიკური დეფექტით განპირობებულ მათ დეფიციტს შეავსებს.

ჩანერგვის (ჩაშენების) საიტი, კლონირების საიტი. ვექტორული მოლეკულის სპეციფიკური უბანი, რომელშიც ჩააშენებენ უცხო დნმ-ის ფრაგმენტს.

ჩანართი. დნმ-ის სეგმენტი, რომელიც ჩაშენებულია კლონირებად ვექტორში.

ცენტრიფუგირება საქაროზის სიმკვრივის გრადიენტში. მაკრომოლეკულების დაყოფა ფორმისა და ზომის მიხედვით, რომელიც დაფუძნებულია მათი სედიმენტაციის კოეფიციენტების სხვაობაზე.

ციტოზინი. დნმ და რნმ შემადგენლობის ოთხ ამინომჟავათაგან ერთ-ერთი აზოტოვანი ფუძე.

ციტოკინინები. მცენარეული ჰორმონებია, რომლებიც ინდუცირებას უკეთებენ უჯრედების დაყოფას.

ხელოვნური ბაქტერიული ქრომოსომა. ვექტორული სისტემაა F -პლაზმიდისა და E. ccoli-ის ფუძეზე, რომელიც გამოიყენება გრძელი თანამიმდევრობების კლონირებისათვის.

ჰაპლოიდური. ტერმინია,რომელიც იხმარება იმ ორგანიზმის (ან უჯრედის) დასახასიათებლად, რომელსაც აქვს ქრომოსომების ერთი ნაკრები.

ჰეტეროზიგოტა. ორგანიზმი, რომლის გენომში არის ერთი ან რამდენიმე წყვილი განმასხვავებელი ალელი.

ჰიბრიდული ცილა, ქიმერული ცილა. პროდუქტი ორი ან მეტი ერთად კლონირებული მაკოდირებული თანამიმდევრობისა სხვადასხვა გენებიდან; წარმოადგენს ერთ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს.

ჰიბრიდული გენი. გენი, რომელიც შედგება ორი ან რამდენიმე გენის ნაწილებისაგან და რომლებიც ექსპრესირდებიან ერთი მთლიანი ჰიბრიდული (ქიმერული) ცილის წარმოქმნით.

ჰიბრიდომა. ჰიბრიდული უჯრედული ხაზი, მიღებული ნორმალური ანტისხეულწარმომშობი უჯრედებისა (ლიმფოციტებისა) და მიელომური უჯრედების შერწყმით. აქვს განუსაზღვრელი ზრდისა და მონოკლონური ანტისხეულების სინთეზის უნარი.

ჰომოლოგიური. ერთი წყაროდან წარმომდგარი, ან მსგავსი სტრუქტურის ან ევოლუციური წარმოშობის მქონე.

ჰომომერული ცილა. ცილა, რომელიც შედგება ორი ან მეტი იდენტური პოლიპეპტიდური ჯაჭვისაგან (ქვეერთეულებისაგან) (ქვე=სუბ).

ჰუმორალური იმუნური პასუხი. ანტისხეულების სინთეზი იმუნური სისტემის B უჯრედების მიერ ორგანიზმში უცხო ანტისხეულების ყოფნის პასუხად.

PHARMACEUTICAL BIOTECHNOLOGY

Biotechnology introduces students in science, engineering, or technology to the basics of genetic engineering, recombinant organisms, wild-type fermentations, metabolic engineering and microorganisms for the production of small molecule bioproducts. The text includes a brief historical perspective and economic rationale on the impact of regulation on biotechnology production, as well as chapters on biotechnology in relation to metabolic pathways and microbial fermentations, enzymes and enzyme kinetics, metabolism, biological energetics, metabolic pathways, nucleic acids, genetic engineering, recombinant organisms and the production of monoclonal antibodies.

The area fo biotechnology-based pharmaceuticals such as proteins and nucleic acid-based therapeutics has developed significantly during the last decade. The rapid advances in molecular biology, genetics, and recombinant DNA technology will continuously contribute to the development due to the greater understanding of the mechanisms behind the cause and progress of diseases, new methods for target identification, advances in production of biopharmaceuticals and the development of innovative technologies for formulation and delivery of biopharmaceuticals. This development will expand the list of biotechnology-based pharmaceuticals and open for more and better treatments to the benefit of patients. As an example, the recent discovery of small-interfering RNA (siRNA) operating in mammalian cells has initiated a tremendous research activity to uncover new mechanisms of gene silencing, and to use this fundamentally new way to treat diseases by addressing molecular targets othevwise difficult to reach with existing medicines.

For the pharmaceutical scientists who formulate biopharmaceuticals as products with ideal therapeutic effects and storage characteristics, these products are highly challenging. Because of the unique physicochemical characteristics related to the biomacromolecular structure of biotechnology-based drugs, the formulation of biopharmaceuticals is in many ways different from conventional low-molecular drug formulation.

Recent reviews list more than 400 biotechnology-based pharmaceutical formulations either registered in clinical trials or undergoing review by the regulatory agencies for the treatment of nearly 150 diseases including cancer, infectious diseases, autoimmune diseases, and AIDS /HIV. Biotechnology-based pharmaceuticals already on the markets include: recombinant blood factors, recombinant hormones, cytokines, vaccines, monoclonal antibody-based products, and therapeutic enzymes.

This book focuses on the general formulation uncluding aspects of production, delivery, stability, and analysis of biotechnology-based pharmaceuticals. Pharmaceutical formulation is, however, an interdisciplinary science, and a successful formulation of a biotechnology-based drug depends on a thorough understanding of, for example, recombinant DNA technology, purification technology, physicochemical and biological characteristics of the biomacromolecule including pharmacokinetic properties and immunogeneticity.

Typically, the biotechnology-based pharmaceuticals are proteins. Therapeutic proteins are available from a number of different sources, for example, animal tissues, plants, microorganisms, and cell culture systems. Gowever, most commercially available therapeutic proteins are produced by large-scale fermentation using either recombinant microorganisms or mammalian cells as sources. In contrast to extraction from, for example, animal material, one, of the advantages of recombinant technology is the possibility of producing pure substances in large quantities. In addition, recombinant technology makes it possible to produce substances that previously were impossible to produce in sufficient quantities. Another advantage of recombinant technology is the possibility to introduce chemical modifications to alter the physicochemical or pharmacokinetic characteristics of a protein to improve the stability or the therapeutic effect. This will be exemplified later. To clone a DNA molecule, it must be introduced into a host cell, where it is allowed to be replicated. This amplification of the original DNA sequence enables the production of proteins by large-scale fermentation.

The proteins obtained by fermentation are either secreted by the host cells into the culrute medium or maintained intracellularly. In the subsequent downstream processing, extracellular proteins are normally much simpler to purify than intracellular proteins, as there is no requirement to disrupt the cells to harvest the protein. The protein product is present – often in low concentrations – in a crude, very complex mixture of cell fragments including subcellular components as well as a vast number of other cellular proteins. Compared to microbial sources, mammalian cell cultures; for example, Chinese hamster ovary cells are generally more complex production systems, since various supplements, such as serum, often have to be added to the culture media in addition to the nutritional requirements. Addition of serum increases the risk of contamination of the final bulk

protein with blood-borne pathogens. However, for a number of therapeutic proteins, mammalian cells are the cell system of choice since mammalian cells, unlike microorganisms, are capable of conducting important posttranslational reactions such as glycosylation.

The challenge for the bulk production of pharmaceutical proteins lies in the development of a purification process to isolate the protein of interest to obtain a highly purified and properly folded protein, which is a prerequisite for making a safe and therapeutic efficient medicine of optimal quality.

The therapeutic application of biotechnology-based drug substances poses several problems, such as the low permeability across biological membranes due to the inherent physicochemical instability of biomacromolecules as well as their high molecular weight and polar surface characteristics. This implies that biotechnology-based pharmaceuticals for sistemic treatment are administered parentally, althrough efforts are made to improve bioavailability via alternative routes of administration as for instance the nasal, pulmonary, and oral route. A crucial issue to consider is how to overcome these biological barriers, whether the drug delivery system is administered to a patient by pareneral or nonparenteral route of delivery or aimed for local or sistemic effects.

Briefly, upon release of the macromolecular drug from the delivery system, the drug should withstand hydrolysis and enzymatic activity in the extracellular milieu at the site of absorption. In the case of nonparenteral delivery, the unstirred water layer and especially the viscous mucin layer in particular, both present at the surface of epithelia constitute a barrier for absorption of biotechnology-based pharmaceuticals and must be permeated for the biomacromolecule to reach the surface of the epitelial membrane. A barrier of mucus cell layer does not cover endothelia. Irrespective of the delivery route, the cell layer must be permeated to reach the underlying capillaries. Permeation occurs sporadically by different mechanisms, for example, passive para- or transcellular diffusion or endocytotic transport mechanisms such as macropinocytosis.For macromolecular drugs such as proteins, the mechanism is belived to be dependent on the size, as its uptake and transport are expected to occut mainly by endocytosis. During the permeation of the epithelial or endothelial cell layer, the stability of the biomacromolecule is further challenged by the intra- and extracellular enzyme activity before the site of action is reached.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Глик Б., Пастернак Дж., Молекулярная биотехнология /М., Мир, 2002, Сс 33-67.
2. Т. П. Прищеп, В. С. Чучалин, К. Л. Зайков, Л. К. Михалева, Л. С. Белова. Основы фармацевтической биотехнологии. Ростов-на-Дону, Томск. 2006. 251 с.
3. Катлинский А. В., Сазыкин Ю.О., Орехов С.Н., Чакалева И.И. Курс лекций по биотехнологии. М., 2005. 152 С.
4. Lene Jorgensen, Hanne Moerck Nielsen, and Sven Frokjaer. Biotechnology – Based Pharmaceuticals//Modern Pharmaceutics. Vol.2. Informa USA. 2009. Pages 259-285.
5. Д. Пальм, Г. Фюльграфф. Клиническая Фармакология и фармакотерапия. Минск. 1996. 646 с.
6. В.Г.Кукес., А.К.Стародубцев. Клиническая фармакология и фармакатерапия. М.,ГЭОТАР-Медиа. 2006. 640 С.
7. ა. ბაკურიძე. წამლის სამრეწველო ტექნოლოგია. თბილისი. 2006. 683 გვ.
8. სამკურნალო საშუალებათა სახელმწიფო რეესტრი.
9. Чуешов В.И. Промышленная технология лекарств в двух томах. Т. 2. Харьков. 2002. 715 С.
10. მანონ გაბელაშვილი-ბრეგაძე. მიკრობიოლოგია. ტ. 1. ქუთაისი. 2009. 446 გვ.
11. მანონ გაბელაშვილი-ბრეგაძე, იზოლდა რუსაძე. მიკრობიოლოგიური ტერმინების განმარტებითი ლექსიკონი. ქუთაისი. 2009. 247 გვ.
12. გ. კვესიტაძე, ე. კვესიტაძე. ბიოტექნოლოგია. თბ. 1999. გვ. 202-203; 406-413.
13. Краснюк И.И. Фармацевтическая технология (Технология лекарственных форм). М.: Академия. 2007. 589 С.
14. Технология лекарственных форм. в двух томах. т. 2 М.: Медицина 1991.544 С.
15. ინტერნეტ-რესურსები// მოსკოვის სეჩენოვის სამედიცინო აკადემიის ტესტები.
16. РЛС – аптекарь. 2000
17. М. Д. Машковский. Лекарственные средства. В двух томах.М., 2002.
18. Modern Biotechnology: Connecting Innovations in Microbiology and Biochemistry to Engineering Fundamentals Book Wiley-AIChE | 2009 | ISBN: 0470114851 | 433 page
19. Pharmaceutical biotechnology: concepts and applications By Gary Walsh West Sussex PO19 8SQ. England. 2007. P.480.
20. Pharmaceutical Biotechnology, Second Edition Michael J. Groves CRC Press; August 29, 2005. 432 pages.
21. Marilyn K. Spedle, Robert D. Sindelar, Gary C. Yee, Joseph A. Tami, and Curtis D. Blank. Biotechnology in the Pharmacy Curriculum: A Progress Report// American Journal of Pharmaceutical Education. Vol. 58, Winter 1994. pages 458-465.

ნინო აბულაძე - აკაკი წერეთლის სახელმწიფო უნივერსიტეტის მედიცინის ფაკულტეტის ფარმაციისა და სტომატოლოგიის დეპარტამენტის პროფესორი, ფარმაციის დოქტორი. 1977 წელს წარჩინებით დაამთავრა თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტის ფარმაცევტული ფაკულტეტი, 1993 წელს დაიცვა საკანდიდატო დისერტაცია, 1996 წლიდან მუშაობს ქუთაისის აკაკი წერეთლის სახელმწიფო უნივერსიტეტში. 2006 და 2011 წლებში კონკურსით არჩეულია ფარმაციისა და სტომატოლოგიის დეპარტამენტის ასოცირებულ პროფესორად, ხოლო 2020 წ. - პროფესორად.

გამოქვეყნებული აქვს 75-ზე მეტი სამეცნიერო შრომა და რამდენიმე სახელმძღვანელო; მონაწილეობას იღებდა რესპუბ-ლიკურსა და საერთაშორისო კონფერენციებში. მისი ინტერესების სფეროა წამალთა ტექნოლოგია, ფარმაციის ორგანიზაცია და ეკონომიკა. მონაწილეობს ფარმაციის საბაკალავრო და სამაგისტრო პროგრამების განხორციელებაში. ფლობს რუსულ და ინგლისურ ენებს. ჰყავს მეუღლე და ქალიშვილი.

ფარმაცევტული ბიოტექნოლოგიის განვითარება საქართველოს სინამდვილეში სერიოზულ ფინანსურ პრობლემებს გულისხმობს, მაგრამ მასზე, როგორც ფარმაცევტული ტექნოლოგიის შემადგენელ ნაწილზე, ყველა ფარმაცევტ-სპეციალისტს უნდა ჰქონდეს სათა-ნადო ცოდნა. წინამდებარე სახელმძღვანელოც სწორედ ამ მიზნებს ემსახურება. იგი ქართულ ენაზე ამგვარი სახელმძღვანელოების პირველი მცდელობაა და ცხადია, არაა დაზღვეული ხარვეზე-ბისაგან. ავტორები მადლიერებით მიიღებენ ყველა გამოთქმულ მოსაზრებას და გაითვალისწინებენ მას მომავალში.