2-ДӘРІС. Инженерлік биотехнологиядағы жасушалық технологиялар және олардың өндірістік қолданылуы

Пән: CHE6281 – Инженерлік биотехнология
Білім беру бағдарламасы: 6B05105 – Биотехнология
Дәріс түрі: Теориялық дәріс
Ұзақтығы: 2 академиялық сағат

Дәрістің мақсаты

Студенттерге жасушалық технологиялардың ғылыми негіздерін, жасушаларды жасанды ортада өсіру принциптерін, жасушалық линиялардың ерекшеліктерін, биотехнологиялық өндірісте қолданылатын жасушалық жүйелерді және олардың өнеркәсіптік маңызын жан-жақты түсіндіру.

Дәріс жоспары

Жасушалық технологиялардың түсінігі және даму тарихы

Жасушалық технологиялардың негізгі түрлері

Жасушаларды жасанды қоректік ортада өсіру принциптері

Жасушалық линиялар және олардың жіктелуі

Жасушалық инженерия және генетикалық модификация

Жасушаларды биореакторларда өсіру технологиялары

Жасушалық өнімдерді бөліп алу және тазарту

Жасушалық технологиялардың өнеркәсіптік қолданылуы

Жасушалық өндірістің тиімділігі және сапаны бақылау

Жасушалық биотехнологияның заманауи бағыттары мен даму перспективалары

1. Жасушалық технологиялардың түсінігі және даму тарихы

1.1. Жасушалық технология дегеніміз не?

Жасушалық технологиялар – тірі жасушаларды, жасушалық культураларды және олардың биологиялық компоненттерін пайдалана отырып, ғылыми зерттеулер жүргізуге, жаңа биологиялық өнімдер алуға және өндірістік процестерді жүзеге асыруға арналған әдістер мен технологиялар жиынтығы.

Жасушалық технологиялар инженерлік биотехнологияның маңызды бағыттарының бірі болып табылады. Олардың негізінде жасушалардың өсуі, көбеюі, дифференциациясы, метаболизмі және генетикалық ақпаратты жүзеге асыру қабілеттері жатыр.

Дәстүрлі химиялық өндірісте өнімдер көбінесе химиялық реакциялар арқылы алынса, жасушалық биотехнологияда биологиялық синтез механизмдері

пайдаланылады. Мысалы, күрделі ақуыздарды химиялық жолмен синтездеу көп сатылы және қымбат процесс болуы мүмкін. Ал генетикалық түрлендірілген жасушалар белгілі бір ақуызды биологиялық жолмен синтездей алады.

Биологиялық белсенді қосылыстарды өндіру

Рекомбинантты ақуыздар мен гормондарды алу

Моноклоналды антиденелерді өндіру

Вакциналар мен диагностикалық препараттарды әзірлеу

Өсімдіктердің бағалы сорттарын көбейту

Жасушалық және тіндік инженерияны дамыту

Дәрілік заттардың тиімділігі мен қауіпсіздігін зерттеу

1.2. Жасушалық технологиялардың даму тарихы

Жасушалық технологиялардың қалыптасуы микроскопия, микробиология және эксперименттік биологияның дамуымен байланысты. 1907 жылы Росс Харрисон жануар ұлпасының жасушаларын организмнен тыс жағдайда өсіруге болатындығын тәжірибе жүзінде көрсетті. Бұл зерттеу жасушалық культура технологиясының дамуына негіз болды.

XX ғасырдың ортасында жасушаларды өсіруге арналған қоректік орталар жетілдіріліп, тұрақты жасушалық линиялар алынды. 1951 жылы HeLa жасушалық линиясы алынып, жасушалық биология мен медициналық зерттеулерде кеңінен қолданылды. Бұл линияның тарихы биомедициналық зерттеулердегі келісім мен этикалық мәселелердің маңызын да көрсетті.

1975 жылы Жорж Кёлер мен Сезар Мильштейн моноклоналды антиденелер алу үшін гибридома технологиясын ұсынды. Кейін генетикалық инженерияның дамуы жасушаларды қажетті ақуыздарды синтездейтін биологиялық өндірістік жүйелерге айналдыруға мүмкіндік берді. Қазіргі уақытта жасушалық технологиялар биофармацевтикада, регенеративтік медицинада, биоматериалдар өндірісінде және өнеркәсіптік биотехнологияда кеңінен қолданылады.

2. Жасушалық технологиялардың негізгі түрлері

2.1. Микроорганизмдер жасушаларына негізделген технологиялар

Бұл технологияларда бактериялар, ашытқылар және микроскопиялық саңырауқұлақтар пайдаланылады. Микроорганизмдердің басты артықшылықтары – көптеген түрлерінің салыстырмалы түрде жылдам көбеюі, қоректік орталарға бейімделуі және өнеркәсіптік масштабта өсіруге қолайлылығы.

Escherichia coli – рекомбинантты ақуыздар өндіруге арналған кең таралған модельдік жүйе. Saccharomyces cerevisiae – тағамдық ферментацияда және рекомбинантты өнімдер өндірісінде қолданылады. Bacillus subtilis – өнеркәсіптік ферменттерді өндіру үшін пайдаланылады.

2.2. Жануарлар жасушаларына негізделген технологиялар

Жануарлар жасушалары күрделі биологиялық молекулаларды, әсіресе дұрыс кеңістіктік құрылым мен посттрансляциялық модификацияларды қажет ететін ақуыздарды өндіру үшін маңызды. Олардың жасушалық құрылымы күрделі, ақуыздардың гликозилденуі сияқты модификацияларды жүзеге асырады, қоректік ортаға және өсіру жағдайларына сезімтал, өндірістік процестерде мұқият бақылауды талап етеді. Олар биофармацевтикалық препараттар, терапиялық антиденелер және кейбір вакциналар өндірісінде қолданылады.

2.3. Өсімдік жасушаларына негізделген технологиялар

Өсімдік жасушалары мен ұлпаларын жасанды қоректік ортада өсіру өсімдік биотехнологиясының негізгі әдістерінің бірі болып табылады. Бұл технологияның көмегімен өсімдіктерді клондық көбейтуге, бағалы генотиптерді сақтауға және екіншілік метаболиттер алуға болады. Өсімдік жасушаларының маңызды қасиеті – кейбір жасушалардың қолайлы жағдайда тұтас өсімдікті қалпына келтіруге қабілеттілігі. Бұл құбылыс тотипотенттілік деп аталады.

3. Жасушаларды жасанды қоректік ортада өсіру принциптері

Жасушаларды организмнен тыс жағдайда өсіру in vitro технологиясы деп аталады. Жасушалардың тіршілік әрекетін сақтау үшін олардың табиғи ортасына жақын физикалық және химиялық жағдайлар қамтамасыз етіледі.

3.1. Қоректік ортаның құрамы

Қоректік орта жасушалардың энергия алмасуына, биомасса түзуіне және қажетті өнімді синтездеуіне қажетті заттардан тұрады. Көмірсулар (глюкоза) энергия мен көміртек көзі; аминқышқылдары – ақуыз синтезінің құрылыс материалы; минералды тұздар – осмостық тепе-теңдік пен ферментативтік процестер үшін; витаминдер – көптеген реакциялардың коферменттері немесе прекурсорлары; өсу факторлары – жасушалардың көбеюі мен тіршілігін реттейтін сигналдық молекулалар.

Жануарлар жасушаларын өсіруде DMEM, RPMI-1640, MEM және басқа қоректік орталар қолданылады. Нақты ортаны таңдау жасушалық линияның талаптарына байланысты.

3.2. Жасушалардың өсуіне әсер ететін факторлар

Фактор	Жасушаға әсері
Температура	Метаболизм және ферментативтік белсенділік
pH	Ферменттердің қызметі және иондық тепе-теңдік
Оттегі	Энергия алмасуы және жасушалық тыныс алу
Қоректік заттар	Биомасса және биосинтез
Осмостық қысым	Жасуша көлемі мен мембраналық тұрақтылық
Метаболиттердің жиналуы	Жасушалық белсенділік пен өнім сапасы

Өндірістік жағдайда бұл факторлар арнайы датчиктер мен автоматтандырылған басқару жүйелері арқылы бақыланады.

3.3. Жасушалардың өсу кезеңдері

Лаг-фаза: жасушалар жаңа ортаға бейімделеді. Логарифмдік фаза: жасушалардың көбею жылдамдығы жоғары. Стационарлық фаза: популяция саны салыстырмалы тұрақтанады. Төмендеу фазасы: тіршілікке қабілетті жасушалар саны азаяды. Бұл модель көбіне жабық жүйедегі микробтық культураларға тән; жануарлар жасушаларының өсуі өзгеше болуы мүмкін.

Өсу қисығының схемасы: Лаг-фаза → Логарифмдік фаза → Стационарлық фаза → Төмендеу фазасы.

4. Жасушалық линиялар және олардың жіктелуі

Жасушалық линия – бастапқы жасушалық культурадан алынған және зертханалық жағдайда көбейтілетін жасушалар популяциясы. Олар стандартталған биологиялық модель ретінде қолданылады.

4.1. Біріншілік жасушалық культуралар

Біріншілік культуралар организмнен алынған жасушалардан қалыптасады. Олар бастапқы ұлпаның кейбір физиологиялық қасиеттерін сақтайды және көбіне көбею мүмкіндігі шектеулі.

4.2. Шектеулі өмір сүру ұзақтығы бар линиялар

Бұл жасушалар белгілі уақыт аралығында көбейеді, бірақ кейін бөліну қабілетін жоғалтуы мүмкін.

4.3. Үздіксіз жасушалық линиялар

Үздіксіз линиялар тиісті жағдайда ұзақ уақыт бойы көбейе алады. Ұзақ өсіру кезінде генетикалық және фенотиптік өзгерістер жинақталуы мүмкін.

4.4. Өнеркәсіпте қолданылатын линиялар

CHO (Chinese Hamster Ovary) – рекомбинантты ақуыздар мен моноклоналды антиденелерді өндіруге қолданылады. HEK293 – ақуыз экспрессиясын зерттеуде және биотехнологиялық платформаларда қолданылады. Vero – вирусологияда және кейбір вакциналық өндіріс платформаларында қолданылады. SH-SY5Y – нейробиологияда және нейродегенеративтік процестерді модельдеуде пайдаланылады.

5. Жасушалық инженерия және генетикалық модификация

Жасушалық инженерия жасушалардың биологиялық қасиеттерін мақсатты өзгертуге және олардың функционалдық мүмкіндіктерін кеңейтуге бағытталған. Ол генетикалық инженерия, жасушалық селекция, гибридизация және биоматериалдар технологияларымен байланысты.

5.1. Генетикалық инженерия

Генетикалық инженерия арқылы жасушаларға жаңа генетикалық ақпарат енгізілуі немесе олардың геномындағы белгілі аймақтар өзгертілуі мүмкін. Бұл қажетті ақуыз синтезін күшейтуге, метаболикалық жолдарды зерттеуге және жаңа жасушалық модельдер алуға мүмкіндік береді.

5.2. Рекомбинантты ақуыздар өндірісі

Жалпы технологиялық схема: мақсатты ақуызды және экспрессиялық жүйені таңдау → өнім өндіретін жасушалық жүйені қалыптастыру → жасушалық культурада синтездеу → бөліп алу және тазарту → сапасын, тазалығын және белсенділігін бағалау.

5.3. Гибридома технологиясы

Гибридома технологиясы моноклоналды антиденелер өндіруге арналған классикалық жасушалық технология. Оның ғылыми негізі – антидене өндіретін В-лимфоциттің қасиеттерін ұзақ көбейе алатын жасушалық жүйемен біріктіру. Моноклоналды антиденелер диагностикада, ғылыми зерттеулерде және биофармацевтикада қолданылады.

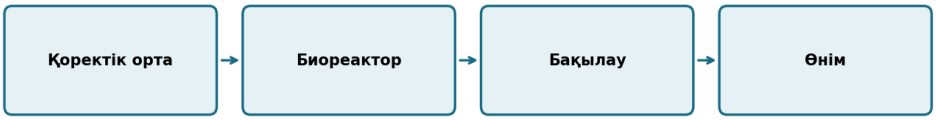
6. Жасушаларды биореакторларда өсіру технологиялары

Өнеркәсіптік биотехнологияда жасушаларды үлкен көлемде өсіру үшін биореакторлар қолданылады. Биореактор – биологиялық процестерді бақылауға және басқаруға арналған инженерлік құрылғы.

6.1. Биореактордың негізгі компоненттері

Реактор корпусы – жасушалық культура орналасатын жабық ыдыс. Араластыру жүйесі – қоректік заттардың біркелкі таралуына ықпал етеді. Газ алмасу жүйесі – газдық ортаны қамтамасыз етеді. Температураны реттеу жүйесі

– температураны тұрақты ұстайды. pH және еріген оттегі датчиктері – параметрлерді бақылайды. Басқару жүйесі – өлшеулер негізінде жұмыс режимін реттейді.



Сурет. Биореакторлық процестің технологиялық схемасы (иллюстрациялық).

6.2. Биореакторлардың түрлері

Араластырғышы бар биореакторлар сұйық ортадағы жасушаларды өсіруге арналған. Ауа ағынымен араластырылатын биореакторларда сұйықтық қозғалысы газ ағыны арқылы қамтамасыз етіледі. Мембраналық биореакторлар жасушаларды немесе өнімдерді ұстап қалуға мүмкіндік береді. Перфузиялық жүйелерде жаңа қоректік орта беріліп, пайдаланылған орта немесе өнім шығарылып отырады.

6.3. Жасушаларды өсіру режимдері

Batch – қоректік орта бастапқыда беріледі, процесс белгілі уақыт жүргізіледі. Fed-batch – өсіру барысында қоректік заттар қосылады. Continuous – жаңа орта енгізіліп, культура сұйықтығы шығарылып отырады. Fed-batch режимі биофармацевтикалық өндірісте кең таралған.

7. Жасушалық өнімдерді бөліп алу және тазарту

Өнім түзілгеннен кейін оны бөліп алу, тазарту және сапасын бағалау кезеңдері жүргізіледі. Бұл downstream processing деп аталады. Өнімнің жасуша ішінде немесе культура сұйықтығында орналасуына байланысты технологиялық тәсілдер өзгереді.

7.1. Өнімдерді бөліп алу

Центрифугалау – жасушалар мен сұйық фазаны тығыздық айырмашылығы негізінде бөлу. Сүзу – қатты бөлшектерді немесе жасушаларды бөлу. Мембраналық бөлу – молекулалар мен бөлшектерді өлшемдік және басқа қасиеттері бойынша ажырату.

7.2. Өнімдерді тазарту

Биофармацевтикалық өнімдерді тазарту үшін ионалмасу, өлшемдік эксклюзия және аффиндік хроматография қолданылады. Әдіс өнімнің молекулалық қасиеттеріне және тазалық талаптарына қарай таңдалады.

7.3. Өнім сапасын бақылау

Өнімнің сәйкестігі

Тазалық дәрежесі

Биологиялық белсенділігі

Тұрақтылығы

Микробиологиялық қауіпсіздігі

Өндірістік қоспалардың мөлшері

8. Жасушалық технологиялардың өнеркәсіптік қолданылуы

8.1. Биофармацевтикалық өндіріс

Биофармацевтика – тірі жүйелер көмегімен дәрілік биологиялық өнімдерді өндіруге бағытталған сала. Жасушалық технологиялар арқылы моноклоналды антиденелер, рекомбинантты гормондар, терапиялық ақуыздар және кейбір вакциналық өнімдер алынады. CHO жасушалары күрделі ақуыздардың синтезін және белгілі посттрансляциялық модификацияларын қамтамасыз ете алады.

8.2. Ауыл шаруашылығындағы қолданылуы

Өсімдік жасушалары мен ұлпаларының культуралары микроклондық көбейту үшін қолданылады. Бұл әдіс бағалы өсімдік сорттарының генетикалық қасиеттерін сақтап, көп мөлшерде көшет алуға мүмкіндік береді.

8.3. Тамақ өнеркәсібіндегі қолданылуы

Жасушалық технологиялар тағамдық ингредиенттер, ферменттер және биологиялық өнімдерді өндіруде қолданылады. Ашытқылар нан өндірісінде, сүтқышқылды бактериялар ашытылған сүт өнімдерін дайындауда маңызды. Жасушалық ауыл шаруашылығының жаңа бағыты – жануарлар жасушаларын өсіру арқылы тағамдық өнімдер жасау.

8.4. Экологиялық биотехнология

Микроорганизмдер органикалық заттарды метаболикалық процестер арқылы түрлендіріп, ағын суларды тазарту, қалдықтарды өңдеу және биоремедиация жүйелерінде пайдаланылады.

9. Жасушалық өндірістің тиімділігі және сапаны бақылау

9.1. Өндірістің негізгі көрсеткіштері

Өнім концентрациясы (титр) – культура көлемінің бірлігіндегі мақсатты өнім мөлшері: $C_p = m_p / V$, мұнда m_p – өнім массасы (г), V – культура көлемі (л).

Көлемдік өнімділік: $Q_p = \Delta m_p / (V \times \Delta t)$, мұнда Δm_p – уақыт аралығында түзілген өнім массасы, Δt – уақыт аралығы. Бұл теңдеу көлемі тұрақты жүйелер үшін қарапайым бағалау болып табылады.

9.2. Есептеу мысалы

Биореактордағы культура көлемі 100 л, алынған мақсатты ақуыз массасы 250 г. Өнім концентрациясы: $C_p = 250 / 100 = 2,5$ г/л. Егер бұл мөлшер 50 сағат ішінде түзілсе, орташа көлемдік өнімділік: $Q_p = 250 / (100 \times 50) = 0,05$ г/(л·сағ).

9.3. Өндірістік масштабтау

Scale-up – зертханалық технологияны үлкен көлемдегі өндірістік жүйеге көшіру. Араластыру тиімділігі, оттегі берілуі, жылу алмасу, механикалық әсер және өнім сапасының тұрақтылығы ескеріледі. Зертханада тиімді процесс өндірісте дәл сондай нәтиже бермеуі мүмкін.

10. Жасушалық биотехнологияның заманауи бағыттары

10.1. Үшөлшемді жасушалық культуралар

Үшөлшемді культуралар жасушалардың кеңістіктік ұйымдасуын және жасушааралық байланыстарын модельдеуге мүмкіндік береді. Оларға сфероидтар, органоидтар және биоматериалдарға негізделген культуралар жатады.

10.2. Органоидтық технологиялар

Органоидтар – белгілі ағза немесе ұлпаның кейбір құрылымдық және функционалдық қасиеттерін модельдейтін үшөлшемді жасушалық жүйелер. Олар даму биологиясында, ауруларды модельдеуде және дәрілік заттарды зерттеуде қолданылады.

10.3. Микрофлюидтік технологиялар

Микрофлюидтік жүйелер өте аз көлемдегі сұйықтық ағындарын басқаруға негізделеді. Олар жасушалардың микроортаға реакциясын зерттеуге және шағын көлемдегі талдау жүйелерін жасауға мүмкіндік береді.

10.4. Биопринтинг

Үшөлшемді биопринтинг жасушалар мен биоматериалдарды кеңістікте белгілі құрылым бойынша орналастыруға негізделеді. Бұл технология тіндік инженерия мен регенеративтік медицинада зерттелуде.

10.5. Жасанды интеллект және автоматтандыру

Жасанды интеллект жасушалық культуралардың өсу динамикасын талдауға, параметрлерді болжауға, микроскопиялық кескіндерді өңдеуге және өндірістік процестерді оңтайландыруға көмектеседі.

11. Өндірістік жағдайды талдау

Мысал: кәсіпорын CHO жасушалары негізінде биофармацевтикалық өнім өндіреді. Жасушалардың өсу жылдамдығы төмендеп, өнім концентрациясы азайды. Ықтимал себептері: қоректік заттардың жеткіліксіздігі, метаболиттердің жиналуы, газ алмасудың өзгеруі немесе культураның физиологиялық күйі.

Мәселені талдау үшін өндірістік көрсеткіштер мен өнім сапасын салыстыру қажет.

Жасушалардың өсу жылдамдығына қандай факторлар әсер етуі мүмкін?

Биореактордағы pH және еріген оттегіні бақылаудың маңызы қандай?

Өнім концентрациясының төмендеуін қандай көрсеткіштер арқылы анықтауға болады?

Өндірістің тиімділігін бағалау үшін қандай деректер қажет?

Қорытынды

Жасушалық технологиялар инженерлік биотехнологияның маңызды ғылыми және өндірістік бағыттарының бірі. Жасушалық культураларды өсіру, линияларды таңдау, биореакторлық технологияларды пайдалану және өнімдерді тазарту өзара байланысты кезеңдер. Қазіргі уақытта бұл технологиялар биофармацевтика, ауыл шаруашылығы, тамақ өнеркәсібі, экология және регенеративтік медицинада дамуда. Инженерлік биотехнология маманы биологиялық ерекшеліктермен қатар өндірістің тиімділігі, сапасы және қауіпсіздігін қамтамасыз ететін инженерлік принциптерді меңгеруі қажет.

Бақылау сұрақтары

Жасушалық технологиялар дегеніміз не және олардың инженерлік биотехнологиядағы маңызы қандай?

Жасушалық технологиялардың негізгі түрлерін сипаттаңыз.

Прокариоттық және эукариоттық жасушаларды өндірістік қолдану тұрғысынан салыстырыңыз.

Жасушаларды in vitro жағдайында өсірудің негізгі принциптерін түсіндіріңіз.

Қоректік ортаның құрамына қандай компоненттер кіреді?

Жасушалық линиялардың негізгі түрлері қандай?

CHO жасушаларының биофармацевтикалық өндірістегі маңызын түсіндіріңіз.

Гибридома технологиясының ғылыми принципі қандай?

Биореакторлардың негізгі түрлерін атаңыз.

Batch, fed-batch және continuous режимдерінің айырмашылықтарын түсіндіріңіз.

Downstream processing дегеніміз не?

Өнім концентрациясы мен көлемдік өнімділік қалай есептеледі?

Өндірістік масштабтау кезінде қандай мәселелер туындайды?

Органоидтар мен үшөлшемді жасушалық культуралардың ерекшеліктері қандай?

Жасанды интеллект жасушалық биотехнологияда қандай міндеттерді шешуге көмектеседі?

Пайдалануға ұсынылатын әдебиеттер

Doran P. M. Bioprocess Engineering Principles. 2nd ed. Academic Press, 2013.

Freshney R. I. Culture of Animal Cells. 7th ed. Wiley-Blackwell, 2016.

Shuler M. L., Kargi F., DeLisa M. Bioprocess Engineering: Basic Concepts. 3rd ed. Pearson, 2017.

Alberts B. et al. Molecular Biology of the Cell. 7th ed. W. W. Norton & Company, 2022.

Walsh G. Biopharmaceuticals: Biochemistry and Biotechnology. 2nd ed. Wiley, 2003.