

## **ПТР ТЕХНОЛОГИЯЛАРЫ НЕГІЗІНДЕ АУРУЛАРДЫ ДИАГНОСТИКАЛАУ ӘДІСТЕРІ МЕН ҚҰРАЛДАРЫН ЗЕРТТЕУ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ МЕТРОЛОГИЯЛЫҚ ҚАМТАМАСЫЗ ЕТУ**

**Есмағамбет Ақнұр Дастанқызы**

*aknur9595@mail.ru*

Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің 2 курс магистранты,

Нұр-Сұлтан, Қазақстан

Ғылыми жетекші – т.ғ.к., доцент Киргизбаева К.Ж.

Кез-келген зерттеу облысында зерттеу әдістерін дұрыс тандай білу өте өзекті мәселелердің бірі. Бұл мәселе әсіресе емдеу тактикасы мен стратегиясын тандау кезінде дұрыс диагностика үлкен рөл ойнайтын медицина мен адам денсаулығын қорғау саласында өте маңызды.

Қазақстанда соңғы 2015-2017 жылдары онкологиялық аурулардың көрсеткіші 2011 жылмен салыстырғанда 100 000 адамға шаққанда 183,1 адамнан 208,8 адамға дейін саны артқан. Жыл сайын барлық аудандар бойынша бұл көрсеткіш 5-8 пайызға дейін көбейіп келеді. Ал АҚШ Ұлттық ісік аурулары институтының мәліметіне сүйенсек, Қазақстан әлем бойынша онкологиялық аурулардан туындайтын өлім көрсеткішінен жоғары деңгейде және 15-16 позицияны иеленіп отыр. Бұл көрсеткішті төмендету үшін диагностикалау мен емдеу саласына бағытталған іс-шаралар кеңінен жүргізілуде. Сондай шаралардың бірі - медицина саласына жаңа инновациялық сандық технологияларды енгізу.

Диагностикалаудың жоғары технологиялы зертханалық әдістері мен сандық технологиялары көптеген ауруларды алғашқы сатыларында - ақ анықтауға мүмкіндік береді. Полимеразды тізбекті реакция әдісі (ПТР) – диагностикадағы ең жаңа әрі дәлдігі жоғары әдістердің бірі. Бұл әдіс миллиондаған ДНК көшірмесінің ішінде керекті жалғыз өзгеріске ұшыраған ДНК молекуласын анықтау үшін пайдаланылады. Молекулярлы биология саласындағы осы ең табысты жаңалықты ашқаны үшін Кэри Муллис 1993 ж. Нобель сыйлығына ие болған. Осы жаңалықтың арқасында ДНК зерттеліп отқан облысындағы мәндерді алу тез жүзеге асырылатын болды, сонымен қатар ПТР инфекциялық, гендік және онкологиялық ауруларды диагностикалау кезінде медицинада кеңінен қолданысқа ие. Бұдан бөлек ПТР әдісін криминалистика саласында да қылмыс орнында табылған биоматериал кімге тиесілі екенін анықтау үшін, және әкелікті анықтау кезінде де қолданады.

ПТР анықтаудың кеңінен тараған 2 әдісі бар: классикалық (сапалық) және реал тайм әдістері (сандық). Классикалық әдіс ұзақ уақытты алады және зертханалық жұмыстарды орындау үшін тек біліктілігі жоғары дәрігерлер керек. Өзінің өте сезімталдығының әсерінен классикалық жолмен анықталған ПТР микробтардың өлі бөліктерін де табатындықтан, нәтижесі теріс, сенімсіз болуы мүмкін. Оған қоса электрофорграммаларды визуалды талдау негізінде алынған деректерді түсіндірудегі субъективизм, ПТР талдауының электрофоретикалық кезеңін стандарттаудың болмауы (Лаборанттың «даулы» нәтижелерін субъективті қабылдау) секілді мәселелер де орын алады. Бұл мәселелерді шешу үшін ауруларды диагностикалау әдістерінің заманауи реал тайм әдістемесін кеңінен қолданысқа енгізу керек.

Соңғы онжылдықта ПТР техникалық жағынан қиын осындай классикалық микробиологиялық әдістен қарапайым және ыңғайлы автоматталған реал тайм әдістеріне дейін дамыды. Реал тайм әдісі арқылы ПТР әдісін жүргізудің басты артықшылығы - оның жылдамдығы. Орта есеппен ПТР сандық әдісімен биологиялық материалды сараптауды жүргізуге 2-ден 3 сағатқа дейінгі уақыт кетеді. Оның негізгі ерекшелігі - ПТР азықтарының жинақталуына мониторинг және нақты сандық талдау жасау, сондай-ақ автоматты түрде тіркеу және алынған нәтижелерді түсіндіру. Бұл әдіс электрофорез сатысын қажет етпейді және зерттеудегі жоғары сезімталдыққа ие және әртүрлі қоздырғыштарды анықтаудағы жан-

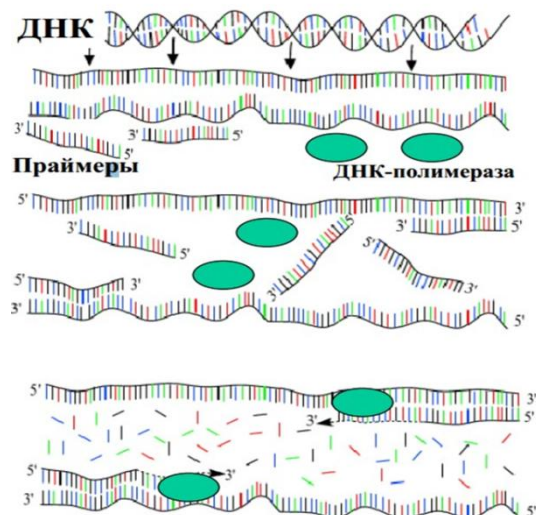
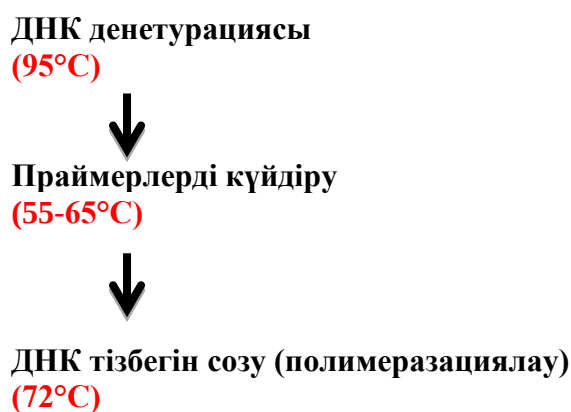
жақтылығы, яғни зерттеліп отырған үлгіде қоздырғыш бір ғана клеткада болса да анықтай алады. Осы көрсеткіштерінің арқасында көптеген ірі дамыған елдердің санитариялық-эпидемиялық, диагностикалық және ғылыми зерттеу орталықтарында, сынау және медициналық зертханаларында соңғы жылдары реал тайм әдістері табысты қолданылып келеді.

Сынау және медициналық зертханаларда полимеразды тізбекті реакцияның негізінде ДНК тестілеу үшін реал тайм әдісі бойынша термоциклер және термоциклдеуші құрал-жабдықтар қолданады (1-сурет). Термоциклер - ПТР нәтижесіне әсер ететін құраушылардың (реагент, ДНК-матрица, олигонуклеотидтер) ішіндегі негізгілерінің бірі. Себебі ПТР реал тайм технологиясы 3 сатылы термоциклдеу программасына негізделген: ДНК денатурациясы, күйдіру, созу. Термоциклер қалыпты жұмыс жасау үшін жүйелі түрде калибрлеуді қажет етеді.



1-сурет. Реал тайм әдістері үшін термоциклер

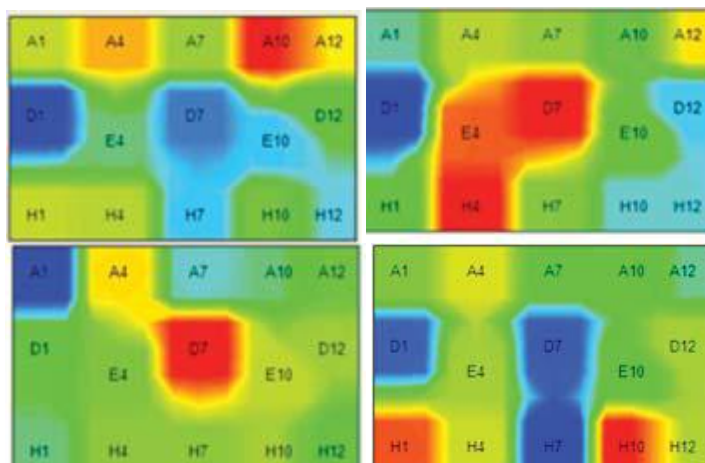
Полимеразды тізбекті реакциясының қорытынды нәтижесінің ауытқуына көптеген факторлар әсер етуі мүмкін. Соның ішінде ферментативті реакциясының әсерінен температура ең маңызды факторлардың бірі болып табылады. Себебі ПТР тек әрбір саты үшін температура қатаң сақталса ғана нәтижесін тура шығарады (2-сурет).



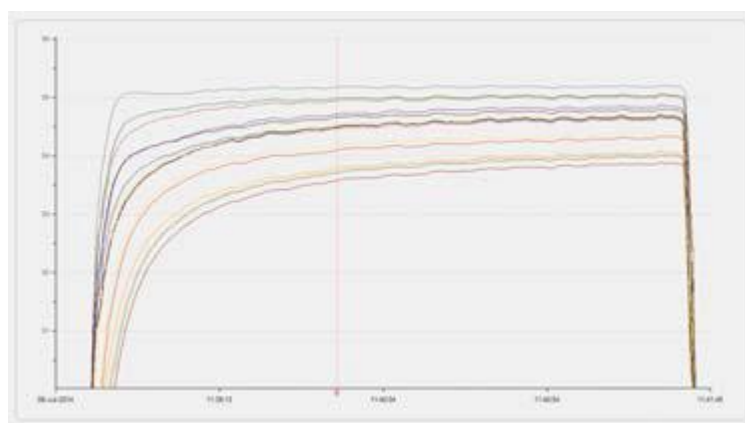
2-сурет. Полимеразды тізбекті реакция сатылары

Жалпы температуралық ауытқулардың келесідей түрлері бар:

1. Біртексіздік – бір өндірушінің термоциклдерінің ішіндегі термоблоктың температурасының таралуының индивидуалды айырмашылығы:
- 2.

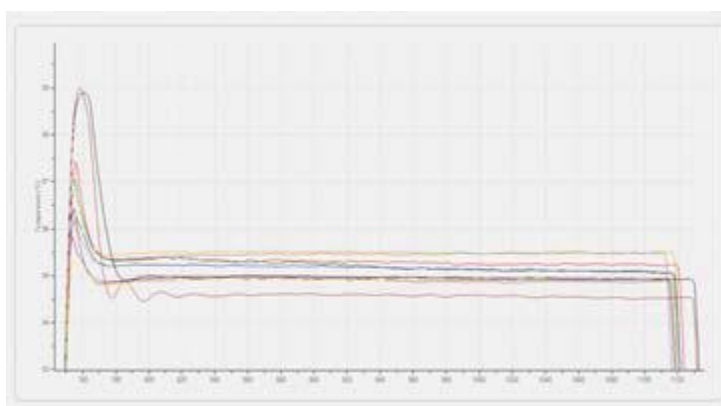


2. Блок ішінде берілген температурадан ауытқу:



*Әртүрлі лункалардағы температурасының арасындағы айырмашылық  $1,5-2^{\circ} \text{C}$  жетуі мүмкін.*

3. Бір модельдің индивидуалдық термоциклдер өнімділігінің айырмашылығы – өлшем мен уақыттың «серпілісінің» (проскок) өзгергіштігі:



*Өлшем серпілісі әртүрлі модельде 7-8 градусқа дейін жетуі мүмкін және 15-20 секундқа дейін созылуы мүмкін.*

Осындай секілді әсерлер қорытынды нәтижеге әсер етіп, қате есептеулер жүргізуге жеткізуі мүмкін. Термоциклдердің өзгеріске ұшырамасы үшін калибрлеуді және

термоциклердің комбинациясының тексерісін жиі өткізіп тұру керек. ISO / IEC 17025 немесе ISO 15189 бойынша аккредиттелген сынау және медициналық зертханалардың санының артуына байланысты метрологиялық бақыланушы калибрлеуге деген қажеттілік артуда. Пипетка және баланс секілді жалпы зертханалық құрал-жабдықтар үшін бірнеше онжылдықтан бері орнатылған және стандартталған калибрлеу әдістері бар. Ал неғұрлым нақты және аз пайдаланылатын термоцикл секілді құралдар үшін қазіргі таңда стандартталған калибрлеу әдісі жоқ. Сондықтан соңғы уақыттары термикалық циклдың калибрлеу мен тексеру әдістері жоғары сұранысқа ие. Алайда бұл калибрлеу және тексеру әдістерінің көбісін молекулярлық биологтар әзірлеген, яғни метрологиялық тұрғыдан қарастырылмайды.

Калибрлеуді жүргізу үшін барлық жылулық сипаттамалары, яғни біртектілігі, дәлдігі, температураның өсу жылдамдығы және бір температураны ұстап тұру уақыты секілді барлық параметрлер өлшенуі керек. ISO 17025 стандартының талаптарына сәйкес температуралық калибрлеу қоршаған ортаның бақыланатын шарттарында арнайы оқытылған білікті маманмен, өлшеу қателіктерін ескере отырып орындалатын ITS-90 (The International Temperature Scale of 1990) эталондық стандартымен салыстырып қадағалануы керек. Калибрлеу нәтижесін өндірушінің сипаттамаларымен салыстыруға болады, алайда объективті тұрғыдан да талдау жасалынуы керек. Бағдарламаланған хаттаманы бейімдеу арқылы да термоциклерді реттеуге немесе синхрондауға болады.

Сонымен, бұл мақала ПТР реал тайм әдістерін метрологиялық қолдауды қажет ететінін көрсетіп отыр, алайда бұл қымбатқа түсетінін де жасырмайды, дегенмен қазіргі диагностикалаудың дәстүрлі классикалық әдістерімен салыстырғанда өте көп болып отырған оның утилитарлы артықшылықтарынан бас тартуға да болмайды.

#### **Қолданылған әдебиеттер тізімі**

1. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. — М.: Мир, 2002. — 589 бет., илл. — ISBN 5-03-003328-9.
2. Патрушев Л. И. Искусственные генетические системы. — М.: Наука, 2005. — В 2 т. — ISBN 5-02-033278-X.
3. Щелкунов С. Н. Генетическая инженерия. — Новосибирск: Сиб.баспасы, 2004. — 496 бет.; илл. — ISBN 5-94087-098-8.
4. D. Schoder, A.Schmalwieser, G. Schauburger, M. Kuhn, J. Hoorfar, M. Wagner, Физическая характеристика шести новых термоциклеров, Журнал «Клиническая химия», 49(6), 960-963 бет (2003).