

**Белорусский государственный университет**

**УТВЕРЖДЕНО**

Проректор по учебной работе БГУ

А.Л. Толстик

**БИОТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

**Учебная программа для специальности:**

**1-31 05 01 Химия (по направлениям)**

**Направление специальности:**

**1-31 05 01-03 – Химия (фармацевтическая деятельность)**

2013 г.

**Составители:**

Пархач Маргарита Евгеньевна, доцент по специальности «Фармация» кафедры радиационной химии и химико-фармацевтических технологий Белгосуниверситета, к.фармац.н.,

**Рецензенты:**

Гурина Наталья Сергеевна, зав. кафедрой организации фармации УО «БГМУ», д.б.н., профессор;

Апостол Наталья Александровна, доцент по специальности «Химия» кафедры аналитической химии Белгосуниверситета, к.пед.н.

Рекомендована к утверждению:

кафедрой радиационной химии и химико-фармацевтических технологий БГУ;

Учебно-методической комиссией химического факультета БГУ.

Ответственный за редакцию: Пархач М.Е.

Ответственный за выпуск: Пархач М.Е.

## ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Программа специального курса «Биотехнология лекарственных средств» рассчитана на 34 лекционных часа, 30 часов лабораторного специального практикума, 6 часов семинарских занятий и 54 часа самостоятельной внеаудиторной работы.

До прохождения данного специального курса студенты получают фундаментальную подготовку по фармацевтической химии, общей химической технологии, технологии лекарственных форм и галеновых препаратов и имеют представление о способах получения лекарственных средств путем органического синтеза, переработки сырья минерального, растительного и животного происхождения с помощью физических, химических и физико-химических методов воздействия.

Цель данного спецкурса – изучение основ биотехнологии как науки о практическом использовании живых клеток, биологических систем и процессов, а также формирование системных знаний, умений и навыков по биотехнологическим способам производства, выделения, очистки и контроля лекарственных средств.

В лекционном курсе рассматриваются вопросы регуляции метаболизма и основных биологических процессов в клетке с целью получения продуцентов биологически активных веществ. Особое внимание уделяется принципам создания и технологическим схемам производства лекарственных средств генно-инженерного происхождения: интерферонов, интерлейкинов, инсулина, ряда вакцин, ферментных, гормональных препаратов, витаминов, антибиотиков и т.д.

Специальный лабораторный практикум позволяет студентам приобрести навыки работы с микроорганизмами как основными объектами биотехнологии и освоить элементы всех технологических стадий получения лекарственных веществ путем микробного синтеза. Тематика и последовательность проведения лабораторно-практических занятий предполагает изучение и освоение студентами:

- способов приготовления и контроля качества различных питательных сред,
- технологии культивирования микроорганизмов-продуцентов,
- методов оценки качества и технологии коагуляции культуральных жидкостей,
- методов экстракции, сорбции и очистки биологически активных соединений, полученных в результате биосинтеза.

Программа составлена с учетом современных требований качества, предъявляемых Всемирной организацией здравоохранения и Государственной фармакопеей Республики Беларусь к биотехнологическим лекарственным средствам, в том числе полученным генно-инженерным путем

**В результате освоения дисциплины студент должен знать и уметь использовать:**

- современные достижения фундаментальных биологических наук и биомедицинских технологий;
- инновационные пути создания лекарственных веществ на основе использования данных геномики, протеомики и биоинформатики.
- уровни организации и свойства живых систем, структурные отличия клеток эукариотов и прокариотов; основные биообъекты и методы работы с ними;
- основы молекулярной биологии и генетики продуцентов биологически-активных веществ;
- процессы метаболизма, анаэробного и аэробного окисления, биосинтеза и биотрансформации у микроорганизмов;
- фундаментальные основы генетической инженерии и инженерной энзимологии,
- основные принципы организации биотехнологического производства, его иерархическую структуру, методы оценки эффективности производства; принципиальную схему биотехнологического производства;
- особенности моделирования, масштабирования и оптимизации биотехнологических схем и процессов;
- биохимические, химические и физико-химические процессы, протекающие в биореакторах и на стадиях переработки, связанных с выделением и очисткой целевого продукта;
- закономерности кинетики роста микроорганизмов и образования продуктов метаболизма; модели роста и образования продуктов;
- основные методы культивирования;
- принципы иммуноферментных, радиоиммунных и радиогибридизационных методов определения продуцентов и синтезируемых ими биологически активных веществ;
- основные методы контроля качества и подлинности лекарственных средств, получаемых биотехнологическими методами
- концепцию видоспецифичности лекарственных веществ
- основные нормативные документы, относящиеся к разработке, производству, контролю качества, международным и отечественным стандартам применительно к получаемым биотехнологическими методами лекарственным средствам, а также биообъектам - их продуцентам

#### **Должен уметь:**

- определять доброкачественность микроорганизмов-продуцентов методами микро- и макроскопии. Обеспечить требуемые условия хранения промышленных штаммов продуцентов
- конструировать питательные среды, выбирать и рассчитывать режим их стерилизации;
- выбирать ферментационное и вспомогательное оборудование, определить режим его стерилизации;
- учитывать влияние биотехнологических факторов на эффективность технологического процесса и качество конечного продукта

- поддерживать оптимальные условия для биосинтеза целевого продукта
- обеспечивать условия асептического проведения технологического процесса, соблюдение правил промышленной гигиены
- оценивать применяемые на производстве и в лаборатории методы работы с рекомбинантными штаммами продуцентов
- проводить выделение и очистку лекарственных веществ из биомассы и культуральной жидкости
- осуществлять постадийный контроль и стандартизацию получаемых препаратов (определение антимикробной активности антибиотиков, активности ферментных препаратов)
- проводить исследования по совершенствованию биотехнологического процесса
- определять возможные пути биосинтеза ключевых интермедиатов и целевых продуктов для выбора оптимальных условий биотехнологического процесса
- оценивать технологическую эффективность производства;

**должен владеть навыками:**

- в изготовлении и расчетах режимов стерилизации питательных сред;
- работы с микроорганизмами;
- работы в асептических условиях, в т.ч. с использованием фломбирования
- безопасной работы в микробиологической и биотехнологической лаборатории.

## СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

### 1. Биотехнология как наука и сфера производства.

Краткая история развития биотехнологии. Биотехнология и фундаментальные дисциплины.

Современная биотехнология как одно из основных направлений научно-технического прогресса. Биотехнология и медицина. Получение биотехнологическими методами лекарственных препаратов. Биотехнология и понимание основ патологии инфекционных, онкологических и наследственных заболеваний.

Биотехнология и химическая технология: комбинирование биосинтеза и органического синтеза при многостадийном получении полупродуктов и целевых продуктов.

Пути решения проблем экологии и охраны окружающей среды методами биотехнологии. Переработка и утилизация промышленных отходов. Очистка промышленных стоков. Биodeградация ксенобиотиков.

### 2. Объекты биотехнологии.

Биообъекты как средства производства лекарственных средств. Классификация биообъектов.

*Макромолекулы с ферментативной активностью* как объекты биотехнологии. Промышленные биокатализаторы на основе индивидуальных ферментов и мультиферментных комплексов. Биоконверсия (биотрансформация) при получении гормонов, простаноидов, витаминов, антибиотиков и других биологически активных веществ.

*Микроорганизмы как объекты биотехнологии.* Международные и национальные коллекции культур микроорганизмов и их значение для развития биотехнологии. Банки данных о микроорганизмах и отдельных штаммах микроорганизмов. Вирусы: строение, основные принципы классификации, культуральные свойства. Основные группы биологически активных соединений, получаемых с использованием вирусов в качестве биообъектов. Прокариоты (эубактерии, актиномицеты и др.) и одноклеточные эукариоты (дрожжи, низшие грибы, простейшие): сходство и отличия клеточного строения и метаболизма, принципы классификации, культуральные свойства. Основные группы биологически активных соединений, получаемых с их использованием.

*Растения как объекты биотехнологии.* Дикорастущие и плантационные растения. Водоросли. Культуры растительных тканей. Основные группы получаемых биологически активных веществ.

*Животные организмы как объекты биотехнологии.* Млекопитающие, птицы, рептилии, рыбы, насекомые, морские беспозвоночные и т.д. Человек как объект иммунизации и донор. Культуры тканей человека и других мле-

копитающих. Основные группы получаемых биологически активных соединений.

*Генетические основы создания продуцентов биологически активных веществ.* Пути и методы, используемые при получении продуктивных биообъектов и изучение возможности их использования в промышленном производстве лекарственных средств (устойчивость к инфекциям, рост на менее дефицитных субстратах, соответствие требованиям промышленной гигиены и т.д.). Традиционные методы селекции. Отбор спонтанных мутантов. Мутагенез и селекция. Понятие об основных механизмах действия физических и химических мутагенов.

### **3. Генетическая инженерия и создание с ее помощью продуцентов новых лекарственных веществ.**

Основные принципы и подходы к технологии рекомбинантной ДНК (рекДНК).

Классификация генов по функциональному назначению: структурные (кодирующие) и регуляторные (рецепторные). Основные принципы регуляции экспрессии генов.

Внехромосомные генетические структуры – плазмиды микроорганизмов, их функции и использование в биотехнологических процессах. Основные физико-химические характеристики плазмид. Роль плазмидной и фаговой ДНК в генетическом конструировании продуцентов биологически активных веществ. Направленный мутагенез (*in vitro*) и его значение при конструировании продуцентов. Вектор и его основные характеристики. Требования, предъявляемые к векторам на основе плазмидной и фаговой ДНК. Понятия о космидах, искусственных хромосомах, объеме транспортируемой и сохраняемой генетической информации.

Методы выделения генов и секвенирования (определения последовательности нуклеотидов). Химический синтез фрагментов ДНК. Ферменты, используемые в генетической инженерии. Рестриктазы. Классификация и специфичность. Рестриктаза *E. coli* R1 и распознаваемая ею последовательность нуклеотидов. Лигазы и механизм их действия.

Способы введения чужеродного гена в векторную молекулу. Перенос рекДНК в реципиентные клетки.

Методы идентификации и выделения клонов, содержащих рекДНК и заданный структурный ген. Метод инактивации маркера вставки. Скрининг путем гибридизации с меченым ДНК-зондом. Иммунологический скрининг

Проблемы экспрессии чужеродных генов в микроорганизмах. Структура генов животной клетки: экзоны, интроны. Способы обеспечения возможности экспрессии генов млекопитающих в микробной клетке. Стабилизация чужеродных белков (целевых продуктов) в клетках

#### 4. Системы производства биотехнологических препаратов.

Условия, необходимые для работы биообъектов в биотехнологических системах производства лекарственных средств. Значение защиты биообъектов от контаминации и предотвращения выброса в окружающую среду. Жизнеобеспечение микроорганизмов и культур клеток высших растений и животных. Проблемы лизогении и онкогенов при культивировании биообъектов.

Классификация питательных сред по назначению, консистенции. Натуральные и синтетические питательные среды. Химический состав питательных сред: биогенные элементы, микроэлементы, индикаторы, антибиотики. Использование сывороточных  $\alpha$ - и  $\beta$  –глобулинов, митогенов, ауксинов, цитокининов, и других регуляторов митотического цикла и клеточного метаболизма. Последствия субстратного лимитирования и избыточного содержания компонентов питательных сред. Регуляция состава питательной среды и воздействия физических факторов при ферментации.

Методы стерилизации питательных сред. Принципы расчета режима стерилизации питательных сред в промышленных условиях. Сохранение биологической полноценности сред при их стерилизации.

Многоэтапность подготовки посевного материала. Виды посевного материала, особенности консервирования и криоконсервирования разных видов посевного материала. Понятие об инокуляторах. Кинетические кривые и фазы роста микроорганизмов в закрытых системах. Связь скорости изменения количества микроорганизмов в экспоненциальной фазе роста с концентрацией клеток в системе. Понятие о первичных и вторичных метаболитах. Предшественники целевого продукта и время их внесения в среду. Схема последовательно реализуемых стадий превращения исходного сырья в лекарственное средство.

Инженерные решения для реализации биотехнологического процесса. Оптимизация процессов, аппаратов и биообъекта, как единое целое в биотехнологическом производстве. Проблемы герметизации оборудования и коммуникаций. Стерилизация ферментационного оборудования.

Классификация ферментеров в зависимости от способа перемешивания культуральной среды и критерии их выбора при реализации конкретных целей. Очистка и стерилизация технологического воздуха. Схема подготовки потока воздуха, подаваемого в ферментер. Предварительная очистка. Стерилизующая фильтрация. Предел размера пропускаемых частиц. Эффективность работы фильтров.

Классификация процессов биосинтеза по технологическим параметрам. Принципы организации материальных потоков при культивировании: периодический, полупериодический, отъемно-доливной, непрерывный. Глубинная ферментация. Ферментация на границе раздела фаз.

Биомасса как целевой продукт. Требования к ферментационному процессу при использовании рекомбинантных штаммов, образующих чужеродные для биообъекта целевые продукты.

Выделение, концентрирование и очистка продуктов биотехнологии. Специфические особенности первых стадий. Седиментация биомассы. Уравнение скорости осаждения. Коагулянты. Флокулянты. Центрифугирование. Выделение из культуральной жидкости клеток микроорганизмов, высших растений и животных. Отделение целевых продуктов. Сепарирование. Фильтрование. Предварительная обработка культуральной жидкости для более полного разделения фаз. Кислотная коагуляция. Тепловая коагуляция. Внесение электролитов.

Методы извлечения внутриклеточных продуктов биосинтеза. Разрушение клеточной стенки биообъектов и экстрагирование целевых продуктов. Использование хроматографических методов и мембранных технологий для разделения продуктов биосинтеза. Общность методов очистки продуктов биосинтеза и химического органического синтеза на конечных стадиях их получения. Высушивание и консервирование продуктов биосинтеза. Изготовление и стандартизация готовых лекарственных средств, получаемых методами биотехнологии.

Основные методы, параметры контроля и управления биотехнологическими процессами. Общие требования к методам и средствам контроля.

Организация контроля за охраной окружающей среды в условиях биотехнологического производства. Биологические, физико-химические, термические методы обезвреживания мицелиальных отходов.

Требования GMP к биотехнологическому производству. Требования к условиям хранения сырья для комплексных питательных сред. Карантин. Правила GMP применительно к производству бета-лактамовых антибиотиков и иммунопрепаратов. Причины проведения валидации при замене штаммов-продуцентов и изменении составов ферментационных сред.

## **ЧАСТНАЯ BIOTEKHOЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

### **1. Биотехнология антибиотиков**

Происхождение антибиотиков, эволюция их функций. Классификация антибиотиков. Биологическая роль антибиотиков как вторичных метаболитов. Причины позднего накопления антибиотиков в ферментационной среде по сравнению с накоплением биомассы.

Методы скрининга продуцентов антибиотиков. Плесневые грибы - продуценты антибиотиков. Особенности строения клетки и цикла развития при ферментации. Актиномицеты - продуценты антибиотиков. Строение клетки. Антибиотики, образуемые актиномицетами. Бактерии (эубактерии) - продуценты антибиотиков. Строение клетки. Антибиотики, образуемые бактериями. Пути создания высокоактивных продуцентов антибиотиков.

Биосинтез антибиотиков. Мультиферментные комплексы. Сборка углеродного скелета молекул антибиотиков, принадлежащих к бета-лактамам, аминогликозидам, тетрациклинам, макролидам. Роль фенилуксусной кислоты при биосинтезе пенициллина. Биосинтез стрептомицина.

Механизмы резистентности бактерий к антибиотикам. Хромосомная и плазмидная резистентность. Транспозоны. Целенаправленная биотрансформация и химическая трансформация беталактамовых структур. Новые поколения цефалоспоринов, пенициллинов, эффективные в отношении резистентных микроорганизмов. Карбапенемы. Монобактамы.

Полусинтетические антибиотики. Биосинтез и оргсинтез в создании новых антибиотиков.

Противоопухлевые антибиотики. Механизм действия. Ферментативная внутриклеточная активация некоторых противоопухлевых антибиотиков.

## **2. Биотехнология ферментных препаратов.**

Ферменты как лекарственные средства. Протеолитические ферменты. Амилолитические, липолитические ферменты. L-Аспарагиназа. Проблемы стандартизации целевых продуктов.

Ферментные препараты как биокатализаторы в фармацевтической промышленности. Ферменты трансформации бета-лактамовых антибиотиков. Ферментные препараты, используемые в генетической инженерии (рестриктазы, лигазы и т.д.).

Иммобилизованные (на нерастворимых носителях) ферменты и их многократное использование. Нерастворимые носители органической и неорганической природы. Микроструктура носителей. Иммобилизация за счет образования ковалентных связей между ферментом и носителем. Адсорбция ферментов на инертных носителях и ионообменниках. Иммобилизация ферментов путем включения в структуру органических и неорганических гелей. Микрокапсулирование ферментов как один из способов их иммобилизации. Влияние иммобилизации ферментов на их субстратный спектр и кинетические характеристики. Повышение стабильности. Расширение зоны оптимальной температуры.

Повышение качества ферментов как лекарственных средств (гарантия высокой степени очистки, отсутствия пирогенных, аллергенных примесей).

## **3. Биотехнология витаминов и коферментов.**

Биологическая роль витаминов. Традиционные методы получения (выделение из природных источников и химический синтез). Микробиологический синтез витаминов и конструирование штаммов-продуцентов методами генетической инженерии. Витамин В<sub>2</sub> (рибофлавин). Основные продуценты. Схема биосинтеза и пути интенсификации процесса. Микроорганизмы прокарриоты - продуценты витамина В<sub>12</sub> (пропионовокислые бактерии и др.). Биотехнологическое производство аскорбиновой кислоты (витамина С). Микроорганизмы-продуценты. Различные схемы биосинтеза в промышленных условиях. Химический синтез аскорбиновой кислоты и стадия биоконверсии в производстве витамина С. Эргостерин и витамины группы D. Продуценты и схема биосинтеза эргостерина. Среды и пути интенсификации

биосинтеза. Получение витамина D из эргостерина. Каротиноиды и их классификация. Схема биосинтеза. Среды для микроорганизмов-продуцентов и регуляция биосинтеза. Стимуляторы каротинообразования. Образование из  $\beta$ -каротина витамина А. Убихиноны (коферменты Q). Источники получения. Интенсификация биосинтеза.

#### **4. Биотехнология аминокислот.**

Преимущества микробиологического синтеза перед другими способами получения. Продуценты. Общие принципы конструирования штаммов микроорганизмов-продуцентов аминокислот как первичных метаболитов. Основные пути регуляции биосинтеза и его интенсификации. Механизмы биосинтеза глутаминовой кислоты, лизина, треонина. Конкретные подходы к регуляции каждого процесса.

Получение аминокислот с помощью иммобилизованных клеток и ферментов. Химико-энзиматический синтез аминокислот. Получение оптических изомеров аминокислот путем использования ацилаз микроорганизмов.

#### **5. Биотехнология гормонов.**

Инсулин. Источники получения. Видовая специфичность. Иммуногенные примеси. Структура и синтез в клетках поджелудочной железы.

Рекомбинантный инсулин человека. Конструирование плазмид. Выбор штамма микроорганизма. Выбор лидирующей последовательности аминокислот. Отщепление лидирующих последовательностей. Методы выделения и очистки полупродуктов. Сборка цепей. Ферментативный гидролиз проинсулина. Альтернативный путь получения рекомбинантного инсулина; синтез А- и В-цепей в разных культурах микробных клеток. Проблема освобождения рекомбинантного инсулина от эндотоксинов микроорганизмов-продуцентов. Биотехнологическое производство рекомбинантного инсулина. Экономические аспекты. Инсулиноподобные факторы роста (И ФР-1, И ФР-П). Белковые трансмембранные рецепторы факторов роста. Терапевтическое значение пептидных факторов роста.

Гормон роста человека. Механизм биологической активности и перспективы применения в медицинской практике. Микробиологический синтез. Конструирование продуцентов.

Эритропоэтин. Механизм биологической активности. Применение в медицинской практике. Получение рекомбинантного человеческого эритропоэтина. Конструирование продуцентов. Методы очистки и обеспечение безопасности

Традиционные источники получения стероидных гормонов. Проблемы трансформации стероидных структур. Преимущества биотрансформации перед химической трансформацией. Штаммы микроорганизмов, обладающие способностью к трансформации (биоконверсии) стероидов. Конкретные ре-

акции биоконверсии стероидов. Микробиологический синтез и получение путем биоконверсии преднизолона.

## 6. Иммунобиотехнология

Основные составляющие и пути функционирования иммунной системы. Механизмы иммунного ответа на конкретный антиген. Гетерогенность (поликлональность) сыворотки. Преимущества использования моноклональных антител.

*Биотехнология моноклональных антител (МАТ).* Структура и функции антител. Биологические процессы, обуславливающие широкую вариабельность антител. Значение и роль природной рекомбинации генов в процессах созревания и формирования клонов  $\beta$ -лимфоцитов, продуцирующих моноклональные антитела.

Проблемы и перспективные подходы в технологии производства специфических антител человека. Использование гибридных технологий: получение гибридом в результате слияния соматических животных клеток и клеток злокачественных новообразований с клетками, образующими антитела. Генноинженерные методы и метод трансплантации клеток костного мозга человека в организм scid-мышей (*Severe combined immunologic deficiency*).

Области применения МАТ. Методы анализа, основанные на использовании моноклональных (в отдельных случаях поликлональных) антител. Иммуноферментный анализ (ИФА). Преимущества перед традиционными методами при определении малых концентраций тестируемых веществ и наличии в пробах примесей с близкой структурой и сходной биологической активностью. Моноклональные антитела в медицинской диагностике. Тестирование гормонов, антибиотиков, аллергенов и т.д. Лекарственный мониторинг. Ранняя диагностика онкологических заболеваний. Моноклональные антитела в терапии и профилактике. Перспективы высокоспецифичных вакцин, иммунотоксинов. Включение моноклональных антител в оболочку липосом и повышение направленности транспорта лекарств. Типирование подлежащих пересадке тканей.

*Иммуномодулирующие агенты:* понятие об иммуностимуляторах и иммуносупрессорах (иммунодепрессантах).

*Основные типы вакцинных препаратов.* Вакцины на основе рекомбинантных протективных антигенов или живых гибридных носителей. Обезвреживание токсинов и инактивация микробных клеток. Антисыворотки к инфекционным агентам, к микробным токсинам. Технологическая схема производства основных типов вакцин и сывороток. Современные концепции создания вакцины против ВИЧ и лекарственных средств для лечения СПИДа

*Интерфероны.* Классификация. Альфа-, бета-, гамма-интерфероны. Интерфероны при вирусных и онкологических заболеваниях. Видоспецифичность интерферонов. Ограниченные возможности получения альфа- и гамма-интерферонов из лейкоцитов и Т-лимфоцитов. Лимфобластоидный интерферон. Методы получения бета-интерферона при культивировании

фибробластов. Индукторы интерферонов. Их природа. Механизм индукции. Промышленное производство интерферонов на основе природных источников. Синтез различных классов интерферона человека в генетически сконструированных клетках микроорганизмов. Экспрессия генов, встроенных в плазмиду. Вариации в конформации синтезируемых в клетках микроорганизмов молекул интерферонов за счет неупорядоченного замыкания дисульфидных связей. Проблемы стандартизации.

*Интерлейкины.* Механизм биологической активности. Перспективы практического применения. Микробиологический синтез интерлейкинов. Получение продуцентов методами генетической инженерии. Перспективы биотехнологического производства.

*Иммунотоксины.* Неспецифическое подавление иммунного ответа. Моноклональные антитела против цитокинов.

## **7. Биотехнология препаратов нормобиоты**

Общие проблемы микроэкологии человека. Понятие симбиоза. Различные виды симбиоза. Резистентная микробиота желудочно-кишечного тракта. Причины дисбактериоза. Препараты нормобиоты в борьбе с дисбактериозом.

*Препараты на основе живых культур микроорганизмов.* Бифидобактерии, молочнокислые бактерии; непатогенные штаммы кишечной палочки, образующей бактериоцины как основа нормобиоты. Механизм антагонистического воздействия на гнилостные бактерии.

Технология препаратов нормобиоты. Пробиотики, пребиотики, симбиотики. Монопрепараты и препараты на основе смешанных культур. Лекарственные формы бифидумбактерина, колибактерина, лактобактерина.

## **8. Биотехнология рекомбинантных тромболитиков и антикоагулянтов.**

Понятие об антисвертывающей системе крови. Опасность тромбоэмболии мозговых и сердечных артерий. Структура тромба. Фибриноген и фибрин. Плазминоген и плазмин. Активатор плазминогена тканевого типа (ТАПг). Природный (меланомный) и рекомбинантный ТАПг. Активатор плазминогена урокиназного типа. Иммунотерапевтический активатор плазминогена (ИТАПг): характеристика, структура, технология, механизмы обеспечения направленной доставки к мишени. Стрептокиназа. Стрептодеказа. Ацилированный комплекс стрептокиназы и плазминогена (эминазы). Характеристика. Биотехнология.

Антикоагулянты. Биопрепараты гепарина, рекомбинантный гирудин, генноинженерные препараты белков С и S.

## **9. Культуры растительных клеток и получение лекарственных веществ растительного происхождения.**

Разработка методов культивирования растительных тканей и изолированных клеток как достижение биотехнологической науки. Биотехнологиче-

ское производство и ограниченность или малая доступность ряда видов растительного сырья как источника лекарственных веществ. Понятие тотипотентности растительных клеток. Каллусные и суспензионные культуры. Особенности роста растительных клеток в культурах. Питательные среды: особенности состава. Фитогормоны. Проблемы стерильности. Особенности метаболизма растительных клеток *in vitro*.

Биореакторы для культивирования растительных клеток. Методы контроля и идентификации (цитофизиологические, химические, биохимические, биологические) биомассы и препаратов, полученных методом клеточной биотехнологии. Лекарственные препараты, получаемые из культур растительных клеток

### План лекций

1. Биотехнология как межотраслевая область научно-практических знаний, цели и задачи. Этапы развития биотехнологии лекарственных средств, перспективы развития. Объекты биотехнологии.
2. ДНК, РНК и синтез белка. Общие понятия о матричных процессах: репликация, транскрипция, трансляция.
3. Уровни регуляции клеточного метаболизма. Регуляция на уровне транскрипции на примере лактозного и триптофанового оперонов. Генетические основы создания продуцентов биологически активных веществ. Мутагенез и селекция микроорганизмов.
4. Технология рекомбинантных ДНК. Инструменты генетической инженерии. Рестрицирующие эндонуклеазы. Получение фрагментов ДНК для клонирования и способы их соединения. Обратная транскриптаза, ДНК-полимераза и ДНК-лигаза.
5. Понятие вектора. Типы векторов: плазмидные и фаговые, природного и искусственного происхождения. Фаг лямбда и векторы на основе его генома. Упаковочная система фага лямбда. Фазмиды, космиды, искусственные хромосомы и их применение.
6. Перенос рекДНК в реципиентные клетки. Способы трансформации клеток в зависимости от их природы. Проблемы экспрессии чужеродных генов в микроорганизмах.
7. Методы отбора клеток, наследующих рекДНК и содержащих заданный структурный ген.
8. Общая характеристика биотехнологического процесса. Питательные среды. Стерилизация в промышленных условиях. Виды посевного материала. Подготовка к инокуляции.
9. Культивирование продуцентов биологически активных соединений. Стадии роста культуры. Факторы влияния.
10. Аппаратурное оформление биотехнологического процесса. Инокуляторы. Биореакторы. Методы контроля биомассы. Выделение и очистка продуктов биосинтеза.
11. Биотехнология антибиотиков. Классификация и номенклатура антибиотиков.

12. Производство ферментов. Иммунизация как путь повышения эффективности и стабильности ферментов. Биотехнология аминокислот.
13. Производство препаратов нормобиоты. Классификация и номенклатура препаратов нормобиоты. Биопрепараты растительного происхождения. Культура изолированных клеток, тканей и органов растений. Методы культивирования изолированных клеток и тканей.
14. Биотехнология гормональных препаратов. Биотехнология витаминов и коферментов. Синтез L-аскорбиновой кислоты.
15. Иммунобиотехнология. Биотехнология моноклональных антител. Иммунотерапевтический активатор плазминогена. Тромболитики и антикоагулянты.
16. Биотехнология вакцин. Современные концепции создания вакцины против ВИЧ и лекарственных средств для лечения СПИДа.
17. Основы биотехнологии цитокинов. Интерлейкины и интерфероны. Характеристика. Механизм биологической активности. Получение продуцентов методами генетической инженерии. Перспективы биотехнологического производства.

### **План семинарских занятий**

1. Биообъекты и методы их совершенствования (сообщение, дискуссия, тестирование, решение ситуационных задач) – 2 часа.
2. Создание продуцентов новых лекарственных средств с помощью методов клеточной и генетической инженерии (опрос, сообщения, дискуссия, тестирование, просмотр учебного фильма) – 2 часа.
3. Общая характеристика биотехнологического процесса (опрос, дискуссия, тестирование, решение ситуационных задач) – 2 часа.

### **План лабораторных занятий**

1. Объекты биотехнологии. Технология питательных сред для выделения чистой культуры, для поддержания продуцентов и их культивирования. Контроль качества питательных сред в соответствии с требованиями ГФ РБ. Выделение чистой культуры продуцента антибиотика. – 6 ч.
2. Основные сведения о процессе глубинной ферментации микроорганизмов и факторах, влияющих на этот процесс. Решение задач по определению режимов стерилизации питательных сред. Посев культур-продуцентов антибиотиков в жидкую и агаризованную питательные среды и на сыпучий субстрат – 6 ч.
3. Характер развития продуцентов антибиотиков в глубинной культуре, на поверхности плотных (агаризованных) и сыпучих питательных сред. Анализ культуральной жидкости после окончания процесса ферментации продуцентов антибиотиков. Способы обработки культуральных жидкостей. Определение общего сопротивления процесса фильтрации культуральной жидкости. – 6 ч.

4. Экстракционные методы выделения антибиотиков из культуральной жидкости или мицелия. Определение содержания антибиотиков в культуральной жидкости и мицелии. – 6 ч.
5. Сорбционные методы выделения биологически активных веществ. Проведение процесса сорбции стрептомицина на катионите в различных условиях: динамических и статических. Оценка эффективности – 6 ч.

## ЛИТЕРАТУРА

### Основная:

1. Глик Б., Пастернак Д. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. М.: Мир, 2002, 589 с.
2. Евтушенков А.Н. Введение в биотехнологию. Курс лекций / А.Н. Евтушенков, Ю.К. Фомичев. Мн.: БГУ, 2004. 94 с.
3. Биотехнология: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / Ю.О. Сазыкин, С.Н.Орехов, И.И.Чакалева: под ред. А.В. Катлинского. - М.: Издательский центр «Академия», 2006. - 256с.
4. Прищеп Т.П., Чучалин В.С, Зайков К.Л. и др. Основы фармацевтической биотехнологии: Учебное пособие / Ростов н/Д,: Феникс: Томск: НТЛ, 2006. - 256 с.
5. Фармацевтическая микробиология / Галыкин В.А., Заикина Н.А., Кочеровец В.И. и др. - М.: Арнебия, 2003. - 352 с.
6. Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук. М.: Академия, 2005. 608 с.
7. Николаева Л.А. Культура тканей лекарственных растений и ее биотехнологическое использование/ ХФИ, СПб, 1992, 60 с.
8. Деева Э.Г. и др. Иммуно- и нанобиотехнология: уч. пособие / СПб, 2008, 216 с.
9. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках: Учебник. - Изд-во МГУ, 2004. -512 с.
10. Биоинженерия. Методическое пособие к расчетным занятиям для студентов факультета промышленной технологии лекарств. СПб, Изд-во СПХФА, 2002, 39 с.
11. Ферш Э. Структура и механизм действия ферментов / Э. Ферш. М.: Мир, 1980.
12. Биотехнология: Учебное пособие для вузов. В 8 кн. / Под ред. Н.С, Егорова, В.Д. Самуилова. Книга 8: Инженерная энзимология / И.В. Березин, А.А. Клесов, В.К. Швядас и др. – М.: Высшая школа, 1987. – 143 с.
13. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т 1 и Т.2. Методы анализа

### Дополнительная:

1. Масычева В.И. Разработка препаратов на основе генно-инженерных цитокинов / ж. Медицинская иммунология, 2001, №3, с. 369-378
2. Граник В.Г. Метаболизм экзогенных соединений: Лекарственные средства и другие ксенобиотики: Монография, М., 2006, 528 с.

3. Иммуобилизованные клетки и ферменты. - Пер. с англ. / Под ред. Дж. Вудворта. - М.: Мир, 1998.
4. Молекулярные и клеточные аспекты биотехнологии / Под ред. С.Г.Инге-Вечтомова. - Л.: Наука, 1986.- 256с.
5. Шилова СВ., Пузакова СМ. и др. Организация производства лекарственных средств с учетом правил GMP. Химико-фармацевтическое производство, обзорная информация. -М.:ВНИИСЭНТИ, 1990. - 36 с.
6. Саруханов А.В., Быков В.А.. Оборудование микробиологических производств. Справочник. -М.: Колос, 1993. -384с.
7. Бейли Дж., Оллис Д. Основы биохимической инженерии. Тт. 1,2. – М.: Мир, 1989.
8. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды. М.: Мир, 1987. – 312 с.
9. Программное обеспечение и *Internet*-ресурсы:  
<http://www.biotechnologie.de>

### Примерный тематический план

№ п/п	Наименование разделов, тем	Количество часов				Самост. работа
		Аудиторные				
		Лекции	Практич., семинар.	Лаб. занят.	КСР	
1	Биотехнология как наука и сфера производства	1	1		0,25	2
2	Объекты биотехнологии	1	1		0,25	2
3	Генетическая инженерия и создание с ее помощью продуцентов новых лекарственных веществ	10	2		1	10
4	Системы производства биотехнологических препаратов	6	2	18	1	10
5	Биотехнология антибиотиков	2		12	0,5	4
6	Биотехнология ферментных препаратов	0,5				4
7	Биотехнология витаминов и коферментов	0,5				8
8	Биотехнология аминокислот	0,5				2
9	Биотехнология гормонов	2			0,5	2
10	Иммунобиотехнология	7,5			0,5	7
11	Биотехнология препаратов нормобиоты	1				1
12	Рекомбинантные тромболитики и антикоагулянты	1				1
13	Культуры растительных клеток и получение лекарственных веществ растительного происхождения	1				1
	<b>Итого:</b>	<b>34</b>	<b>6</b>	<b>30</b>	<b>4</b>	<b>54</b>