

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 биобъектов 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 α - и β -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 В₂ (рибофлавин). Основные продуценты. Схема биосинтеза и пути интенсификации процесса. Микроорганизмы прокарриоты - продуценты витамина В₁₂ (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 β -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 β -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 |
| | Итого: | 34 | 6 | 30 | 4 | 54 |