

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ



Проректор по учебной работе
и образовательным инновациям
О.Г. Прохоренко
«30» июня 2023 г.
Регистрационный № УД-12061 /уч.

БИОТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВ

**Учебная программа учреждения высшего образования
по учебной дисциплине для специальности:**

1-31 05 01 Химия (по направлениям)

Направление специальности:

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

2023 г.

Учебная программа УВО составлена на основе ОСВО 1-31 05 01-2021, учебных планов УВО № G31-01-007/уч. от 25.05.2021, № G31-1-233/уч. от 22.03.2022.

СОСТАВИТЕЛИ:

Амазгбери Надежда Викторовна, доцент кафедры радиационной химии и химико-фармацевтических технологий химического факультета, кандидат биологических наук, доцент

Хруцкий Валерий Юрьевич, ассистент кафедры радиационной химии и химико-фармацевтических технологий химического факультета

РЕЦЕНЗЕНТ:

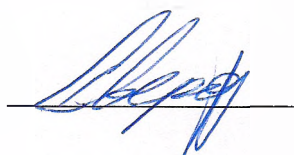
Леонтьев Виктор Николаевич, заведующий кафедрой биотехнологии Белорусского государственного технологического университета, кандидат химических наук, доцент

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой радиационной химии и химико-фармацевтических технологий химического факультета Белорусского государственного университета (протокол № 12 от 05.06.2023)

Учебно-методической комиссией химического факультета Белорусского государственного университета (протокол № 7 от 15.06.2023)

Заведующий кафедрой



Р.Л.Свердлов

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Цель дисциплины – изучение принципов биологической технологии как технологии применения биологических систем и процессов для производства фармацевтических продуктов, а также формирование системных знаний, умений и навыков по биотехнологическим способам производства, выделения, очистки и контроля лекарственных средств.

Задачи дисциплины:

- сформировать ключевые представления об использовании биообъектов в фармацевтической биотехнологии как альтернативном, перспективном и инновационном методе производства лекарственных средств;
- отразить основные преимущества и достижения современной биотехнологии лекарств, ее взаимосвязь с биологическими науками и вклад в глобальный и отечественный фармацевтический рынок;
- представить специфику и требования по надлежащей организации биотехнологического производства в фармацевтической отрасли с применением соответствующего аппаратного оформления, особенности процесса культивирования продуцентов биологически активных веществ в асептических условиях и работы с биообъектами как высокоорганизованными системами в целом;
- сформировать взгляд на отличительные принципы частной фармацевтической биотехнологии получения антибиотиков, витаминов, ферментных, гормональных и вакцинных препаратов, антисывороток, препаратов крови, моноклональных антител, интерлейкинов, нормобиоты и других лекарственных средств, произведенных с применением как ферментов и клеток микроорганизмов, так культур животных и растительных клеток и трансгенных животных.

Место дисциплины в системе подготовки специалиста с высшим образованием.

Учебная дисциплина относится к дисциплинам специализации компонента учреждения высшего образования. Учебная программа дисциплины составлена с учетом межпредметных связей с учебными дисциплинами «Технология лекарств», «Общая фармакология», «Фармацевтическая химия», «Биохимия».

Требования к освоению дисциплины

Освоение учебной дисциплины «Биотехнология лекарств» наряду с другими дисциплинами специализации должно обеспечить формирование **специальных компетенций:**

СК-14. Применять химические, физико-химические, био- и наноаналитические методы для анализа биологических объектов и биологически активных соединений, оценки качества фармацевтических продуктов, решения производственных и экспертных задач в области фармацевтического анализа;

СК-15. Разрабатывать методические подходы к направленному синтезу и модификации биологически активных соединений с использованием химических, биохимических, биотехнологических операций.

В результате освоения учебной дисциплины «Биотехнология лекарств» обучающийся

должен знать:

- современные достижения фундаментальных биологических наук и биомедицинских технологий;
- инновационные пути создания лекарственных веществ на основе использования данных геномики, метаболомики и биоинформатики;
- уровни организации и свойства живых систем, структурные отличия клеток эукариотов и прокариотов;
- основные биообъекты биотехнологии 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, метаболической 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 физические процессы, протекающие в биореакторных системах и на стадиях постферментативной обработки, связанных с выделением и очисткой целевого продукта;
- закономерности кинетики роста продуцента и образования продуктов метаболизма, модели роста продуцента и образования целевых продуктов;
- основные методы культивирования продуцентов биологически активных веществ;
- основные методы контроля качества и подлинности лекарственных средств, получаемых биотехнологическими методами;
- современные биологические лекарственные средства, получаемые биотехнологическим путем и особенности их производства;
- основные нормативные документы, относящиеся к разработке, производству, контролю качества, международным и отечественным стандартам применительно к получаемым биотехнологическими методами лекарственным средствам, а также к 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 нативного раствора 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 конструировании, контроле качества и расчетах режимов стерилизации питательных сред для культивирования продуцентов;
 - лабораторной работы с микроорганизмами, их селекции и культивирования;
 - оценки качества и технологии коагуляции культуральных жидкостей, методов экстракции, сорбции и очистки биологически активных соединений, полученных в результате биосинтеза,
 - организации работы в асептических условиях, в т. ч. с использованием фламбирования;
 - безопасной работы в микробиологической и биотехнологической лаборатории.

Структура учебной дисциплины

В лекционном курсе рассматриваются отдельные аспекты генетической и метаболической инженерии как совокупности методов технологической оптимизации биологических процессов в клетке-продуcente и иных методов конструирования и совершенствования продуцентов для получения максимального выхода целевых биологически активных веществ. Основная часть дисциплины направлена на рассмотрение общих принципов организации биотехнологического производства лекарственных средств в асептических условиях. Особое внимание уделяется принципам организации и технологическим схемам производства лекарственных средств

генно-инженерного происхождения: антибиотиков, ферментных, гормональных и вакцинных препаратов, моноклональных антител, интерлейкинов и т. д.

Лабораторный практикум позволяет обучающимся приобрести первичные навыки работы с микроорганизмами как основными объектами биотехнологии и освоить элементы всех технологических стадий получения лекарственных веществ путем микробного синтеза.

Структура дисциплины включает четыре раздела, которые отражают его внутреннюю логику и содержат отдельные темы молекулярной биологии и биохимии, микробиологии, селекции продуцентов, генетической и метаболической инженерии, инженерной энзимологии, физиологии и иммунологии человека, общей фармакологии, фармацевтической химии, технологии лекарств.

По разделу 1 учебной дисциплины, посвященному введению в биотехнологию, биотехнологическим объектам как высокоорганизованным биосистемам, микроорганизмам как основным биотехнологическим объектам, методам селекции и совершенствования продуцентов биологически активных веществ, основам технологии рекомбинантной ДНК, предусмотрена текущая аттестация в форме зачета.

По разделам 2, 3 и 4 учебной дисциплины, в которых рассматриваются вопросы общей организации биотехнологических процессов в фармацевтической промышленности, надлежащей производственной практики (GMP) при производстве биотехнологических лекарственных препаратов, частной фармацевтической биотехнологии и иммунобиотехнологии, предусмотрена текущая аттестация в форме экзамена.

Учебная программа составлена с учетом современных требований качества, предъявляемых Всемирной организацией здравоохранения и Государственной фармакопеей Республики Беларусь к биотехнологическим лекарственным средствам, произведенным при помощи применения методов с использованием технологии рекомбинантной ДНК, контролируемой экспрессии генов, кодирующих выработку биологически активных белков, гибридных технологий, моноклональных антител или других биотехнологических процессов.

Учебная дисциплина преподается **в 6-7 семестрах**.

Общее количество часов для очной формы получения высшего образования – **236 часов**, в том числе 92 аудиторных часа, из них:

в 6 семестре: лекции – 18 часов, семинарские занятия – 10 часов, лабораторные занятия – 12 часов, управляемая самостоятельная работа – 2 часа.

в 7 семестре: лекции – 24 часа, семинарские занятия – 8 часов, лабораторные занятия – 12 часов, управляемая самостоятельная работа – 6 часов.

Формы текущей аттестации по учебной дисциплине **в 6 семестре – зачет, в 7 семестре – экзамен.**

Трудоемкость учебной дисциплины составляет **6,5 зачетных единиц.**

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

Раздел 1 Введение в биотехнологию лекарств с основами генетической инженерии и селекции продуцентов

Тема 1.1 История развития и объекты биотехнологии

Краткая история, этапы развития и задачи биотехнологии. Связь биотехнологии с фундаментальными и прикладными дисциплинами. Современная биотехнология как одно из основных направлений научно-технического прогресса. Цветовая классификация биотехнологий.

Фармацевтическая биотехнология, получение лекарственных препаратов биотехнологическими методами. Биологическая и химическая технология: комбинирование биосинтеза и органического синтеза при многостадийном получении полупродуктов и целевых продуктов. Классификация объектов (макромолекулы, вирусы, микроорганизмы и макроорганизмы, клеточные культуры) биотехнологии. Биообъекты как средства биотехнологического производства лекарств.

Макромолекулы с ферментативной активностью как объекты биотехнологии. Промышленные биокатализаторы на основе индивидуальных ферментов и мультиферментных комплексов. Биоконверсия (биотрансформация) при получении биологически активных веществ.

Вирусы: структура, принципы классификации, культуральные свойства. Фармацевтическое производство на основе культивирования вирусов. Микроорганизмы как основные объекты биотехнологии. Промышленные и модельные микроорганизмы. Основные отличия прокариотических и эукариотических организмов. 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 биофармацевтических продуктов.

Водоросли, дикорастущие и плантационные растения как объекты биотехнологии. Животные организмы (млекопитающие, птицы, рептилии, рыбы, насекомые, морские беспозвоночные и т. д.) как объекты биотехнологии. Культуры растительных тканей и тканей млекопитающих. Основные группы биологически активных соединений, получаемых из макроорганизмов и клеточных культур.

Тема 1.2 Молекулярные основы функционирования биосистем. Принципы регуляции экспрессии генов. Полимеразная цепная реакция

Основные типы гетерополимерных биомолекул (нуклеиновые кислоты, полипептиды): структура, физико-химические свойства, нативная конформация, функции. Нуклеиновые кислоты и белки как продукты биотехнологии.

Общие представления о матричных процессах синтеза биополимеров: репликация, транскрипция и трансляция. Репликация как процесс биосинтеза молекул ДНК по полуконсервативному механизму, значение репликации

в клеточном цикле. Синтез полинуклеотидов *in vitro*. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) как метод амплификации целевых фрагментов нуклеиновых кислот. Общая схема проведения и основные компоненты для реализации ПЦР. ПЦР с применением обратной транскриптазы. Автоматизация и области применения ПЦР. Химический синтез ДНК: амидофосфитный метод синтеза олигонуклеотидов. Транскрипция как процесс биосинтеза молекул РНК, промоторные области ДНК, этапы транскрипции, РНК-полимераза прокариот и РНК-полимеразы I, II, III эукариот, посттранскрипционная модификация эукариотической пре-мРНК. Трансляция как процесс биосинтеза молекул белка, регуляторные трансляционные последовательности в составе нетранслируемых регионов (UTR) в молекуле мРНК, основные этапы трансляции, основные компоненты трансляционного комплекса. Посттрансляционная модификация белка. Значение транскрипции и трансляции для функционирования клетки.

Ген, генотип, геном. Генетический код как универсальный механизм перевода последовательности нуклеотидов в последовательность аминокислот. Центральная догма молекулярной биологии. Особенности организации генетического материала у бактерий и эукариот. Классификация генов по функциональному назначению: структурные и регуляторные.

Основные принципы регуляции экспрессии генов. Конститутивная и индуцибельная экспрессия генов. Уровни регуляции экспрессии генов прокариот и эукариот. Оперонная модель регуляции транскрипции прокариот (модель Ф. Жакоба и Ж. Моно). Позитивная и негативная регуляция индуцибельного лактозного оперона *E. coli*. Триптофановый оперон как пример репрессибельного оперона *E. coli*.

Тема 1.3 Селекция продуцентов. Способы совершенствования промышленных штаммов

Микробиологическая культура, чистая (аксеничная) культура, штамм. Выделение и способы хранения штаммов микроорганизмов. Международные и национальные коллекции культур микроорганизмов. Банки данных о микроорганизмах и отдельных штаммах микроорганизмов. Уровни биологической безопасности, патогенные и непатогенные микроорганизмы. Выбор микроорганизма-продуцента, обусловленный его потенциальными биосинтетическими возможностями и условиями практического применения, требования к промышленным штаммам.

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 микроорганизмов. Отбор спонтанных мутантов. Мутагенез и селекция. Классификация мутационных изменений генетического материала. Физические и химические мутагенные факторы и механизм их действия на ДНК. Мутагенез *in vivo* и *in vitro*. Методы прямого и непрямого отбора искомым мутантных штаммов. Пути

отбора мутантных штаммов с повышенным уровнем продукции. Метод гибридизации.

Тема 1.4 Генетическая инженерия в конструировании продуцентов биологически активных веществ

Генетическая (генная) инженерия или технология рекомбинантных ДНК как способ конструирования и совершенствования продуцентов биофармацевтических продуктов, области применения генной инженерии. Основные принципы и подходы к технологии рекомбинантной ДНК (рекДНК). Основные этапы создания продукта рекДНК. Основные инструменты генной инженерии (ферменты, векторные системы, искусственные олигонуклеотиды).

Ферменты, действующие на нуклеиновые кислоты, как инструменты для генно-инженерных манипуляций. Рестрикционные ферменты и ДНК-лигазы. Классификация эндонуклеаз рестрикции, особенности ферментативной активности рестриктаз II типа. Сайты рестрикции, палиндромные последовательности и линкеры. Метилтрансферазы, РНК-полимеразы, обратные транскриптазы, различные экзо- и эндонуклеазы, полинуклеотидкиназы и фосфатазы. Инженерная рестрикционная система CRISPR/Cas9 для целенаправленного редактирования генома.

Плазмиды как внехромосомные генетические элементы, классификация плазмид по функциям, однокопийные и мультикопийные плазмиды, практическое применение. Роль плазмидной и фаговой ДНК в генетическом конструировании продуцентов биологически активных веществ. Направленный мутагенез (*in vitro*) и его значение при конструировании продуцентов.

Вертикальный и горизонтальный перенос генов. Методы выделения и секвенирования генов. Способы введения чужеродного гена в векторную молекулу. Векторные системы: клонирующие векторы и векторы экспрессии, обязательные требования к векторам. Векторы для экспрессии в прокариотических и эукариотических системах. Основные типы векторов для прокариот (плазмиды, фаги λ и M13, космиды). Конъюгация бактерий как природный механизм передачи бактериального генетического материала. Плазмидные векторы и их обязательные функциональные элементы. Космида, функциональная значимость *cos*-сайтов ДНК бактериофага λ . Челночные векторы. Трансдукция как природный механизм перемещения вирусного генетического материала. Вирусные векторы на основе бактериофагов λ и M13. Вектор на основе полиомавируса SV40. Искусственные хромосомные векторы дрожжей. Геномные библиотеки. Методы клонирования генов с использованием метода ПЦР и векторных систем. Этапы клонирования генов с использованием вектора.

Методы введения рекДНК в реципиентную клетку: небиологическая трансформация с применением векторных систем, химическая трансформация CaCl_2 , электротрансформация, липофекция, микроинъекция, биолистика. Методы идентификации и выделения клонов, содержащих

рекДНК и заданный структурный ген. «Бело-голубой» скрининг как пример метода инсерционной инактивации. Скрининг по устойчивости к антибиотикам трансформированных плазмидой pBR322 клеток. Скрининг по лизису клеток без рекомбинантной ДНК в векторе λ gt10. Идентификация трансформированных клеток методом гибридизации колоний. Идентификация наличия ДНК-вставки по белковому продукту. Иммунологический скрининг.

Проблемы экспрессии чужеродных генов в микроорганизмах. Экзон-интронная организация генов эукариот. Способы обеспечения возможности экспрессии генов млекопитающих в микробной клетке. Стабилизация чужеродных белков (целевых продуктов) в клетках.

Раздел 2 Принципы организации биотехнологического производства лекарственных средств

Тема 2.1 Предферментационная стадия биотехнологического процесса

Биотехнологический лекарственный препарат, оригинальный и биоаналогичный лекарственный препарат. Специфика биотехнологического производства лекарственных средств. Принципы экономической обоснованности, целесообразного уровня технологических разработок и удешевления биотехнологического производства. Общая характеристика, классификация и основные этапы биотехнологических процессов. Условия, необходимые для работы биообъектов в биотехнологических системах.

Жизнеобеспечение микроорганизмов и культур клеток высших растений и животных. Классификация питательных сред по назначению, составу и консистенции. Химический состав питательных сред: биогенные элементы, микроэлементы, факторы роста, индикаторы, антибиотики и др. Последствия субстратного лимитирования и избыточного содержания компонентов питательных сред. Регуляция состава питательной среды и воздействия физических факторов при ферментации.

Стерилизация. Виды стерилизации (термическая, холодная). Критерии выбора метода стерилизации в промышленном производстве лекарственных средств. Методы стерилизации питательных сред. Принципы расчета режима стерилизации питательных сред в промышленных условиях. Сохранение биологической полноценности сред при их стерилизации. Основные источники контаминации в фармацевтическом производстве. Мероприятия по снижению риска контаминации, проведение операций в асептических условиях. Асептика, антисептика, дезинфекция. Дезинфектанты, антисептики, консерванты, используемые в фармацевтическом производстве. Проблемы герметизации оборудования и коммуникаций. Стерилизация ферментационного оборудования. Очистка и стерилизация технологического воздуха. Предел размера пропускаемых частиц, эффективность работы

фильтров. Значение защиты биообъектов от контаминации и предотвращения выброса в окружающую среду.

Многоэтапность подготовки посевного материала. Виды посевного материала, особенности консервирования и криоконсервирования разных видов посевного материала.

Тема 2.2 Культивирование продуцентов, постферментационная стадия биотехнологического процесса, требования надлежащей производственной практики (GMP) при производстве биотехнологических лекарственных средств

Кинетические кривые роста культуры-продуцента в закрытых системах, основные параметры роста продуцентов. Взаимосвязь трофо- и идиофазы в процессе культивирования. Понятие о первичных и вторичных метаболитах. Выбор сырья с учетом типов питания используемых продуцентов. Влияние условий культивирования на жизнедеятельность и продукционные характеристики продуцентов. Потребность в кислороде и аэрация. Выбор системы ферментации с учетом индивидуальных особенностей продуцента и конечных целей производственного процесса.

Классификация процессов биосинтеза по технологическим параметрам. Устройство и основные конструкторские детали ферментеров и биореакторов. Системы технологического оснащения биореакторов и ферментеров для оптимизации процесса культивирования. Классификация биореакторных систем и принципы организации материальных потоков при культивировании: периодический, полупериодический, непрерывный (хемостатные и тубулярные процессы). Твердофазная и жидкофазная, глубинная и поверхностная ферментация.

Выделение, очистка и концентрирование продуктов биотехнологии. Эвристическая классификация операций стадии постферментативной обработки. Требования к ферментационному процессу при использовании рекомбинантных штаммов, образующих чужеродные для биообъекта целевые продукты. Биомасса как целевой продукт. Седиментация биомассы и нативного раствора культуральной жидкости.

Методы извлечения внутриклеточных продуктов биосинтеза. Разрушение клеточной стенки биообъектов и экстрагирование целевых продуктов. Использование хроматографических методов и мембранных технологий для разделения продуктов биосинтеза.

Выделение продуктов биосинтеза из нативного раствора культуральной жидкости клеток микроорганизмов, высших растений и животных. Предварительная обработка культуральной жидкости для более полного разделения фаз. Факторы, влияющие на выход целевого продукта при постферментативной обработке. Общность методов очистки продуктов биосинтеза и химического органического синтеза на конечных стадиях их получения. Высушивание и консервирование продуктов биосинтеза. Изготовление и стандартизация готовых форм лекарственных средств, получаемых методами биотехнологии.

Преимущества и недостатки биотехнологических методов по сравнению с химическим синтезом. 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. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Национальные стандарты и документы, регламентирующие условия производства биотехнологических лекарственных средств в соответствии с нормами и требованиями надлежащей производственной практики (GMP). Основные положения GMP к биотехнологическому производству лекарств.

Тема 2.3 Принципы производства биофармацевтических продуктов с применением клеточных культур

Особенности культивирования различных типов посевного материала. Проблемы лизогении и онкогенов при культивировании биообъектов. Закономерности роста и развития культур клеток млекопитающих. Особенности поведения и развития нормальных, трансформированных и опухолевых клеток. Характеристика свойств конечных (ограниченных) и постоянных (иммортизированных) клеточных линий. Способы получения культивируемых животных клеток, создание и особенности существования первичных культур. Клеточная линия, клеточный штамм. Выбор питательных сред и условий для культивирования животных клеток. Состав питательных сред (среды, содержащие сыворотку, и бессывороточные питательные среды). Значение сывороточных компонентов. Динамика развития клеточных линий и влияние физических, химических и биологических факторов. Монослойные и суспензионные клеточные культуры.

Биотехнологическое производство и ограниченность или малая доступность ряда видов растительного сырья как источника лекарственных веществ. Методы получения культивируемых *in vitro* клеток растений. Свойство тотипотентности растительных клеток как основа их биотехнологического использования. Процессы каллусогенеза и формирование первичного каллуса. Особенности роста растительных клеток в культурах. Протопласты растительных клеток как объект биотехнологического конструирования. Способы выделения и условия культивирования растительных протопластов. Слияние протопластов (соматическая, или парасексуальная, гибридизация). Использование соматической гибридизации для преодоления межвидовых барьеров нескрещиваемости. Особенности метаболизма растительных клеток *in vitro*. Биореакторы для культивирования растительных клеток. Этапы и методы клонального микроразмножения, его достоинства и недостатки. Факторы, влияющие на процесс клонального микроразмножения.

Раздел 3 Частная биотехнология лекарственных средств

Тема 3.1 Биотехнология получения аминокислот и органических кислот

Современное глобальное производство аминокислот, аминокислоты как компоненты фармакотерапии. Способы промышленного получения аминокислот: недостатки и преимущества. Преимущества микробиологического синтеза перед другими способами получения целевых продуктов. Продуценты и метаболическая инженерия. Основные пути регуляции биосинтеза и его интенсификации. Общие принципы конструирования штаммов микроорганизмов-продуцентов аминокислот как первичных метаболитов. Одно- и двухступенчатый (химико-энзиматический) микробиологический синтез аминокислот. Прототрофные (дикие) штаммы микроорганизмов, ауксотрофные и регуляторные мутантные штаммы-продуценты.

Механизмы биосинтеза глутаминовой кислоты, лизина. Конкретные подходы к регуляции каждого процесса. Биотехнологическое производство органических кислот (лимонная, янтарная, яблочная кислота). Органические кислоты в фармацевтических продуктах.

Тема 3.2 Биотехнология ферментных препаратов

Ферменты как лекарственные средства. Способы получения ферментов для медицинских целей. Лекарственные препараты, содержащие рекомбинантные ферменты. Протеолитические, амилалитические, липолитические ферменты. Проблемы стандартизации целевых продуктов. Повышение качества ферментов как лекарственных средств (гарантия высокой степени очистки, отсутствия пирогенных, аллергенных примесей).

Ферменты как биокатализаторы в фармацевтической промышленности. Имобилизованные ферменты и их многократное использование. Классификация носителей для иммобилизации. Микроструктура носителей. Физическая и химическая иммобилизация ферментов на носителях. Влияние иммобилизации ферментов на их субстратный спектр и кинетические характеристики.

Тема 3.3 Биотехнология витаминов

Биологическая роль витаминов. Традиционные методы получения (выделение из природных источников и химический синтез). Микробиологический синтез витаминов и конструирование штаммов-продуцентов.

Основные продуценты, схема биосинтеза витамина В₂ (рибофлавина) и пути интенсификации процесса. Микроорганизмы прокариоты-продуценты витамина В₁₂ (цианокобаламина), особенности биотехнологического производства витамина В₁₂.

Биотехнологическое производство аскорбиновой кислоты (витамина С). Микроорганизмы-продуценты. Химический синтез аскорбиновой кислоты и стадия биоконверсии в производстве витамина С.

Эргостерол и витамины группы D. Продуценты и схема биосинтеза эргостерола. Среда и пути интенсификации биосинтеза. Получение витамина D из эргостерола.

Каротиноиды (провитамины A) и их классификация. Схема биосинтеза. Среда для микроорганизмов-продуцентов и регуляция биосинтеза. Стимуляторы каротинообразования. Образование из β -каротина витамина A.

Тема 3.4 Биотехнология гормональных препаратов

Классификация и способы получения гормонов для лекарственных препаратов. Инсулин. Источники получения. Видовая специфичность. Иммуногенные примеси. Структура и синтез в клетках поджелудочной железы. Биотехнологическое производство рекомбинантного инсулина. Методы выделения и очистки полупродуктов. Сборка цепей. Ферментативный гидролиз проинсулина. Альтернативный путь получения рекомбинантного инсулина; синтез A- и B-цепей в разных культурах микробных клеток. Экономические аспекты. Инсулиноподобные факторы роста. Белковые трансмембранные рецепторы факторов роста. Терапевтическое значение пептидных факторов роста. Глюкагон: физиологические функции, лекарственные препараты на основе рекомбинантного глюкагона.

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

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 (биоconversion) стероидов. Конкретные реакции биоconversion стероидов.

Тема 3.5 Биотехнология получения антибиотиков

Особенности культивирования продуцентов вторичных метаболитов (идиолитов). Происхождение антибиотиков, эволюция их функций. Классификация и механизмы действия антибиотиков. Биологическая роль антибиотиков как вторичных метаболитов. Причины позднего накопления антибиотиков в среде ферментации относительно биомассы.

Методы скрининга продуцентов антибиотиков. 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. Биотехнологическое производство пенициллина и стрептомицина.

Механизмы резистентности бактерий к антибиотикам. Проблема появления антибиотикорезистентных штаммов. Полусинтетические антибиотики. Биосинтез и оргсинтез в создании новых антибиотиков.

Противоопухолевые антибиотики. Механизм действия. Ферментативная внутриклеточная активация некоторых противоопухолевых антибиотиков.

Тема 3.6 Биотехнология препаратов нормобиоты и пребиотических продуктов

Общие проблемы микробиологии человека. Понятие симбиоза. Различные виды симбиоза. Резистентная микробиота пищеварительного тракта. Причины дисбактериоза.

Препараты нормобиоты против дисбактериоза. Препараты на основе живых культур микроорганизмов. Бифидобактерии, молочнокислые бактерии; непатогенные штаммы кишечной палочки, образующей бактериоцины как основа нормобиоты. Биотехнология препаратов нормобиоты. Пробиотики, пребиотики, симбиотики. Биотехнология олиго-, полисахаридов медицинского назначения. Монопрепараты и препараты на основе смешанных культур.

Раздел 4 Иммунобиотехнология, препараты крови

Тема 4.1 Иммунная система высших животных, реакция организма на антиген, препараты поликлональных и моноклональных антител, области применения моноклональных антител

Основные составляющие и пути функционирования иммунной системы. Механизмы иммунного ответа на конкретный антиген. Сравнительная характеристика первичного и вторичного иммунных ответов. Иммунитет к инфекциям, вакцинопрофилактика. Терапевтические иммунобиотехнологические препараты.

Гетерогенность (поликлональность) сыворотки, технологическая схема производства сывороток, основные области применения поликлональных антисывороток. Применение адъювантов при иммунизации.

Биотехнология моноклональных антител. Структура и функции антител. Взаимодействие антиген-антитело, условия формирования комплексов антиген-антитело. Биологические процессы, обуславливающие широкую вариабельность антител. Значение и роль природной рекомбинации генов в процессах созревания и формирования клонов В-лимфоцитов, продуцирующих моноклональные антитела. Проблемы и перспективные подходы в технологии производства специфических антител человека. Использование гибридомных технологий в создании продуцентов моноклональных антител.

Области применения моноклональных антител. Методы анализа, основанные на использовании моноклональных антител. Иммуноферментный анализ (ИФА). Преимущества перед традиционными методами при определении малых концентраций тестируемых соединений

и наличии в пробах примесей с близкой структурой и сходной биологической активностью. Моноклональные антитела в медицинской диагностике. Моноклональные антитела в терапии и профилактике.

Тема 4.2 Биотехнологическое производство вакцинных препаратов. Препараты интерлейкинов и интерферонов

Основные типы и состав вакцинных препаратов, вакцинопрофилактика. Классификация вакцин и эволюция поколений вакцинных препаратов (традиционные, расщепленные/сплит, генетические). Аттенуированные и инактивированные вакцины, методы инаktivации, анатоксины. Субъединичные, конъюгированные и рекомбинантные вакцины. ДНК-вакцины, РНК-вакцины и вакцины на основе векторов. Принципиальная схема получения, апробации и внедрения в производственную практику новых вакцин. Повышение иммуногенности вакцин.

Интерлейкины. Классификация и механизм биологического действия. Перспективы практического применения. Микробиологический синтез интерлейкинов. Получение продуцентов методами генетической инженерии. Перспективы биотехнологического производства.

Интерфероны. Классификация и механизм биологического действия. Интерфероны при вирусных и онкологических заболеваниях. Ограниченные возможности получения интерферонов из лейкоцитов. Промышленное производство интерферонов на основе природных источников. Синтез различных классов интерферона человека в рекомбинантных штаммах микроорганизмов. Поэтапная биотехнология производства интерферонов. Проблемы стандартизации. Иммуномодулирующие агенты: понятие об иммуностимуляторах и иммуносупрессорах (иммунодепрессантах).

Тема 4.3 Препараты крови: рекомбинантные тромболитические агенты и антикоагулянты

Понятие об антисвертывающей системе крови. Структура тромба. Фибриноген и фибрин. Опасность тромбоэмболии мозговых и сердечных артерий.

Антикоагулянты, физиологическая роль. Биопрепараты гепарина и низкомолекулярных аналогов гепарина, рекомбинантный гирудин, генно-инженерные препараты белков С и S. Антитромбин.

Тромболитические агенты, механизм действия. Плазминоген и плазмин. Тканевой активатор плазминогена (ТАПг). Природный и рекомбинантный ТАПг. Биотехнология получения ТАПг с применением культур клеток и трансгенных животных. Рекомбинантные тромболитические агенты (альтеплаза, ретеплаза, тенектеплаза и урокиназа), стрептокиназа.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

Дневная форма получения образования

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСР	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Введение в биотехнологию лекарств с основами генетической инженерии и селекции продуцентов							
1.1	История развития и объекты биотехнологии	2		2	4			Устный опрос, отчет по лабораторной работе
1.2	Молекулярные основы функционирования биосистем. Принципы регуляции экспрессии генов. Полимеразная цепная реакция	4		2				Устный опрос, решение ситуационных задач
1.3	Селекция продуцентов. Способы совершенствования промышленных штаммов	4		2	8			Устный опрос, отчет по лабораторной работе
1.4	Генетическая инженерия в конструировании продуцентов биологически активных веществ	8		4			2	Решение ситуационных задач, комплексная контрольная работа по разделу 1

2	Принципы организации биотехнологического производства лекарственных средств							
2.1	Предферментационная стадия биотехнологического процесса	2			4			Устный опрос, отчет по лабораторной работе
2.2	Культивирование продуцентов, постферментационная стадия биотехнологического процесса, требования надлежащей производственной практики (GMP) при производстве биотехнологических лекарственных средств	3		4	4			Решение ситуационных задач, устный опрос, отчет по лабораторной работе
2.3	Принципы производства биофармацевтических продуктов с применением клеточных культур	1					2	Комплексная контрольная работа по разделу 2
3	Частная биотехнология лекарственных средств							
3.1	Биотехнология получения аминокислот и органических кислот	1,5						
3.2	Биотехнология ферментных препаратов	1,5						Тестирование
3.3	Биотехнология витаминов	1,5						
3.4	Биотехнология гормональных препаратов	1,5						Тестирование
3.5	Биотехнология получения антибиотиков	2		2	4			Устный опрос, отчет по лабораторной работе
3.6	Биотехнология препаратов нормобиоты и пребиотических продуктов	1					2	Комплексная контрольная работа по разделу 3

4	Иммунобиотехнология, препараты крови							
4.1	Иммунная система высших животных, реакция организма на антиген, препараты поликлональных и моноклональных антител, области применения моноклональных антител	4		2				
4.2	Биотехнологическое производство вакцинных препаратов. Препараты интерлейкинов и интерферонов	3						Тестирование
4.3	Препараты крови: рекомбинантные тромболитические агенты и антикоагулянты	2					2	Комплексная контрольная работа по разделу 4
	Итого	42		18	24		8	

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Перечень основной литературы

1. Шмид, Рольф. Наглядная биотехнология и генетическая инженерия = Taschenatlas der Biotechnologie und Gentechnik / Р. Шмид; пер. с нем. А. А. Виноградовой и А. А. Синюшина; под ред. Т. П. Мосоловой и А. А. Синюшина. – 3-е изд., испр. – Москва: Лаборатория знаний, 2020. – 324 с.
2. Фармацевтическая биотехнология: пособие / [Д. В. Моисеев и др.]; под ред. Д. В. Моисеева; М-во здравоохранения Республики Беларусь, УО «Витебский гос. медицинский ун-т», Кафедра стандартизации лекарственных средств с курсом факультета повышения квалификации и переподготовки кадров. – Витебск: ВГМУ, 2020. – 292 с.
3. Новиков, Дмитрий Алексеевич. Фармацевтическая биотехнология: пособие для студ. учреждений высш. образования, обуч. по спец. 1-31 01 02 «Биохимия» / Д. А. Новиков; БГУ. – Минск: БГУ, 2018. – 343 с.
4. Государственная фармакопея Республики Беларусь: разработана на основе Европейской Фармакопеи (ГФ. РБ II): в 2 т. Т. 1: Общие методы контроля качества лекарственных средств: введено в действие с 1 января 2013 года приказом Министерства здравоохранения РБ от 25 апреля 2012 года № 453 / М-во здравоохранения РБ, Республиканское унитарное предприятие «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; [под общ. ред. А. А. Шерякова]. – Молодечно: [б. и.], 2013. – 1217 с.

Перечень Интернет-ресурсов:

1. Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза [Электронный ресурс]: решение совета евразийской экономической комиссии, 3 ноября 2016 г., № 77 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – Режим доступа: <https://pravo.by/document/?guid=3871&p0=F91600332>

Перечень дополнительной литературы

1. Фармацевтическая биотехнология: Аспекты фармацевтической химии: учеб. пособие / Ю. М. Краснопольский, О. В. Звягинцева. – Харьков: НТУ «ХПИ», 2018. – 248 с.
2. Чиркин, А. А. Основы биотехнологии: учеб.-метод. комплекс / А. А. Чиркин; М-во образования РБ, УО «Витебский гос. ун-т им. П. М. Машерова», Каф. химии. – 2-е изд., доп. и перераб. – Витебск: ВГУ им. П. М. Машерова, 2010. – 151 с.
3. Чиркин, А. А. Основы генной инженерии: методы рекомбинантных ДНК: учебно-метод. комплекс / А. А. Чиркин; М-во образования РБ, Учрежд. образования «Витебский гос. ун-т им. П. М. Машерова». – 2-е изд., испр. и доп. – Витебск: ВГУ им. П. М. Машерова, 2005. – 135 с.

4. Jacobs T., Signore A. A. Good design practices for GMP pharmaceutical facilities. – CRC Press, 2016.
5. Carlberg D. M. Cleanroom Microbiology for the Non-microbiologist. – CRC Press, 2004.
6. Moo-Young M. Comprehensive biotechnology. – Elsevier, 2019.
7. Khan F. A. Biotechnology fundamentals. – CRC Press, 2020.

Перечень рекомендуемых средств диагностики и методика формирования итоговой отметки

Текущий контроль уровня знаний обучающихся по данной дисциплине может осуществляться с использованием следующих средств диагностики:

1. Тестирование по отдельным темам;
2. Решение ситуационных задач по отдельным темам;
3. Проведение устных опросов;
4. Защита отчетов по лабораторным работам;
5. Комплексные контрольные работы по разделам 1, 2, 3 и 4.

В 6 семестре предусмотрена форма текущей аттестации в форме зачета, к которой допускаются обучающиеся с удовлетворительными отметками текущей успеваемости (4 и более балла) и по итогам которой обучающийся, получивший удовлетворительную отметку (4 и более балла), допускается до продолжения изучения дисциплины в 7 семестре. Итоговая отметка по дисциплине в 7 семестре формируется на основе:

- Правил проведения аттестации студентов (Постановление Министерства образования Республики Беларусь № 53 от 29 мая 2012 г.);
- Положения о рейтинговой системе оценки знаний обучающихся по учебной дисциплине в БГУ (Приказ ректора БГУ от 31.03.2020 № 189 – ОД);
- Критериев оценки знаний студентов (письмо Министерства образования от 22.12.2013).

При формировании итоговой отметки используется рейтинговая система оценки знаний обучающегося, дающая возможность проследить и оценить динамику процесса достижения целей обучения. Рейтинговая система предусматривает использование весовых коэффициентов для текущего контроля знаний и текущей аттестации студентов по дисциплине.

Формирование отметки за текущую успеваемость в 6 семестре:
выполнение комплексных контрольных работ – 50 %;
защита отчетов по лабораторным работам – 25 %;
ответы на семинарских занятиях и выполнение заданий (устный опрос, решение ситуационных задач) – 25 %.

Формирование отметки за текущую успеваемость в 7 семестре:
выполнение комплексных контрольных работ – 70 %;
устный опрос, защита отчетов по лабораторным работам – 20 %;
ответы на семинарских занятиях и выполнение заданий (тестирование, решение ситуационных задач) – 10 %.

Итоговая отметка по дисциплине рассчитывается на основе отметки текущей успеваемости и экзаменационной отметки с учетом их весовых коэффициентов, при условии получения экзаменационной отметки не ниже 4 баллов. Весовой коэффициент отметки по текущей успеваемости составляет 50 %, экзаменационной отметки – 50 %.

Примеры тестовых заданий

1. Какой способ предотвращения фаговой инфекции в цехах биосинтеза антибиотиков является наиболее рациональным и надежным?

- а) ужесточение контроля за стерилизацией технологического воздуха;
- б) ужесточение контроля за стерилизацией питательной среды;
- в) получение и использование фагоустойчивых штаммов продуцента;
- г) ужесточение контроля за стерилизацией оборудования.

2. Каков тип действия статических антибиотиков?

- а) вызывают гибель только патогенных микроорганизмов;
- б) вызывают гибель только сапрофитных микроорганизмов;
- в) вызывают гибель только спорообразующих микроорганизмов;
- г) останавливают размножение микроорганизмов;
- д) вызывают гибель всех форм микроорганизмов.

3. Биосинтез антибиотиков усиливается и наступает раньше на каких средах?

- а) богатых источниками азота;
- б) богатых источниками углерода;
- в) богатых источниками фосфора;
- г) бедных питательными веществами.

Примерный перечень заданий для управляемой самостоятельной работы студентов

Раздел 1 Введение в биотехнологию лекарств с основами генетической инженерии и селекции продуцентов (2ч.)

Рассмотреть основные принципы функционирования биосистем, регуляции экспрессии генов, селекции промышленных штаммов-продуцентов и применения генетической инженерии в создании технологичных сверхпродуцентов биологически активных веществ.

Форма контроля – Комплексная контрольная работа по разделу 1.

Раздел 2 Принципы организации биотехнологического производства лекарственных средств (2ч.)

Изучить специфику предферментационной, ферментационной и постферментационной стадий биотехнологического процесса, особенности применения в качестве продуцентов клеточных культур животного и растительного происхождения.

Форма контроля – Комплексная контрольная работа по разделу 2.

Раздел 3 Частная биотехнология лекарственных средств (2ч.)

Ознакомиться с частной фармацевтической биотехнологией получения карбоновых кислот, ферментов, витаминов, гормонов, анти-, про- и пребиотиков.

Форма контроля – Комплексная контрольная работа по разделу 3.

Раздел 4 Иммунобиотехнология, препараты крови (2ч.)

Освоить ключевые положения иммунобиотехнологии и производства препаратов крови, моноклональных антител, интерлейкинов и вакцин.

Форма контроля – Комплексная контрольная работа по разделу 4.

Управляемая самостоятельная работа (УСР) проводится в форме аудиторных занятий согласно утвержденному графику. Обучающиеся выполняют комплексные контрольные работы «Основы биотехнологии, селекции продуцентов и генетической инженерии», «Организация биотехнологического процесса», «Частная биотехнология лекарств» и «Иммунобиотехнология и препараты крови» по соответствующим разделам учебной программы.

Комплексные контрольные работы включают задания как открытого, так и закрытого типа, посвященные всем темам соответствующего раздела дисциплины и позволяющие комплексно проконтролировать уровень подготовки каждого обучающегося и обратить внимание на отдельные темы раздела, которые вызывают затруднение или были неудовлетворительно усвоены, что обеспечивает эффективное освоение учебного материала при подготовке к текущей аттестации.

Примерный план семинарских занятий

1. История возникновения биологической технологии. Биообъекты биотехнологии. Значение современной фармацевтической биотехнологии для медицины и ветеринарии (устный опрос, просмотр учебного фильма) – 2 часа.
2. Матричные процессы синтеза биополимеров (репликация, транскрипция, трансляция) и их значение для функционирования клетки. Полимеразная цепная реакция (устный опрос, решение ситуационных задач) – 2 часа.
3. Регуляция экспрессии генов *E.coli* на примере лактозного и триптофанового оперонов. Мутационная изменчивость, механизмы действия мутагенных факторов, совершенствование продуцентов путем индуцированного мутагенеза (устный опрос) – 2 часа.
4. Генетическая/генная инженерия (технология рекомбинантных ДНК) как способ направленного совершенствования биотехнологических продуцентов. Основные инструменты генной инженерии (устный опрос, решение ситуационных задач) – 4 часа.
5. Организация биотехнологического производства на фармацевтическом предприятии. Общая характеристика биотехнологического процесса (просмотр учебного фильма, тестирование) – 2 часа.
6. Требования надлежащей производственной практики (GMP) к биотехнологическому получению лекарственных средств. Соблюдение правил асептики при производстве лекарств. Решение задач по определению режимов стерилизации питательных сред в производственных условиях (тестирование, решение ситуационных задач) – 2 часа.
7. Ключевые аспекты частной биотехнологии лекарственных средств. Производство антибиотических веществ и проблема появления

антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов (устный опрос, тестирование) – 2 часа.

8. Современное развитие и перспективы иммунобиотехнологии (устный опрос, тестирование) – 2 часа.

Примерный перечень лабораторных занятий

1. Микроорганизмы как объекты биотехнологии. Технология питательных сред для выделения чистой культуры, культивирования и поддержания продуцентов. Выделение и селекция микроорганизмов (актиномицеты) из образцов почвы – 4 часа.

2. Изучение морфологических характеристик микроорганизмов, выделенных из образцов почвы. Выделение чистой культуры продуцента антибиотика. Лабораторные методы работы с культурами микроорганизмов в асептических условиях – 4 часа.

3. Консервирование и хранение микроорганизмов. Технология сыпучих питательных сред. Посев культур-продуцентов антибиотиков на сыпучий субстрат – 4 часа.

4. Изучение технологии изготовления агаризованных (плотных) и жидких питательных сред. Оценка жизнеспособности чистой культуры продуцента (актиномицеты) антибиотика после консервации – 4 часа.

5. Изучение физико-химических и фильтрационных свойств культуральной жидкости. Глубинная ферментация продуцентов (актиномицеты) антибиотика – 4 часа.

6. Выделение и очистка антибиотика из культуральной жидкости. Определение содержания антибиотика спектрофотометрическим методом – 4 часа.

Описание инновационных подходов и методов к преподаванию учебной дисциплины

При организации образовательного процесса используются *практико-ориентированный подход*, который предполагает:

- освоение учебного материала через решение практических задач;
- приобретение навыков эффективного выполнения разных видов профессиональной деятельности;
- использованию процедур, способов оценивания, фиксирующих сформированность профессиональных компетенций;
- методы и приемы развития критического мышления, понимании информации как отправного, а не конечного пункта критического мышления.

Методические рекомендации по организации самостоятельной работы обучающихся

При изучении дисциплины до сведения обучающихся вначале семестра доводится информация, которая включает методы и формы контроля знаний и правила начисления баллов.

Для организации самостоятельной работы обучающихся по учебной дисциплине следует использовать современные информационные ресурсы: разместить на образовательном портале вопросы для подготовки к зачету и экзамену, вопросы для самоконтроля, список рекомендуемой литературы, информационных ресурсов и др.

Эффективность самостоятельной работы обучающихся проверяется в ходе текущего и итогового контроля уровня знаний (тестирование, комплексная контрольная работа). Для общей оценки качества усвоения обучающимися учебного материала рекомендуется использование рейтинговой системы.

Примерный перечень вопросов к зачету

- Краткая история и этапы развития биотехнологии. Современные тренды в биотехнологии. Место биотехнологии среди других технологий.
- Определение термина «биотехнология». Задачи биотехнологии и связь с фундаментальными и прикладными дисциплинами. Биотехнология лекарств и биотехнологический лекарственный препарат.
- Биообъекты биотехнологии: общее представление о биообъекте и применение биообъекта в биотехнологическом процессе в качестве продуцента, основные группы получаемых биофармацевтических продуктов.
- Основные отличия прокариотических и эукариотических организмов. Промышленные (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*) и непromышленные штаммы микроорганизмов.
- Основные классы гетерополимерных биомолекул: структура, физико-химические свойства, нативная конформация, функции. Нуклеиновые кислоты и белки как продукты биотехнологии.
- Репликация как процесс биосинтеза молекул ДНК по полуконсервативному механизму, значение репликации для функционирования клетки. Репликация как неотъемлемый процесс при культивировании продуцента.
- Полимеразная цепная реакция как метод амплификации целевых фрагментов нуклеиновых кислот. Основные компоненты для реализации ПЦР. Общая схема проведения ПЦР.
- ПЦР с применением обратной транскриптазы. Автоматизация ПЦР. Области применения ПЦР. Химический синтез ДНК: амидофосфитный метод синтеза олигонуклеотидов.
- Транскрипция как процесс биосинтеза молекул РНК, промоторные области ДНК, этапы транскрипции (инициация, элонгация, терминация), РНК-полимераза прокариот и РНК-полимеразы I, II, III эукариот, модификация эукариотической мРНК, значение транскрипции для функционирования клетки.
- Трансляция как процесс биосинтеза молекул белка, регуляторные

трансляционные последовательности в составе нетранслируемых регионов (UTR) в молекуле мРНК, основные этапы трансляции, основные компоненты трансляционного комплекса, значение трансляции для функционирования клетки. Посттрансляционная модификация белка.

- Понятия «ген», «экспрессия гена», «генотип» и «геном». Генетический код как универсальный механизм перевода последовательности дезоксирибонуклеотидов в последовательность аминокислот. Центральная догма молекулярной биологии.
- Особенности организации генетического материала у бактерий и эукариот. Конститутивная и индуцибельная экспрессия генов. Уровни регуляции экспрессии генов прокариот и эукариот. Оперонная модель регуляции транскрипции прокариот (модель Ф. Жакоба и Ж. Моно).
- Позитивная и негативная регуляция индуцибельного лактозного оперона *E. coli*. Триптофановый оперон как пример репрессибельного оперона *E. coli*.
- Понятия «микробиологическая культура», «чистая (аксеничная) культура», «штамм». Выделение и способы хранения штаммов микроорганизмов. Коллекции микроорганизмов.
- Уровни биологической безопасности, патогенные и непатогенные микроорганизмы. Выбор исходного штамма-продуцента, требования к промышленным штаммам.
- Усовершенствование штаммов микроорганизмов с применением мутагенеза и последующей селекцией.
- Мутации: определение, классификация. Физические и химические мутагенные факторы и механизм их действия на ДНК.
- Мутагенез *in vivo* и *in vitro*. Метод гибридизации. Методы прямого и непрямого отбора искомым мутантных штаммов. Пути отбора мутантов с повышенным уровнем продукции.
- Технология рекомбинантных ДНК как способ конструирования и совершенствования продуцентов биофармацевтических продуктов, области применения генной инженерии.
- Основные инструменты генетической инженерии. Основные этапы создания продукта рекомбинантной ДНК.
- Методы выделения хромосомной и плазмидной ДНК из клеток бактерий, ДНК фагов и ДНК из клеток эукариот.
- Ферменты, действующие на ДНК как инструменты для генно-инженерных манипуляций. Рестрикционные ферменты и ДНК-лигазы. Классификация эндонуклеаз рестрикции, особенности ферментативной активности рестриктаз II типа. Сайты рестрикции, палиндромные последовательности и линкеры.
- Метилтрансферазы, РНК-полимеразы, обратные транскриптазы, различные экзо- и эндонуклеазы, полинуклеотидкиназы и фосфатазы.

Инженерная рестрикционная система CRISPR/Cas9 для целенаправленного редактирования генома.

- Векторные системы: клонирующие векторы и векторы экспрессии. Векторы для экспрессии в прокариотических и эукариотических системах.
- Основные типы векторов для прокариот. Обязательные требования к векторам.
- Конъюгация бактерий как природный механизм передачи бактериального генетического материала. Плазмиды как внехромосомные генетические элементы, классификация плазмид по функциям, однокопийные и мультикопийные плазмиды.
- Плазмидные векторы и их обязательные функциональные элементы. Космида, функциональная значимость cos-сайтов ДНК бактериофага λ . Челночные векторы.
- Трансдукция как природный механизм перемещения вирусного генетического материала. Вирусные векторы на основе бактериофагов λ и M13. Вектор на основе полиомавируса SV40. Искусственные хромосомные векторы дрожжей (YAC).
- Геномные библиотеки. Методы клонирования генов с использованием метода ПЦР и векторных систем. Этапы клонирования генов с использованием вектора.
- Методы введения рекомбинантной ДНК в реципиентную клетку.
- Методы идентификации и выделения клонов, содержащих рекомбинантную ДНК и заданный структурный ген. «Бело-голубой» скрининг на примере плазмиды pUC.
- Скрининг по устойчивости к антибиотикам трансформированных плазмидой pBR322 клеток. Скрининг по лизису клеток без рекомбинантной ДНК в векторе λ gt10. Иммунологический скрининг.
- Идентификация трансформированных клеток методом гибридизации колоний. Идентификация наличия ДНК-вставки по белковому продукту.
- Проблемы экспрессии чужеродных генов в микроорганизмах. Способы обеспечения возможности экспрессии генов млекопитающих в микробной клетке. Стабилизация чужеродных белков (целевых продуктов) в клетках.

Примерный перечень вопросов к экзамену

- Биотехнологический лекарственный препарат, специфика и принципы биотехнологического производства. Общая характеристика, классификация и основные этапы биотехнологических процессов. Условия, необходимые для работы биообъектов в биотехнологических системах.
- Классификация питательных сред по назначению, составу

и консистенции. Требования, предъявляемые к питательным средам. Химический состав и конструирование питательных сред в соответствии с потребностями продуцентов. Последствия субстратного лимитирования и избыточного содержания компонентов питательных сред. Сохранение биологической полноценности сред при их стерилизации.

- Методы стерилизации и принципы расчета режима стерилизации питательных сред. Критерии выбора метода стерилизации в промышленном производстве лекарственных средств. Мероприятия по снижению риска контаминации, проведение операций в асептических условиях.
- Многоэтапность подготовки посевного материала. Виды посевного материала и особенности культивирования различных типов посевного материала. Консервирования и хранение чистых культур-продуцентов.
- Закономерности роста и развития культур клеток млекопитающих. Особенности поведения и развития нормальных, трансформированных и опухолевых клеток. Характеристика свойств конечных и постоянных клеточных линий. Способы получения культивируемых животных клеток, создание и особенности существования первичных культур. Монослойные и суспензионные клеточные культуры.
- Методы получения культивируемых *in vitro* клеток растений. Свойство тотипотентности растительных клеток, процессы каллусогенеза. Особенности роста и метаболизма растительных клеток *in vitro*. Этапы и методы клонального микроразмножения, его достоинства и недостатки.
- Кинетические кривые роста культуры-продуцента в закрытых системах. Понятие о первичных и вторичных метаболитах. Влияние условий культивирования на жизнедеятельность и характеристики продуцентов. Классификация процессов ферментации. Преимущества и недостатки биотехнологических методов по сравнению с химическим синтезом.
- Аппаратурное оформление биотехнологического процесса. Назначение биореакторов/ферментеров и основные предъявляемые требования. Классификация биореакторных систем и принципы организации материальных потоков при культивировании. Ферментеры для культур микроорганизмов и биореакторы для клеточных культур.
- Классификация биореакторных систем и принципы организации материальных потоков при культивировании. Хемостатный и турбидостатный режимы культивирования. Системы технологического оснащения биореакторов для оптимизации процесса культивирования.
- Эвристическая классификация операций этапа постферментационной обработки. Биомасса как целевой продукт. Седиментация биомассы и нативного раствора культуральной жидкости.

- Методы извлечения внутриклеточных продуктов биосинтеза. Разрушение клеточной стенки биообъектов и экстрагирование целевых продуктов. Методы выделения и очистки целевого продукта из нативного раствора культуральной жидкости. Факторы, влияющие на выход целевого продукта при постферментативной обработке.
- Концентрирование и стабилизация целевых продуктов биотехнологического процесса. Изготовление и стандартизация готовых форм лекарственных средств, получаемых методами биотехнологии.
- Национальные стандарты и документы, регламентирующие условия производства биотехнологических лекарственных средств в соответствии с нормами и требованиями надлежащей производственной практики (GMP). Основные положения GMP к биотехнологическому производству лекарств.
- Современное глобальное производство аминокислот, аминокислоты как компоненты фармакотерапии. Способы промышленного получения аминокислот. Биотехнологическое производство органических кислот (лимонная, янтарная, яблочная кислота). Органические кислоты в фармацевтических продуктах.
- Одно- и двухступенчатый (химико-энзиматический) микробиологический синтез аминокислот. Метаболическая инженерия в конструировании продуцентов аминокислот. Прототрофные (дикие) штаммы микроорганизмов, ауксотрофные и регуляторные мутантные штаммы-продуценты.
- Биотехнологическое производство глутаминовой кислоты и лизина: продуценты, стадии производства, условия накопления аминокислот, основные механизмы регуляции биосинтеза.
- Способы получения ферментов для медицинских целей. Лекарственные препараты, содержащие рекомбинантные ферменты. Повышение качества ферментов как лекарственных средств. Ферменты как биокатализаторы в фармацевтической промышленности.
- Особенности выделения и очистки белков в процессе биотехнологического производства. Иммобилизация ферментов: назначение, методы, носители.
- Пути производства гормональных препаратов. Инсулин: физиологические функции, терапевтическое применение и классификация лекарственных препаратов. Промышленное получение рекомбинантного инсулина, лекарственные средства на основе рекомбинантного инсулина. Биотехнологическое производство препаратов эритропоэтина.
- Соматотропин: биологическое действие, терапевтические показания к применению, продуценты. Глюкагон: физиологические функции, лекарственные препараты на основе рекомбинантного глюкагона. Штаммы микроорганизмов, обладающие способностью

к трансформации стероидов. Получение стероидных гормонов: преимущества микробной биотрансформации перед многостадийным химическим синтезом.

- Классификация и основные пути производства витаминов. Микробиологический синтез витаминов, лекарственные средства витаминов на фармацевтическом рынке. Основные продуценты, схема биосинтеза витамина В₂ (рибофлавина). Биотехнологическое производство витамина С: химический синтез и стадия биоконверсии в производстве L-аскорбиновой кислоты.
- Микроорганизмы-продуценты витамина В₁₂ (цианокобаламина), особенности биотехнологического производства витамина В₁₂. Биотехнология получения эргостерола и витаминов группы D. Классификация и источники каротиноидов, биотехнология получения каротиноидов.
- Биотехнология получения вторичных метаболитов. Терапевтический потенциал соединений с антибиотической активностью. История открытия, классификация и механизмы действия антибиотиков. Проблема формирования резистентности к антибиотикам.
- Продуценты антибиотиков, особенности получения и схема промышленного производства антибиотиков. β-лактамы: механизм действия и биотехнологическое производство пенициллина. Аминогликозидные антибиотики: механизм действия и биотехнологическое производство стрептомицина.
- Состав и роль нормобиоты для нормального функционирования организма человека. Молочнокислые бактерии как основной компонент микробиоты пищеварительного тракта. Дисбактериоз и его профилактика с применением пробиотиков. Монопрепараты и препараты на основе смешанных культур.
- Биотехнология препаратов нормобиоты, классификация пробиотиков. Биотехнология олиго-, полисахаридов медицинского назначения.
- Иммунобиотехнология. Защитные механизмы иммунного ответа на антиген. Иммунитет к инфекциям, вакцинопрофилактика. Терапевтические иммунобиотехнологические препараты.
- Структура и функции иммуноглобулинов (на примере IgG). Взаимодействие антиген-антитело, условия формирования комплексов антиген-антитело. Проблемы и перспективные подходы в биотехнологии специфических антител человека.
- Гетерогенность (поликлональность) сыворотки, основные области применения поликлональных антисывороток. Сравнительная характеристика первичного и вторичного иммунных ответов. Применение адъювантов при иммунизации.
- Проблемы и перспективные подходы в технологии производства специфических антител человека, использование гибридомных технологий для получения моноклональных антител. Преимущества

- и области использования моноклональных антител. Иммуноферментный анализ.
- Классификация и состав вакцинных препаратов. Эволюция поколений вакцин. Атенуированные и инактивированные вакцины.
 - Субъединичные, конъюгированные и рекомбинантные вакцины. Принципиальная схема получения, апробации и внедрения в производственную практику новых вакцин.
 - ДНК-вакцины, РНК-вакцины и вакцины на основе плазмидных векторов. Повышение иммуногенности вакцин.
 - Иммунобиотехнология интерлейкинов. Основные функции интерлейкинов, получение и культивирование продуцентов интерлейкинов. Назначение препаратов интерлейкинов.
 - Классификация и биологические эффекты интерферонов. Поэтапная биотехнология производства препаратов интерферонов. Иммуномодулирующие агенты.
 - Препараты крови. Понятие об антисвертывающей системе крови. Антикоагулянты, физиологическая роль. Биопрепараты гепарина и низкомолекулярных аналогов гепарина, рекомбинантные антикоагулянты.
 - Тромболитические агенты, механизм действия. Природный и рекомбинантный тканевой активатор плазминогена. Биотехнология получения тромболитических препаратов с применением культур клеток и трансгенных животных. Рекомбинантные тромболитические агенты.

Типы ситуационных задач к экзамену

- Определите фармацевтическую субстанцию по описанию биотехнологического процесса.
- Обоснуйте технологию изготовления и рассчитайте режим тепловой стерилизации для питательной среды объёмом $X \text{ (м}^3\text{)}$, предназначенной для культивирования продуцента. Состав питательной среды:
А, - г/л; В, - г/л; С, - г/л; D, - г/л; Е, - г/л; дист. вода, до 1 л.
- В А (л) стерильной питательной среды добавили В (мл) суспензии спор бактерий, содержащей С спор. Среду выдержали при температуре D ($^{\circ}\text{C}$) в течении Е (мин). Разбавили для охлаждения F (л) стерильной холодной воды. В полученной жидкости обнаружили микробиологическим путём G спор в 1 мл. Рассчитайте удельную скорость гибели спор (мин^{-1}) при температуре H ($^{\circ}\text{C}$) и время стерилизационной выдержки (мин) при этой температуре при вероятности выживания микроорганизмов I.
- Масса стерилизуемой среды А (кг). Нагревание ведется от В ($^{\circ}\text{C}$) до температуры стерилизации С ($^{\circ}\text{C}$) в течении D (мин) со скоростью Е (мин) в минуту. Выдерживание F ($^{\circ}\text{C}$) составляет G (мин). Охлаждение от С ($^{\circ}\text{C}$) до В ($^{\circ}\text{C}$) происходит в течении H (мин).

Концентрация спорного материала в среде I (ед/г). Рассчитайте, обеспечивает ли выбранный режим полную стерилизации среды.

ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ УВО

Название учебной дисциплины, с которой требуется согласование	Название кафедры	Предложения об изменениях в содержании учебной программы по изучаемой дисциплине	Решение, принятое кафедрой, разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола)
Общая фармакология	Кафедра радиационной химии и химико-фармацевтических технологий	Отсутствуют	Утвердить согласование без внесения изменений (протокол № 12 от 05.06.2023)
Технология лекарств	Кафедра радиационной химии и химико-фармацевтических технологий	Отсутствуют	Утвердить согласование без внесения изменений (протокол № 12 от 05.06.2023)

ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ УВО

«Биотехнология лекарств»

на ____ / ____ учебный год

№ п/п	Дополнения и изменения	Основание

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры радиационной химии и химико-фармацевтических технологий химического факультета Белорусского государственного университета (протокол № ____ от _____ г.)

Заведующий кафедрой

(ученая степень, ученое звание)

(подпись)

(И.О.Фамилия)

УТВЕРЖДАЮ

Декан факультета

(ученая степень, ученое звание)

(подпись)

(И.О.Фамилия)