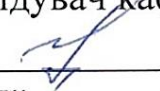


**ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
КАФЕДРА ТЕХНОЛОГІЇ ЛІКІВ**

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

 (Борисюк І.Ю.)

“ 27 ” серпня 2021 р

**МЕТОДИЧНА РОЗРОБКА ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ**

Факультет: фармацевтичний

Навчальна дисципліна «Фармацевтична біотехнологія»

Семінарське заняття №2 Тема: **«Біотехнологічні методи одержання білків»  
для аспірантів**

Практичне заняття розробив:  
асистент



\_\_\_\_\_ (Акішева А.С.)

Практичне заняття обговорено на  
методичній нараді кафедри  
«27» серпня 2021 р.  
Протокол № 1

Одеса – 2021

**Тема: Біотехнологічні методи одержання білків**

**Мета:** Ознайомитися з біотехнологічними методами одержання білків.

**Основні поняття:** амінокислоти, пептиди, білки, простетична група.

**Обладнання:** згідно до вимог Належної аптечної практики (GPP).

**Навчальний час: 4,0**

План

**I. Організаційний момент**

**Зміст теми**

При утворенні білка в результаті взаємодії  $\alpha$ -аміногрупи ( $-\text{NH}_2$ ) однієї амінокислоти з  $\alpha$ -карбоксыльною групою ( $-\text{COOH}$ ) іншої амінокислоти утворюються пептидні зв'язки. Кінці білка називають С-і N-кінцем (в залежності від того, яка з груп кінцевої амінокислоти вільна:  $-\text{COOH}$  або  $-\text{NH}_2$ , відповідно). При синтезі білка на рибосомі, нові амінокислоти приєднуються до С-кінця, тому назва пептиду або білка дається шляхом перерахування амінокислотних залишків починаючи з N-кінця. Білки довжиною від 2 до 100 амінокислотних залишків часто називають пептидами, при більшому ступені полімеризації - протеїнами, хоча цей поділ вельми умовно. Послідовність амінокислот у білку відповідає інформації, що міститься в гені даного білка. Ця інформація представлена у вигляді послідовності нуклеотидів, причому одній амінокислоті відповідає одна або кілька послідовностей з трьох нуклеотидів - так званих кодонів або кодонів. Те, яка амінокислота відповідає даному кодону в мРНК визначається генетичним кодом, який може дещо відрізнятися у різних організмів. Гомологічні білки (виконують одну функцію і імовірно мають загальне еволюційного походження, наприклад, гемоглобіни) різних організмів мають у багатьох місцях ланцюга різні амінокислотні залишки, звані варіабельні, на противагу симетричним, загальним залишкам. За ступенем гомології можлива оцінки еволюційного відстані між таксонами.

Виділяють прості білки (протеїни) і складні білки (протеїди). Прості білки містять тільки амінокислоти, пов'язані в ланцюжок. Складні білки мають також неамінокислотні групи. Ці додаткові групи в складі складних білків називаються «простетичної групами». Багато білки еукаріот, наприклад, мають полісахаридні ланцюги, які допомагають білку приймати потрібну конформацію і надають додаткову стабільність. Дисульфідні містки також грають роль як елементи необхідні при прийнятті білком правильної 3-х мірної форми, і є головним компонентом складних білків. Але важливо зауважити, що в основному тільки еукаріоти здатні на синтезування складних білків (протеїдов), так як прокаріоти не мають достатньо компартментализации для створення додаткових змін, присутніх в складних білках, і навіть якщо можуть це робити в періплазма-ному просторі, то це трапляється або рідко, або неефективно. Крім послідовності (первинної

структури), вкрай важлива тривимірна структура білка, яка формується в процесі фолдинга (від англ. folding, тобто згортання). Показано, що незважаючи на величезні розміри молекул, природні білки мають лише одну конформацію, що втратили структуру білки втрачають свої властивості. Виділяють чотири рівні структури білка: Первинна структура - послідовність амінокислотних залишків в поліпептидного ланцюга. Вторинна структура - локальне впорядкування фрагмента поліпептидного ланцюга, стабілізована водневими зв'язками і гідрофобними взаємодіями. Нижче наведені деякі поширені типи вторинної структури білків:  $\alpha$ -спіралі - щільні витки навколо довгої осі молекули, один виток складають 4 амінокислотних залишки, спіраль стабілізована водневими зв'язками між Н і О пептидних груп, віддалених один від одного на 4 ланки. Спіраль може бути побудована виключно з одного типу стереоізомерів амінокислот (L або D), хоча вона може бути як левозакрученної, так і правозакрученної, в білках переважає правозакрученна. Спіраль порушують електростатичні взаємодії глутамінової кислоти, лізину, аргініну, близько розташованих аспарагін, серин, треонін і лейцин можуть стерически заважати утворенню спіралі, пролін викликає вигин ланцюга і також порушує  $\alpha$ -спіралі.  $\beta$ -листи (складчасті шари) - кілька зигзагоподібних поліпептидних ланцюгів, в яких водневі зв'язки утворюються між різними ланцюгами, а не всередині однієї, як має місце в  $\alpha$ -спіралі. Ці ланцюги зазвичай спрямовані N-кінцями в різні боки (антипаралельними орієнтація). Для освіти листів важливі невеликі розміри R-груп амінокислот, переважають зазвичай гліцин і аланін. невпорядковані фрагменти. Третинна структура - просторова будова поліпептидного ланцюга - взаємне розташування елементів вторинної структури, стабілізовану взаємодією між бічними ланцюгами амінокислотних залишків. У стабілізації третинної структури беруть участь:

ковалентні зв'язки (між двома цистеїну - дисульфідні містки); іонні (електростатичні) взаємодії (між протилежно зарядженими амінокислотними залишками); водневі зв'язки; гідрофобні взаємодії. Четверична структура - суб'єдинічна структура білка. Взаємне розташування декількох поліпептидних ланцюгів у складі єдиного білкового комплексу. Також виділяють: тривимірну структуру білка - набір просторових координат, що становлять білок атомів. Суб'єдинічну (доменну) структуру білка - послідовність ділянок білка, що мають відому функцію або певну тривимірну структуру. Гідрофобне ядро, що забезпечує згортання білка.

Найважливіші функції організму: обмін речовин, розвиток, зростання, рух - Здійснюємо біохімічними реакціями за участю білків. Тому в клітинах безперервно синтезуються білки: білки-ферменти, білки-гормони, скоротливі білки, захисні білки. Первинна структура білка (порядок розташування амінокислот у білку) закодована в молекулах ДНК. Кожен триплет (група з трьох сусідніх нуклеотидів) кодує на нитки ДНК одну певну амінокислоту з

двадцяти. Послідовність триплетів на нитки ДНК являє собою генетичний код. Знаючи послідовність триплетів на нитки ДНК, тобто генетичний код, можна встановити послідовність з'єднання амінокислот у білку. До теперішнього часу розшифровані триплети для всіх двадцяти амінокислот. наприклад:

амінокислоти лізин кодує на нитки ДНК триплет ТТТ.

амінокислоти триптофан кодує триплет АЦЦ і т.д.

В одній молекулі ДНК може бути закодовані кілька різних білків. Ділянка ДНК, на якому закодований білок, називають геном. Ділянки ДНК відокремлюються один від одного спеціальними триплету, які є знаками пунктуації. Вони означають початок і закінчення синтезу білка. Оскільки ДНК, в якій зберігається генетична інформація про білку так само особистої участі в синтезі білка, міститься в ядрі, а синтез білка відбувається в цитоплазмі на рибосомах, існує посередники РНК.

-іРНК зчитує генетичну інформацію про білку з ділянки ДНК і передає цю інформацію з нитки ДНК на рибосому. -іРНК синтезується на ділянці ДНК за принципом комплементарності. Навпаки азотистого підстави аденін (А) на нитки ДНК розташовується урацил (У) на нитки іРНК, навпаки азотистої підстави тимін (Т) на нитки ДНК розташовується аденін (А) на іРНК, навпаки азотистої основи гуанін (Г) на нитки ДНК розташовується цитазин (Ц). Процес зчитування іРНК генетичної інформації про білку з ділянки ДНК називається транскрипцією. Цей процес протікає як матричний синтез, так як одна з ниток ДНК є матрицею. Синтез білка відбувається на рибосомах. На нитки іРНК розташовується зазвичай група рибосом. Таку групу рибосом називають полисомой. Рибосоми просуваються на нитки іРНК від триплетів до триплети. Кожен триплет на нитки іРНК кодує одну певну амінокислоту з двадцяти амінокислот. Транспортні РНК приєднують певні амінокислоти (кожна тРНК приєднує одну певну амінокислоту) і приносить їх до рибосом. При цьому антикодон кожної тРНК повинен бути комплементарен одному з триплетів (кодонів) на іРНК (антикодон АГЦ на тРНК повинен бути комплементарен кодону УДЦ на нитки іРНК. РРНК разом з білками - ферментами приймає участь в з'єднанні амінокислот один з одним, в результаті чого на рибосомах синтезується певний білок.) Цей процес називається трансляцією. Досягнувши кінцевого ділянки на нитки іРНК, рибосоми відокремлюються від нитки РНК. Синтезована молекула білка має первинну структуру. Потім вона набуває вторинну, третинну і четвертинних структури. У синтезі білка беруть участь велика кількість ферментів. На синтез білка витрачається енергія АТФ. Білок потім надходить в канали ендоплазматичної мережі, в якому транспортується до певних ділянок клітини.

За багатьма важливими показниками біомаса мікроорганізмів може мати вельми високою поживною цінністю. У чималому ступені ця цінність

визначається білками: у більшості видів вони становлять значну частку сухої маси клітин. Протягом десятиліть активно обговорюються і досліджуються перспективи збільшення частки білка мікроорганізмів у загальному балансі виробленого в усьому світі білка. «Білок одноклітинних» є відносно новим джерелом поживних речовин. Його виробництво почалося в кінці 1960-х років. Термін відноситься до білка, який отримують при великомасштабному вирощуванні мікроорганізмів, таких як бактерії, водорості, а також дріжджі і інші гриби. Білок придатний для вживання людьми і може бути використаний як корм для тварин. Він служить корисним джерелом мінеральних речовин, вітамінів, жирів і вуглеводів. Теоретично це дозволяє вивільнити для потреб людини цілий ряд білкових продуктів, таких як соєве борошно і зерно, які в даний час використовуються на корм тварин. Великомасштабне культивування промислових мікроорганізмів і використання їх біомаси - один з основних джерел білка для людини і тварин.

База сировини мікроорганізмів практично невичерпна, зростання біомаси швидкий і інтенсивний, склад білка одноклітинних вельми постійний, він, як правило, збалансований за амінокислотним складом. З біомаси промислових мікроорганізмів можна отримати широку гамму продуктів різного призначення в господарській діяльності людини. Біомаса промислових мікроорганізмів вже зараз широко використовується для отримання мікробних препаратів (удобритель ґрунтів, стимуляторів і регуляторів росту рослин) і мікробних полімерів (ферментних білків, імунобіологічних препаратів, інтерферонів, антибіотиків, гормонів і т.д.).

## **II. Контроль опорних знань**

Виконати тестові завдання:

1. Фармацевтичне підприємство освоєє випуск нової продукції. В якому розділі промислового технологічного регламенту описані зовнішній вигляд і фізико-хімічні властивості готового продукту:

- A Характеристика кінцевого продукту виробництва
- B.. Виклад технологічного процесу
- C. Характеристика сировини, матеріалів і напівпродуктів
- D Характеристика допоміжного сировини і матеріалів
- E. Інформаційні матеріали

2. В якому розділі регламенту описана санітарна підготовка виробничих приміщень:

- A. Опис стадій технологічного процесу і виробнича санітарія
- B. Техніка безпеки, пожежна безпека і виробнича санітарія
- C. Безпечна експлуатація виробництва та охорона навколишнього середовища

D Інформаційні матеріали

E. Загальна характеристика виробництва

3. Вкажіть аналітичний нормативний документ, що встановлює вимоги до складу препарату та процесу його виробництва:

A. Технологічний регламент, фармакопейна стаття

B. Технічний регламент

C. Державний стандарт (ГОСТ)

D Галузевий стандарт (ОСТ)

E. Технічні умови

4. У промислово-технічному відділі розробляють технічний регламент. На виробництві замінили кілька одиниць обладнання. В який розділ технічного регламенту потрібно терміново внести зміни.

A. Апаратурна схема

B. Розділ охорони праці

C. Таблиця ГДК

D План ліквідації аварії

E. Перелік інструкцій

5. На фармацевтичному підприємстві виготовляють різні готові лікарські засоби згідно з технологічними регламентами. Протягом якого терміну промисловий регламент є дійсним:

A 5 років

B. 3 роки

C. 8 років

D. 1 рік

E. 6 місяців

6. Нормативний документ, в якому встановлені вимоги до конкретної продукції та послуг, що регулює відносини між постачальником і споживачем. Який документ відповідає цьому визначенню:

A. Технічні умови;

B. Стандарт;

C. Технічний регламент;

D Технологічний регламент;

E. Методичні вказівки.

7. Що не регламентують правила GMP:

A. вимоги до біологічної доступності препарату;

B. фармацевтичну термінологію;

C. вимоги до будівель та приміщень виробництва;

- D. вимоги до персоналу;
- E. необхідність валідації.

8. Витратні коефіцієнт - це:

- A. Відношення маси вихідних компонентів до маси готового продукту.
- B. Кількість речовини, що використовується для отримання заданої кількості препарату.
- C. Відношення маси готового продукту до маси вихідних матеріалів.
- D Відношення маси матеріальних втрат до маси вихідних матеріалів.
- E. Сума мас втрат і вихідного матеріалу

9. Валідація - це поняття, що відноситься до GMP і що означає:

- A. Що система працює так, як і передбачалося.
- B. Рентабельність підприємства.
- C. Контроль за роботою ВТК підприємства.
- D Стерильність продукції.
- E. Перевірку якості ГЛЗ.

10. Правила GMP регламентують:

- A. Всі відповіді вірні.
- B. Фармацевтичну технологію.
- C. Вимоги до будівель та приміщень фармвиробництва.
- D Вимоги до персоналу.
- E. Необхідність валідації.

11. Правила GMP регламентують:

- A. Проведення доклінічних випробувань фармацевтичних препаратів.
- B. Організацію виробництва ГЛЗ.
- C. Проведення клінічних випробувань.
- D Правила роздрібної торгівлі.
- E. Правила оптової торгівлі.

12. Правила GMP регламентують:

- A. Проведення клінічних випробувань
- B. Організацію виробництва ГЛЗ.
- C. Проведення доклінічних випробувань фармацевтичних препаратів.
- D Правила роздрібної торгівлі.
- E. Правила оптової торгівлі.

13. Матеріальний баланс - це:

- A. Співвідношення між кількістю вихідних матеріалів, готової продукції, відходами виробництва і матеріальними втратами.

- В. Кількість матеріальних втрат.
  - С. Співвідношення між кількістю готового продукту і відходів.
  - Д Опис технологічного процесу.
  - Е. Співвідношення кількостей енергії, введеної в технологічний процес і виділеної після його закінчення.
14. Виберіть машину для середнього подрібнення рослинної сировини:
- А. Траво- і корнерезка
  - В. Вибрационная млин
  - С. Барабанна млин
  - Д Стрижнева млин
  - Е. Струйная млин
15. При виготовленні розчинів на фармацевтичних підприємствах використовують різне обладнання. Які апарати використовують для механічного перемішування рідин?
- А. Лопатеві, турбінні мішалки.
  - В. Рідинні свистки.
  - С. Пульсатор.
  - Д Реактори.
  - Е. Барботер.
16. При виборі измельчающего обладнання враховують фізико-хімічні властивості матеріалу. Визначити спосіб подрібнення для волокнистого матеріалу з клітинною структурою.
- А. Різка, стирання
  - В. Удар, розколювання, стирання
  - С. Розчавлювання, удар
  - Д Розчавлювання, стирання
  - Е. Удар
17. При виробництві розчинів на фармацевтичних підприємствах використовують різне устаткування. Які апарати застосовуються для механічного перемішування рідин?
- А. Лопатеві мішалки
  - В. Компресори
  - С. Пульсатор
  - Д Рідинні свистки
  - Е. Насоси
18. На фармацевтичному підприємстві застосовуються різні типи сушарок. Які сушарки належать до типу контактних?



- А. вальцевого
- В. Стрічкові
- С. Повітряно-циркуляційні
- Д Пневматичні
- Е. Распилительные

19. У процесі виготовлення фіто- і органопрепаратів використовують різні види сушарок. Яку сушилку найбільш доцільно використовувати для висушування термолабільних речовин?

- А. Ліофільні
- В. вальцевого
- С. стрічкові
- Д Сушильна шафа
- Е. Барабанную

20. Для фільтрування розчинів використовують різну апаратуру. Які фільтри використовують для фільтрування під вакуум:

- А. Нутч-фільтри
- В. Друк-фільтри
- С. Рамні фільтри-преси
- Д Фільтри-мішки
- Е. Центрифуги

21. Якою має бути правильна комплектація одягу при роботі в «чистих» приміщеннях, відповідно до рекомендації GMP?

- А. Комбінезон, шолом, маска, бахіли, рукавички
- В. Костюм брюк, маска, бахіли
- С. Комбінезон, маска, бахіли, рукавички
- Д. Костюм брюк, головний убір, рукавички, бахіли
- Е. Костюм брюк, шолом, бахіли

22. Для виробництва стерильної продукції в заводських умовах GMP ВООЗ класифікують "чисті" зони відповідно до вимог до характеристик повітря на наступні класи чистоти:

- А. А, В, С, D
- В. А, Б, В, Г, Д
- С. I, II і III
- Д. I і II
- Е. А і В

23. Відповідно до вимог GMP ВООЗ чисті приміщення для виробництва стерильної продукції класифікує відповідно вимог до характеристик на класи чистоти. Якого класу чистоти не існує для фармацевтичних підприємств?

- A. E;
- B. B;
- C. C;
- D. D;
- E. A;

24. Який нормативно-технічний документ встановлює вимоги до якості лікарського засобу або лікарської рослинної сировини, затверджується на обмежений термін.

- A. Тимчасова фармакопейна стаття (ТФС)
- B. Фармакопейна стаття (ФС)
- C. Технологічний промисловий регламент (ТПР)
- D. Галузевий стандарт (ДСТУ)
- E. Державний стандарт (ДСТ)

25. Нормативний документ, в якому встановлені вимоги до конкретної продукції та послуг, і регулює відносини між постачальником і споживачем. Який документ відповідає цьому визначенню?

- A. Технічні умови;
- B. Методичні вказівки.
- C. Технічний регламент;
- D. Стандарт;
- E. Технологічний регламент;

26. Здатність порошкоподібних мас висипатися з ємкості лійки або "ТЕКТ" під силою власної ваги і забезпечувати рівномірне заповнення матричного каналу має назву:

- A. Плінність
- B. Пресованість
- C. Гранулювання
- D. дражування
- E. Розпілення

### **III. Обговорення теоретичних питань:**

1. Структуру білка
2. Біосинтез білка
3. Застосування білка одноклітинних
4. Основні принципи отримання білків

5. Використання мікроорганізмів для виробництва білка (Використання дріжджів для виробництва білка; Використання бактерій; Використання водоростей; Використання грибів)
6. Методи очищення білків
7. Руйнування клітин і екстракція
8. Методи, які використовуються при очищенні білків і ферментів, асоційованих з частинками

#### **Теми доповідей/ рефератів**

- 1- Основні принципи отримання білків
- 2- Методи очищення білків
- 3- Використання дріжджів для виробництва білка

#### **IV. Підведення підсумків**

##### **4- Список рекомендованої літератури**

1. S. Spada. G. Walsh Directory of Approved Biopharmaceutical Products 1st Edition . – CRC Press, 2019. – 336 p.
2. C. Kokare PHARMACEUTICAL BIOTECHNOLOGY 1st Edition. – Nirali Prakashan, 2017. – 274.
3. Лихач А. В. Промислова біотехнологія / А. В. Лихач. – МНАУ. – 2016. – 116 с.
4. Краснопольский Ю.М., Звягинцева О.В. Фармацевтическая биотехнология. Аспекты фармацевтической химии. Ю.М. Краснопольский, О.В. Звягинцева. – Харьков: НТУ «ХПИ», 2018. – 248 с.
5. Державна фармакопея України : в 3 т. / ДП “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. –2-е вид. –Харків : Державне підприємство “ Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів ”, 2015. –Т.1. –1128 с.