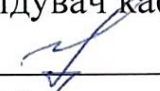


**ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
КАФЕДРА ТЕХНОЛОГІЇ ЛІКІВ**

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

 (Борисюк І.Ю.)

“ 27 ” серпня 2021 р

**МЕТОДИЧНА РОЗРОБКА ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ**

Факультет: фармацевтичний

Навчальна дисципліна «Фармацевтична біотехнологія»

Семінарське заняття №4 Тема: **«Біотехнологія рекомбінантних ДНК.»**  
для аспірантів

Практичне заняття розробив:  
асистент



\_\_\_\_\_ (Акішева А.С.)

підпис

Практичне заняття обговорено на  
методичній нараді кафедри  
«27» серпня 2021 р.

Протокол № 1

Одеса – 2021

**Тема: Біотехнологія рекомбінантних ДНК.**

**Мета:** Ознайомитися з методиками отримання рекомбінантної ДНК

**Основні поняття:** рекомбінантна ДНК

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

**Навчальний час: 4,0**

План

**I. Організаційний момент**

**Зміст теми**

Продуценти для генно-інженерної біотехнології

Як продуцентів, що використовуються в біотехнології рекомбінантних ДНК, застосовуються прокаріотическіе і еукаріотичні клітини. Бактеріальні клітини. Бактерія *E. Coli* - грам непатогенна рухлива паличка довжиною менше 1 мкм. Її місцем існування є кишечник людини, але вона також може висівати з води і ґрунту. Завдяки здатності розмножуватися простим поділом на середовищах, що містять тільки іони  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $NH_4^+$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_4^-$ ,  $SO_4^{2-}$ , мікроелементи і джерело вуглецю (наприклад, глюкозу), *E. Coli* стала улюбленим об'єктом для наукових досліджень. При культивуванні *E. Coli* на збагачених рідких поживних середовищах, що містять амінокислоти, вітаміни, солі, мікроелементи і джерело вуглецю, час генерації (т. Е. Час між освітою бактерії і її поділом) в логарифмічною фазі росту при температурі  $37^\circ C$ , становить приблизно 22 хв. *E. Coli* можна культивувати як в аеробних, так і в анаеробних умовах. Однак для оптимальної продукції рекомбінантних білків *E. Coli* (і інші мікроорганізми), зазвичай, вирощують в аеробних умовах. Крім *E. Coli* в біотехнології використовують ряд інших мікроорганізмів: *Acremonium chrysogenum*, *Bacillus brevis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Corynebacterium glutamicum*, *Erwinia herbicola*, *Pseudomonas spp.*, *Rhizobium spp.*, *Streptomyces spp.*, *Trichoderma reesei*, *Xanthomonas campestris*, *Zymomonas mobilis* ін. Їх можна розділити на дві групи: мікроорганізми як джерела специфічних генів;

- мікроорганізми, створені генно-інженерними методами для вирішення певних завдань. До специфічних генів відноситься, наприклад, ген, що кодує термостабільну ДНК-полімерази, яка використовується в широко застосовується полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Цей ген був виділений з термофільних бактерій і клонований в *E. Coli*. До другої групи мікроорганізмів відносяться, наприклад, різні штами *Corynebacterium glutamicum*, які були генетично модифіковані з метою підвищення продукції промислово важливих амінокислот. Дріжджові клітини. Синтезований бактеріальною клітиною еукаріотичний білок часто доводиться піддавати ферментативної модифікації, приєднуючи до білкової молекулі низькомолекулярні сполуки (у багатьох випадках це необхідно для

правильного функціонування білка). На жаль, *E. Coli* і інші прокариоти не здатні здійснювати ці модифікації, тому для отримання повноцінних еукаріотичних білків використовують *Saccharomyces cerevisiae*. Дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* - це непатогенні одноклітинні мікроорганізми з діаметром клітини приблизно 5 мкм, які в багатьох відносинах являють собою еукаріотичний аналог *E. Coli*. Їх генетика, молекулярна біологія і метаболізм детально вивчені. *S. Cerevisiae* розмножуються брунькуванням і добре ростуть на такий же простий середовищі, як і *E. Coli*. Їх здатність до перетворення цукру в етанол і вуглекислий газ здавна використовувалися для виготовлення алкогольних напоїв і хліба. Щорічно в світі витрачається 1 млн. Тонн *S. cerevisiae*. У 1996 році була визначена повна нуклеотидних послідовність всього набору хромосом *S. cerevisiae*, що ще більш підвищило цінність цього мікроорганізму для наукових досліджень. В даний час, крім *S. Cerevisiae* використовують і інші види дріжджів: *Klueveromyces lactis*, *Saccharomyces diastaticus*, *Schizisaccharomyces pombe*, *Yarrowia lipolytica*, *Pichia pastoris*, *Hansenula polymorpha*. Найбільш ефективними продуцентами рекомбінантних білків є *P. Pastoris* і *H. polymorpha*. Сьогодні, з використанням дріжджових клітин отримані інтерферони, компоненти вакцин. Еукаріотичні клітини. При всіх відмінностях між типами еукаріот, методичні підходи до культивування клітин комах, рослин і ссавців мають багато спільного. Спочатку беруть невеликий шматочок тканини даного організму і обробляють його протеолітичними ферментами, що розщеплюють білки міжклітинного матеріалу (при роботі з рослинними клітинами додають спеціальні ферменти, що руйнують клітинну стінку). Вивільнені клітини поміщають в складну живильне середовище, що містить амінокислоти, антибіотики, вітаміни, солі, глюкози і фактори росту. У цих умовах клітини діляться до тих пір, поки на стінках ємності з культурою не утворюється клітинний моношар. Якщо після цього не перенести клітини в ємності зі свіжою живильним середовищем, то ріст припиняється. Зазвичай вдається переносити (перевивали, субкультивована) і підтримувати до 50 - 100 генерацій вихідної (первинної) культури, потім клітини починають втрачати здатність до поділу і гинуть. Часто деякі клітини перещеплених первинних клітинних культур зазнають генетичні зміни, в результаті яких прискорюється їх зростання. Культури клітин, які при цьому набувають селективні переваги, виявляються здатними до необмеженого росту *in vitro* і називаються стійкими клітинними лініями. У більшості клітин, здатних до необмеженого росту, є значні хромосомні зміни, зокрема відзначається збільшення числа хромосом і втрата інших. У біотехнології стійкі клітинні лінії іноді використовують для розмноження вірусів і для виявлення білків, які кодуються клонованими послідовностями ДНК. Крім того, вони застосовуються для великомасштабного виробництва вакцин і

рекомбінантних білків. Переваги та недоліки різних штамів-продуцентів рекомбінантних продуктів приведені в табл. 1.

Таблиця 1 - Характеристика штамів-продуцентів рекомбінантних белків

Продуценти	Преимущества	Недостатки
Бактерии: <i>E. Coli</i> , <i>B. subtilis</i>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Быстрый рост культуры (6–12 часов от начала посева до окончания индукции).</li> <li>2. Относительно высокий выход целевого продукта (100–2000 мг/л).</li> <li>3. Низкая цена ростовой среды.</li> <li>4. Низкая стоимость ферментации.</li> <li>5. Возможность получения микрокристаллов целевого белка (гельца включения).</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Затруднен биосинтез крупных полипептидов (более 50 кДа).</li> <li>2. Отсутствует система гликозилирования.</li> <li>3. Ограниченные возможности секреции белков.</li> <li>4. Ряд гетерологичных белков токсичны для клеток.</li> <li>5. Многие гетерологичные белки образуют только тела включения.</li> <li>6. Затруднено образование дисульфид. связей.</li> </ol>
Дрожжи: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Pichia pastoris</i>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Относительно быстрый рост культуры (3–5 суток от начала посева до окончания индукции).</li> <li>2. Высокий выход целевого продукта (до 40 г/л).</li> <li>3. Очень низкая цена ростовой среды (глицерин, метанол, аммиак).</li> <li>4. Умеренная стоимость ферментации.</li> <li>5. Возможна экспрессия крупных полипептидов (более 50 кДа).</li> <li>6. Возможно гликозилирование.</li> <li>7. Секреция белка осуществляется в ростовую среду и низкий уровень секреции протеаз.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. N-гликозилирование дает иммуногенные олигосахариды.</li> <li>2. Не все белки эффективно секретируются.</li> </ol>

Серед молекулярно-біологічних властивостей систем експресії у прокариотів найбільш важливими є:

- тип промотора і термінатора транскрипції;
- міцність зв'язування мРНК з рибосомою;
- число копій клонованого гена і його локалізація;
- кінцева локалізація синтезованого продукту;
- ефективність трансляції в організмі господаря;
- стабільність продукту в клітин-хозяїна.

Для отримання гетерологічних рекомбінантних білків з клонованої еукаріотичної комплементарної ДНК (кДНК) зазвичай використовуються прокариотичні системи експресії. Однак в деяких випадках еукаріотичні білки, синтезовані в бактеріях, виявляються нестабільними або біологічно неактивними. Крім того, як би ретельно не проводилася очистка, кінцевий продукт може бути забруднений токсичними речовинами або пірогенами. Щоб вирішити ці проблеми, для отримання рекомбінантних білків, призначених для використання в медицині, були розроблені еукаріотичні системи експресії. Такі білки повинні бути ідентичні природним за своїми

біохімічними, фізичним і функціональним властивостями. Нездатність прокариотів синтезувати автентичні варіанти білків обумовлена в основному відсутністю у них адекватних механізмів внесення специфічних пост-трансляційних модифікацій. Білки в клітинах еукаріот зазнають такі Пост-трансляційні зміни:

- освіту дисульфідних зв'язків (цю реакцію каталізує фермент дісульфідізомераза). Неправильно укладений білок виявляється нестабільним і неактивним;

- протеолітичну розщеплення попередника, видалення певної ділянки поліпептидного ланцюга з утворенням функціонально активного білка;

- гліколізованіє (основна модифікація, завдяки якій білки набувають стабільність, а в деяких випадках - особливі властивості). Найбільш поширена реакція глікозилування (приєднання специфічного цукрового залишку або до серину або треоніну (Оглікозілірованіє), або до аспарагін (N-глікозілірованіє));

- модифікації амінокислот в складі білка: фосфолірованіє, ацетилування, ацилірованіє, гаммакарбоксілірованіє, сульфатами, мірістілірованіє і пальмітоїлірованіє. Для ефективної експресії будь-якого гена абсолютно необхідна наявність сильного регульованого промотора, розташованого перед даним геном. Такий промотор має високу спорідненість до РНК-полімерази, тому прилеглі до нього послідовності ефективно транскрибуються. Регульованість промотора дозволяє клітині здійснювати строгий контроль транскрипції. Для експресії клонуваних генів широко використовується промотор добре вивченого лактозного оперона *E. Coli*. Однак є й інші промотори, що володіють корисним для контролю експресії властивостями. Для їх ідентифікації перед так званим геном-репортером, що кодує легко реєстрований продукт, але позбавленим промотора, вбудовують випадкові фрагменти ДНК. Якщо в результаті такої вставки ген-репортер ефективно експресується, то роблять висновок, що клонований фрагмент містить функціональний промотор. Більшість генів-репортерів кодують або продукти, які обумовлюють стійкість до антибіотиків, або фермент, який ідентифікується з допомогою досить простого колориметричного тесту. Використання генів-репортерів дозволяє проводити моніторинг рекомбінантних векторів, аналізувати активність, наприклад, вірусних промоторів, намічати шляхи регуляції і перемикування генів, здійснювати кількісну оцінку продуктів експресії. Як генів репортерів використовують: хлорамфеніколацетілтрансферазу, стрептоміцінфосфоттрансферазу, люціферази світлячка, бактеріальну люціферази, гентаміцінацетілтрансферазу і ряд інших. Таким чином, для отримання білка з повним набором специфічних модифікацій необхідно провести тестування різних еукаріотичних систем експресії і знайти систему, яка воспроизводи́лаби

біологічно автентичний продукт. Еукаріотичні експресують вектори і мають таку ж структуру, що і їх прокаріотичні аналоги і повинні містити:

- еукаріотичний селективний маркер;
- еукаріотичний промотор;
- відповідні еукаріотичні сайти термінації транскрипції і трансляції;
- сигнал поліаденілювання мРНК.

Технологічні принципи отримання рекомбінантних продуктів

Технологія рекомбінантних ДНК - це сукупність експериментальних процедур, що дозволяють здійснювати перенесення генетичного матеріалу (ДНК) з одного організму в інший. В даний час можна вирізати окремі ділянки ДНК, отримувати нуклеотиди на ДНК синтезаторах практично в необмежених кількостях, визначати послідовність нуклеотидів (розділяючи, секвеніруючи їх) сотнями в добу, змінювати виділений ген, вводити його знову в геном культивованих клітин або ембріона тварини, де цей змінений ген починає функціонувати. Конструювання рекомбінантних молекул здійснюється за допомогою ряду ферментів - обов'язкового і незамінного інструменту практично всіх етапів цього складного процесу, перш за все ферментів рестрикції (рестріцируючих ендонуклеаз, рестриктаз). Рестриктази є складовою частиною системи рестрикції - модифікації прокаріотів клітин. Ця система пов'язана із захистом клітин від проникнення чужорідної ДНК. Система модифікації здійснює метилювання власної ДНК в сайтах її впізнавання негайно після реплікації. Чужорідну ДНК, проникаючи в клітку, бактерії гідролізують за допомогою рестриктаз. Розрізняють три основні класи рестриктаз. Рестриктази класу I розривають молекули ДНК в довільних точках, рестриктази I і III класу володіють метилюючою і ендонуклеазною активністю. Ферменти II класу, які і використовуються в генній інженерії, складаються з двох окремих білків: рестрикційних ендонуклеаз і модифікуючої метилази. Саме використання рестриктази класу II дозволило проводити молекулярне клонування, так як цей фермент дізнається определенні послідовності підстав в двухланцюгової молекулі ДНК і розщеплює обидві ланцюга. В даний час використовується понад 400 різних рестриктаз. Ці ферменти синтезують найрізноманітніші мікроорганізми. Для їх культивування необхідні оптимальні умови (температура, склад і рН середовища, концентрація кисню і т. Д.). З метою підвищення продуктивності і стандартизації процесу отримання цих ферментів клонують гени рестріцируючих ендонуклеаз в *E. Coli*. При молекулярному клонуванні важливо, щоб розщеплення донорної і векторної ДНК відбувалося в строго певних ділянках (сайтах). Одна з перших рестріцируючих ендонуклеаз типу II була виділена з бактерії *E. Coli*, які отримали назву Eco RI. Цей фермент дізнається ділянку ДНК, що містить специфічну послідовність з шести пар основ, і вносить розрив між залишками гуаніну та аденіну в кожному ланцюзі, розщеплюючи зв'язок між

атомом кисню при 3'углеродноматоме цукрового залишку одного нуклеотиду і фосфатної групою, приєднаної до 5'углеродному атому цукрового залишку сусіднього нуклеотиду. Розриви ланцюга в ДНК розполагаютьсянаіскось один від одного, в результаті чого утворюються одноцепочечніє комплементарні кінці з «хвостами» з чотирьох нуклеотидів в кожному («липкі кінці»). Кожен одноланцюговий «хвіст» закінчується 5'фосфатной групою, а 3'гідроксільная група протилежної ланцюга як би втоплена. Кожен фермент рестриціруючих ендонуклеаз «пізнає» в ДНК специфічну послідовність з 4 - 6 нуклеотидів. Крім рестриктаз, що розщеплюють нуклеотидную ланцюг з утворенням «липких кінців», існують рестриктази, що вносять розриви в ланцюзі строго один проти одного з утворенням ДНК з «тупими кінцями». Однак ферментів рестрикції при молекулярному клонуванні недостатньо, так як водневї зв'язку між тими чотирьма основаніями, які утворюють «липкі кінці», не настільки міцні, щоб утримати два об'єдналися фрагмента ДНК. Для усунення розриву в сахарофосфатнимі кістяку молекули служить фермент ДНК-лігаза, що каталізує утворення фосфодієфірних зв'язків між кінцями полінуклеотид них ланцюгів, які утримуються разом при спарюванні «липких кінців». ДНК-лігаза зшиває і «тупі кінці». Таким чином, одна частина рекомбінантної молекули ДНК несе потрібний ген, який передбачається клонувати, інша - містить інформацію, необхідну для реплікації в клітині рекомбінантної ДНК. Крім того, при ДНК-рестрикції утворюються різноманітні фрагменти і після їх лігування (з'єднання фосфодієфірних зв'язком) з векторною ДНК з'являється безліч різних комбінацій фрагментів, наприклад, об'єднуютьсямежду собою фрагменти донорной ДНК і векторні ДНК. Для зменшення кількості останніх, рестрицірованную векторну ДНК обробляють лужною фосфатазою.

## **II. Контроль опорних знань**

Виконати тестові завдання:

1. Носій генетичної інформації повинен задовольняти вимогам:

А -репліціроваться з високою точністю;

Б-не піддаватися хімічному гідролізу;

В послідовний приєднувати ланки зростаючої полінуклеотидних ланцюга;

Г -виступать як переносник енергії;

Д -образовивать замкнуту кільцеподібну структуру.

2. Техніка генно-інженерного експерименту включає:

А -Копіювання гена людини, відповідального за синтез необхідного продукту;

Б -модифікацію генетичного апарату хворого для збільшення біосинтезу необхідних продуктів;

По-впровадження мікробної клітини з рекомбінантної ДНК в організм людини;

- Г -культивування і виділення мікробних клітин з рекомбінантними ДНК;
- Д -Впровадження мікробної клітини з рекомбінантної ДНК в організм тварини;
- Е -Впровадження людського гена вплазмиду мікробної клітини.

3. Функціональна активність ДНК-лігази:

- А -лізівання (розчинення, гідроліз) ДНК;
- Б-освіта фосфодієфірних зв'язків між кінцями полінуклеотидних ланцюгів;
- У -метілювання нуклеотидів;
- Г -нейтралізація ДНК;
- Д -расщеплення ДНК.

4. Для введення рекомбінантних ДНК в виробництві препаратів методом генної інженерії використовують:

- А хромосомаю;
- Б -плазмиди;
- У -рібосоми;
- Г -лізосоми;
- Д -ядро клітин.

5. Плазміда є:

- А -визначення штам кишкової палички, який використовується для біотехнологічних цілей;
- Б -кольцеобразную молекулу ДНК;
- У -ділянку ланцюга РНК, що несе інформацію про структуру гена;
- Д-вірус, що розмножується в цитоплазмі мікробної клітини;

6. Відбір трансформованих клітин, що містять рекомбінантний ДНК (гібридну плазмиду) проводять:

- А -Тестування на резистентність до різної температури;
- Б -Тестування на резистентність до певних антибіотиків;
- У -по здатності окрашуватися гематоксіліном;
- Г-по морфологічними ознаками;
- Д-по швидкості росту і розмноження.

7. Виникнення геноміки як наукової дисципліни стало можливим після ...

- А. встановлення структури ДНК
- Б. створення концепції гена
- В. диференціації регуляторних і структурних ділянок гена
- Г. повного секвенування генома у ряду організмів
- Д. підтвердження концепції про подвійної спіралі ДНК

8. Протеоміка характеризує стан мікробного патогена по ...

- А. ферментативної активності



- Б. швидкості росту
  - В. експресії окремих білків
  - Г. знаходженню на конкретній стадії росту
  - Д. метаболізму
9. Для отримання протопластів з кліток грибів використовується ..
- .А. лізоцим
  - Б. трипсин
  - В. «равликовий фермент»
  - Г. Пепсин
  - Д. солізим
10. За освітою протопластів з мікробних клітин можна стежити за допомогою методів ...
- А. віскозиметрії
  - Б. колориметрії
  - В. фазово-контрастної мікроскопії
  - Г. електронної мікроскопії
  - Д. спектрального аналізу
11. Для отримання протопластів з бактеріальних клітин використовується ...
- А. лізоцим
  - Б. «равликовий фермент»
  - В. Трипсин
  - Г. Папаин
  - Д. хімотрипсин
12. Висока стабільність протопластів досягається при зберіганні в ...
- А. холоді
  - Б. гіпертонічної середовищі
  - В. середовищі з додаванням антиоксидантів
  - Г. анаеробних умовах
  - Д. середовищі ПЕГ
13. ПЕГ, внесений в суспензію протопластів ...
- А. сприяє їх злиття
  - Б. запобігає їх злиття
  - В. підвищує стабільність суспензії
  - Г. запобігає мікробне зараження
  - Д. знижує можливість мікробного зараження
13. ПЕГ, внесений в суспензію протопластів ...
- А. сприяє їх злиття
  - Б. запобігає їх злиття
  - В. підвищує стабільність суспензії
  - Г. запобігає мікробне зараження
  - Д. знижує можливість мікробного зараження
15. Субстратами рестриктаз, які використовуються в генній інженерії, є ...

- А. гомополісахаріди
  - Б. гетерополісахаріди
  - В. нуклеїнові кислоти
  - Г. Білки
  - Д. полісахариди
16. «Ген-маркер» необхідний в генній інженерії для ..
- .А. включення вектора в клітини господаря
  - Б. відбору колоній, утворених клітинами, в які проник вектор
  - В. включення «робочого гена» в вектор
  - Г. підвищення стабільності вектора
  - Д. підвищення компетентності клітини
17. Фермент лігаза використовується в генній інженерії, оскільки ...
- А. скріплює вектор з оболонкою клітини господаря
  - Б. каталізує включення вектора в хромосому клітин господаря
  - В. каталізує ковалентне зв'язування вуглецево-фосфорної ланцюга ДНК гена з ДНК вектора
  - Г. каталізує замикання пептидних містків в пептидогліканов клітинної стінки
  - Д. забезпечує утворення водневих зв'язків
18. біотехнології «ген-маркер» необхідний для ...
- А. підвищення активності рекомбінантного
  - Б. освіти компетентних клітин господаря
  - В. модифікації місця взаємодії рестриктаз з субстратом
  - Г. відбору рекомбінантов
  - Д. підвищення стійкості рекомбінантов
19. Мета секвенування генома -встановлення ...
- А. розмірів генома
  - Б. послідовності нуклеотидів
  - В. змісту А -ТГ. співвідношення А-Т / ГЦ пар нуклеотидів
  - Д. зміни метаболізму
20. В якості основного методу протеоміки використовують ..
- .А. мікроскопію
  - Б. газожидкостную хроматографію
  - В. двомірний електрофорез
  - Г. Радіоізотопний
  - Д. Спектральний
21. Напрямок геноміки, безпосередньо пов'язане з протеомікою ...
- А. структурна
  - Б. порівняльна
  - В. Функціональна
  - Г. Формальна
  - Д. всі напрямки

22. Вкажіть, що з нижче перерахованого можна віднести до окремих етапів клітинної інженерії:

- А. отримання плазмід
- Б. отримання фагів
- В. злиття протопластів
- Г. отримання гібридом

23. Як в клітинній інженерії вирішують проблему збереження цілісності протопластів

- А. використовуючи механічний тиск
- Б. використовуючи осмотичний тиск
- В. використовуючи гіпертонічну середу
- Г. використовуючи додавання антиоксид

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

1. Медіатори імунологічних процесів. Їх функціональна сукупність. Забезпечення гомеостазу. Технологія рекомбінантних ДНК і отримання медіаторів імунологічних процесів

2. Генетична інженерія та створення за допомогою її методів продуцентів нових лікарських речовин. Основні принципи технології рекомбінантної ДНК.

3. Поняття вектора в генетичній інженерії. Векторні молекули на основі плазмидної і фагової ДНК. Хімічний синтез фрагментів ДНК. Методи секвенування (визначення послідовності нуклеотидів). Хімічний синтез гена.

4. Ферменти, використовувані в генетичній інженерії. Рестриктази. Класифікація і специфічність. Формування "липких кінців". Рестриктаза E.coli R1 і розпізнавана нею послідовність нуклеотидів. Лігази і механізм їх дії.

5. Генетическі маркери. Методи ідентифікації та ізоляції клонів з рекомбінантної ДНК.

6. Основні принципи технології рекомбінантної ДНК. Етапи. Ферменти, що використовуються в генетичній інженерії, механізм їх дії. генетичні маркери

7. Геноміка. Повний секвенування генома. Значення міжнародного проекту «Геном людини» в медико-біологічному аспекті.

8. Протеоміка. Значення для цілей фармації.

### **Теми доповідей/ рефератів**

1. Що таке ендонуклеази рестрикції типу II і чому вони так важливі для технології рекомбінантних ДНК?

2. Опишіть застосування плазмиди hBR322 як вектор. Якими особливостями вони володіють?

3. Опишіть основні переваги та недоліки використання в якості штамів продуцентів рекомбінантних білків дріжджів і бактерій.

4. Що означає процес «електропорація» і для чого її застосовують?

5. Опишіть структуру плазмід і охарактеризуйте плазмідні вектори.
6. Опишіть способи введення рекомбінантних плазмід в грамотрицательную бактерію, наприклад, *E. Coli*.
7. Яка структура бактеріофагів?
8. Привести приклади фармацевтичних субстанцій на основі рекомбінантних білків.
9. Що являє собою банк клонів і яким чином створюються банки клонів?
10. Чому часто вдаються до часткового гідролізу для створення банків клонів?

#### **IV. Підведення підсумків**

##### **Список рекомендованої літератури**

1. S. Spada. G. Walsh Directory of Approved Biopharmaceutical Products 1st Edition . – CRC Press, 2019. – 336 p.
2. С. 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. –