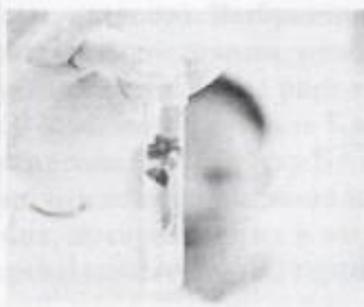
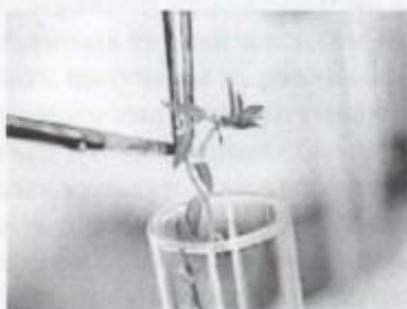


O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
SOG'LIQNI SAQLASH VAZIRLIGI
TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI
SANOAT FARMATSIYASI FAKULTETI
BIOTEHNOLOGIYA KAFEDRASI

Mustaqil ish



Bajardi: IV bosqich 3-1guruh
Latipova Mulkiya

Toshkent 2013-2014

*Manuscript:
doc. Latipova M.L.*

№1 БИОПРЕПАРАТЫ РАСТИТЕЛЬНОГО И ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ.

БИОПРЕПАРАТЫ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ



Растения - ценный источник БАВ, использующийся в фармацевтической, медицинской, пищевой и других отраслях промышленности. Однако в настоящее время запасы экономически важных лекарственных растений уменьшаются. Их плантационное выращивание зачастую нерентабельно. Решение этой проблемы было найдено в выращивании изолированных тканевых и клеточных культур, способных синтезировать широкий спектр веществ - вторичных метаболитов: алкалоидов, терпенов, гликозидов, полифенолов и др. Промышленный

способ выращивания изолированных культур дает возможность за короткий срок (30-45 сут) получать большой объем ценного лекарственного сырья. Любая из вышеназванных технологий начинается с процесса получения культуры каллусной ткани, состоящей из сообщества клеток, выращиваемых на искусственной питательной среде. Каллус (от лат. callus - толстая кожа, мозоль) - ткань, образующаяся в местах повреждения органов растения и обычно возникающая при неорганизованной пролиферации клеток растений. Используется для получения изолированных тканей и клеток растений. Изолированные культуры каллусов могут быть получены из различных органов растений (корни, побеги, листья) или из определенного типа клеток (эндосперм, пыльца). Выбранный эксплантант должен находиться в подходящем «биологическом» состоянии, необходимом для получения каллусных культур. Также изолированные культуры растительных клеток можно применять для биотрансформации. В отличие от синтеза БАВ культурой клеток растений при биотрансформации неспособная к синтезу БАВ культура с помощью локализованных в клетке ферментов, изменяя функциональные группы добавленных извне предшественников, превращает их в вещества, синтез которых нарушен. Биотрансформации подвергаются стероиды, терпеноиды, алкалоиды, кумарины. Пример, иллюстрирующий, как с помощью биотрансформации можно повысить активность вещества, - превращение дигитоксина в дигоксин клетками *Digitalis Lanata*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОГЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, В ТОМ ЧИСЛЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЦНС.



Под термином «биогенные стимуляторы» или «органные препараты» понимают лекарственные средства, содержащие некоторые или все компоненты тканей, включая как специфические клетки (например, тимуса, печени и др.), так и неспецифические соединительные и сосудистые ткани, элементы внеклеточного матрикса.

В отличие от «классических» лекарственных препаратов, содержащих одно или несколько природных или синтезированных активных веществ, органические препараты содержат

естественным образом сбалансированный «коктейль» биологически активных компонентов. Преимущество такого подхода в том, что в естественных условиях регуляция функции любой клетки, ткани, органа и системы в целом всегда осуществляется комплексом биологически активных веществ, которые действуют согласованно.

Биологические вещества, содержащиеся в органных препаратах, условно можно разделить на три группы. Первую группу составляют молекулы, включаемые в синтез собственных биополимеров клеток, своеобразные «строительные блоки», ускоряющие рост и подготавливающие деление клетки. Вторая группа представлена «питательными» веществами, дающими необходимую для этого энергию. Третья, очевидно наиболее важная, представлена управляющими информационными (сигнальными) молекулами – медиаторами. Особенность действия медиаторов в том, что они строго избирательно влияют только на те клетки, которые имеют специфические для них рецепторы, подобно тому, как ключ подходит к определенному замку. В живых организмах, в том числе и у человека, по командам, передаваемым различными медиаторами, клетки растут, передвигаются в нужном направлении, прикрепляются туда, где должны жить и трудиться, делятся и, даже, умирают, когда это необходимо.

Поэтому использование естественных тканевых комплексов является наиболее универсальным и биологически обоснованным способом регуляции функций органов и стимуляции их регенерации.

В клиническую практику в России и странах Европы внедрены большое число биогенных препаратов, полученных из тканей животных: предстательной железы (Raveron, Prostatilen, Vitaprost), эпителио-эпифизарной области мозга (Erytalaminum), плаценты (Polybiolinum, Amniocenum), крови (Actovegin, Solcoseryl, Eryhaemum, Erytrophosphatidum, Plasmolum), селезенки (Spleninum), вилочковой железы (Thymalinum, Tactivinum, Thymoptinum), костного мозга (Myelopidum), хрящей (Rumalonum), трахей (Chonsuridum), роговицы (Keracolum), стекловидного тела глаза (Corpus vitreum) и др. Их применяют прежде всего при дегенеративных и хронических заболеваниях соответствующих органов, при недостаточности их функции, в гериатрической практике. Имеются органопрепараты с комплексом различных тканей, направленные на стимуляцию определенных систем, например яичек (Testis), печени (Hepar), почек (Solidago), мозга (Cerebrum) и др.

В зависимости от уровня своей интеграции органные препараты оказывают заместительный, функциональный и регенерирующий эффект на организм. Эти воздействия могут варьировать, сочетаясь в различной степени. Эффекты введения могут быть даже разнонаправленными: одни тканевые субстанции способны стимулировать иммунитет, другие – подавлять его; одни ускоряют деление клеток, другие – подавляют. Установлено, что наиболее активно стимулируют восстановительные процессы препараты эмбриональных и фетальных тканей, поэтому их используют не только для лечения заболеваний конкретных органов, но и с целью омоложения.

Одним из перспективных путей развития данного направления является использование живых клеточных культур, которые при помещении в организм, играют роль своеобразной «биофабрики», производящей необходимые вещества. Чтобы избежать отторжения, как это бывает при пересадки органов, применяют клетки, полученные из организмов до или в момент их рождения (например, из пуповинной крови и плаценты). В настоящее время установлено, что эмбриональные и фетальные клетки не имеют на своей поверхности т.н. трансплантационных антигенов (HLA- или МНС-комплексы), имеющих у всех взрослых клеток, поэтому не вызывают иммунного ответа и не отторгаются. Более того, клетки плодов способны сами к активной иммуносупрессии иммунной системы

организмов, в которые их пересадили, подобно тому, как плод предотвращает свое отторжение, находясь внутри матери (плод содержит антигены отца и поэтому иммунологически чужероден для материнского организма). Способность фетальных белков (PP, SP, Fas-классов) к активной, но безвредной иммуносупрессии, стала основой нескольких запатентованных в России, США, Канаде, Германии способов коррекции и лечения различных заболеваний: ДЦП, задержки психо-речевого и моторного развития, последствия родовых травм, некоторых генетических заболеваний у детей, ревматизма, СКВ, диабета, иммунного бесплодия, привычного невынашивания и др.

Особенно перспективным направлением является клиническое применения живых клеток ранних стадий развития организмов - т.н. стволовых клеток. Введение недифференцированных, еще не ставших необратимо «узкими специалистами» стволовых клеток позволяет восстанавливать повреждения органов, которые у взрослых практически не способны регенерировать, например, проводящую функцию спинного мозга после его полного пересечения. Интересно, что живые донорские стволовые клетки после попадания в организм больного способны сами найти место травмы и устранить существующий дефект. В основе такого «поведения» пересаженных клеток – способность к хемотаксису, т.е. целенаправленному амебoidalному движению по градиенту определенных веществ и способность прикрепляться к клеткам-соседям. Кроме того, пересаженная фетальная клетка в благоприятном окружении способна дать самообновляющийся долгоживущий росток функциональной ткани в организме реципиента, например компоненты костного мозга. Наконец, фетальные и эмбриональные ткани, содержащие бластные популяции мезенхимальной (поддерживающей) и специализированной ткани, привносят уникальный комплекс цитокинов и ростовых факторов, которые стимулируют регенерацию пораженной ткани. В целом, использование биогенных препаратов для лечения многих, в том числе трудноизлечимых заболеваний, является актуальным направлением фундаментальной и клинической медицины.

Совершенствование методов подготовки чистых линий в культуре *in vitro*, разработка и утверждение стандартов контроля качества препаратов, решение юридических проблем, связанных с получением и применением эмбриональных и фетальных клеток в клинических целях, позволит расширить показания и ограничить противопоказания для использования данной медицинской технологии, сделать ее доступной не только для пациентов элитных клиник, но и для широкого практического здравоохранения. Приоритетным направлением следует считать внутриорганное введение тканевых препаратов с максимальным преобладанием специфических местных эффектов над неспецифическими системными. В то же время очевидна потребность и в общеукрепляющих схемах применения препаратов данной группы для поддержания качества жизни пациентов старших возрастных групп.

Одним из специализированных центров, занимающимся вопросами фундаментальных и прикладных аспектов тканевой терапии является ЗАО Институт медицинских технологий.

Целью научно-практической работы Института является повышение эффективности использования существующих тканевых препаратов и разработка новых медицинских технологий на основе их научно-обоснованной комплексной интеграции.

Одним из приоритетных прикладных направлений в работе Института на сегодняшний день является детская неврология.

Собственный опыт и анализ данных отечественных и зарубежных исследований позволил специалистам Института сформулировать показания для применения биогенных препаратов:

- последствия черепно-мозговых травм, бактериальных и вирусных нейроинфекций;
- последствия нарушения мозгового кровообращения;
- задержки психомоторного и речевого развития;
- некоторые формы генетических заболеваний, раннего детского аутизма;
- ДЦП.

Гепатопротекторы животного происхождения

Существует ещё одна разновидность гепатопротекторов. Появились они благодаря тому, что врачи решили поискать для печени человека полезные вещества не в растениях, а у животных. И этот подход сработал: лекарства, приготовленные из печени животных могут помочь при некоторых болезнях печени. Это работает потому, что печень животного содержит примерно такие же биологически активные соединения, что и человеческая. Это означает, что когда эти вещества попадут в печень человека, то они будут регулировать восстановление ткани органа, пострадавшей от чего бы то ни было (алкоголь, лекарства, яды и т. п.).

В норме печень как человека, так и животных находится в состоянии постоянной регенерации, то есть часть её ткани постоянно гибнет и восстанавливается, — вспомните, что мы говорили о необычайной интенсивности метаболизма в этом органе. Уникальная способность печени к регенерации может пойти ей же во вред, что происходит, например, при развитии цирроза печени. Но с другой стороны это же означает, что печень здорового животного, взятая для приготовления экстракта, будет в том или ином количестве содержать стимуляторы регенерации, которые будут срабатывать при необходимости усиленного восстановления органа у человека.

С теоретической точки зрения, препараты такого рода, помимо стимуляции регенерации, должны оказывать также желчегонное, антиоксидантное и дезинтоксикационное действие, в связи с этим теоретически ими можно лечить хронические гепатиты и циррозы печени, токсические (в том числе алкогольные) и лекарственные поражения гепатоцитов. Однако на сегодняшний день каких-либо доказательных исследований, подтверждающих их клиническую эффективность, не проводилось.

К сожалению, теория и практика показывает, что такой смелый подход может обернуться и против пациента. Гепатопротекторы животного происхождения могут нанести серьёзный вред. Рассмотрим почему:

Во-первых, у пациентов с активными формами гепатита применение препаратов животного происхождения может привести к нарастанию явлений цитолитического (распада клеток), воспалительного и иммунопатологического синдромов (то есть когда иммунитет организма бьёт по своим же органам). Это связано с тем, что помимо факторов роста, печень содержит и активные вещества, усиливающие иммунные реакции, а значит, и повреждающее действие аутоиммунных процессов. Также присутствие иммуноактивных факторов приводит к повышению вероятности аллергии, а значит, до начала лечения обязательно следует проводить определение чувствительности пациента к препарату животного происхождения.

Кроме того, применение препаратов на основе печени крупного рогатого скота (гидролизатов печени) резко повышает вероятность заражения пациента прионовыми инфекциями, вызывающими смертельные нейродегенеративные заболевания. Например, все слышали о спонгиозной энцефалопатии

(пресловутом «коровьем бешенстве»). Этой инфекцией за последние 20 лет заболело более 280 тысяч голов крупного рогатого скота, что чуть не спровоцировало мировой пищевой кризис. За это же время было выявлено более 150 доказанных случаев новой разновидности болезни, возникших вследствие ятрогенного (вызванного врачами) заражения прионами.

Источник: <http://pohmelje.ru/gepatoprotektory-zhivotnogo-proishozhdenia/>

Рассмотрим пару известных представителей этой группы

гепатопротекторов: Гепатопротектор сирепар

Стимулятор регенерации.

Сирепар представляет собой гидролизат экстракта печени со стандартизированным количеством витамина В12 (цианокобаламина). Витамин В12 является коферментом фермента, отвечающим за быстрый перенос метильных (-СН3) групп. А это требуется во всех случаях интенсивного деления клеток. Таким образом, присутствие этого компонента в препарате обеспечивает действие ещё одного фактора регенерации.

Препарат применяется при гепатитах (хронических и подострых), циррозе печени, жировой дистрофии печени, алкогольных и лекарственных поражениях печени.

Препарат выпускается во флаконах для внутривенного введения, причём для введения его следует разводить физиологическим раствором (слабый раствор обычной соли) или кровью. Продолжительность лечения сирепаром — до полутора месяцев. Мы не рекомендуем этот препарат для самостоятельного применения. Гепатопротектор гепадиф

Стимулятор регенерации, желчегонное, липотропное.

Гепадиф, помимо фракции экстракта печени, также содержит оротат карнитина, пиридоксина гидрохлорид (витамин В6), цианокобаламин, аденина гидрохлорида, рибофлавина (витамин В2).

Карнитин способствует расщеплению длинноцепочечных жирных кислот и замещению жирнокислотного метаболического шунта углеводным, улучшает усвоение еды. Оротат действует как нестероидный анаболик, то есть стимулирует в организме синтез веществ. Действие пиридоксина описывалось ранее. Аденин — нуклеотид (азотистое основание), входящий в состав ДНК, и тем самым оказывающий стимулирующее действие на синтез белка. Биологическая роль рибофлавина определяется входением его производных (флавимононуклеотида и флавинаденидинуклеотида) в состав большого числа важнейших окислительно-восстановительных ферментов в качестве коферментов.

Препаратом можно лечить хронический гепатит, цирроз, жировую дистрофию печени, алкогольное поражение печени, интоксикацию вследствие длительного приёма токсичных лекарств препаратов.

Для лечения препарат принимают по 2 капсулы 2-3 раза в сутки, независимо от приёма еды. Продолжительность лечения — 3-4 недели. В процессе лечения могут развиваться боль в животе, аллергические реакции, рвота, понос. При появлении таких признаков лечение гепадифом следует прекратить. Для профилактики болезней печени, вызываемых выпивкой, гепадиф не подходит.

Вся информация на этом сайте предоставлена или проверена экспертом, врачом-токсикологом, к. м. н. Станиславом Радченко

Другие средства:

Урсодезоксихолевая кислота

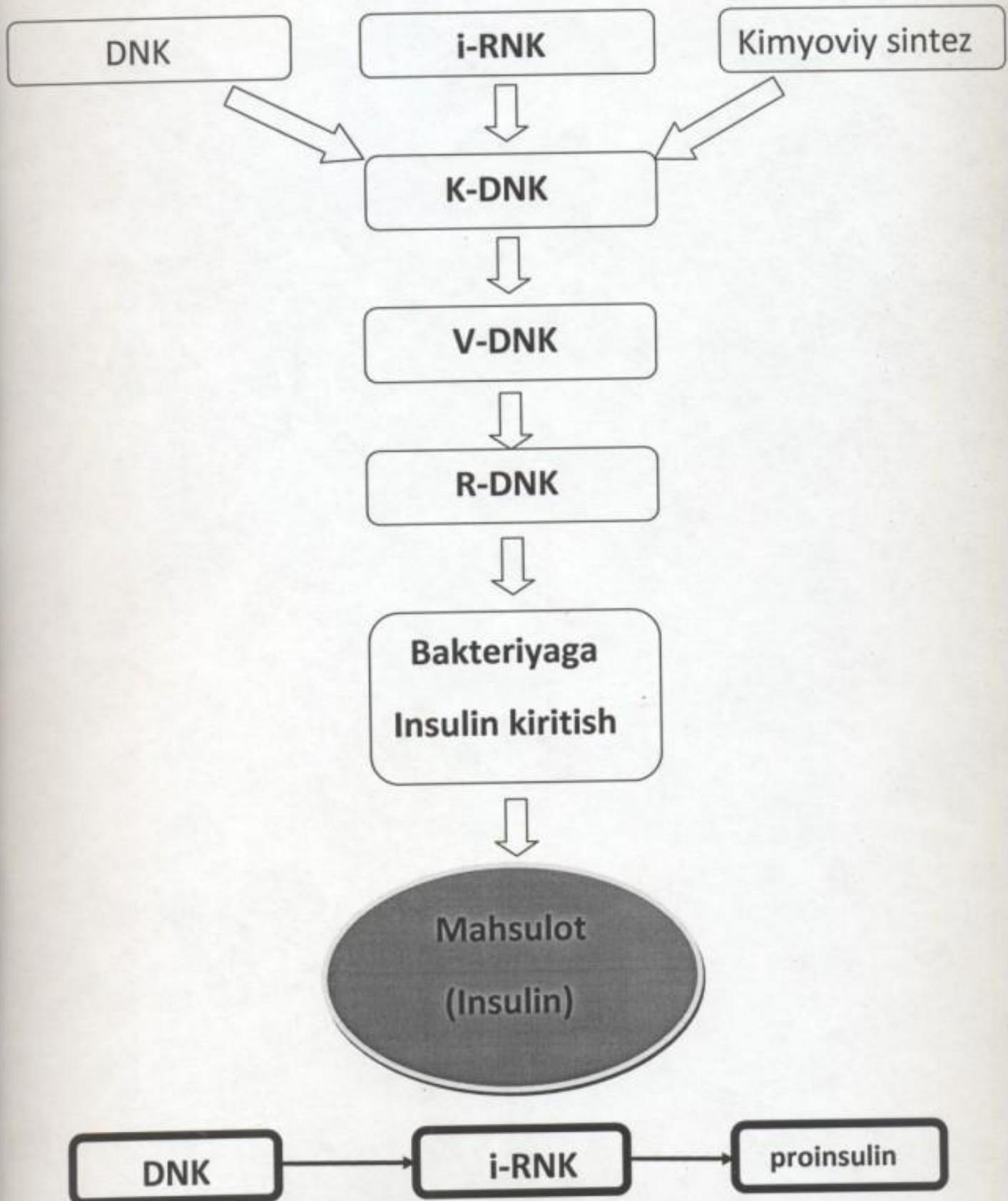
Гепатопротекторы на основе расторопши

Гепатопротектор Liv-52 (Лив-52)

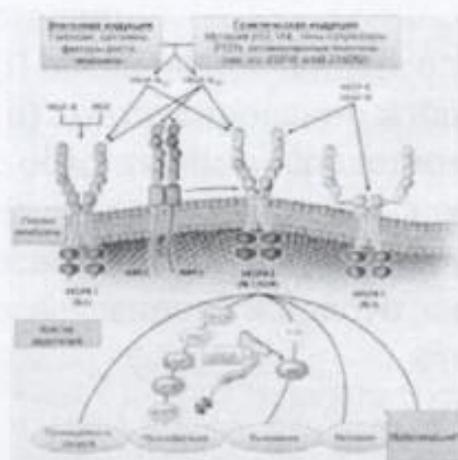
Гепатопротекторы, содержащие эссенциальные фосфолипиды

Гепатопротекторы разных групп Быстрые ссылки

GENETIK YO`L BILAN INSULIN OLISH



№2 Способ получения фосфолипазы d



Изобретение относится к пищевой промышленности. Способ получения фосфолипазы D из моркови предусматривает обеспечение жидкого экстракта моркови и его контактирование с осветляющим средством. Осветляющее средство включает ионы одного или нескольких металлов. Стадию осветления проводят при pH от 7 до 9. Полученная суспензия включает осветленный жидкий экстракт

и осадок. Осветленный жидкий экстракт отделяют и объединяют с осаждающим средством. Осаждающее средство включает, по меньшей мере, одно поверхностно-активное вещество в смеси с фосфолипидами и необязательно с моно-, ди- или триглицеридами. Полученная суспензия содержит супернатант и осадок. Осадок отделяют и собирают как целевой продукт. Изобретение позволяет получить из моркови фосфолипазу D с высокой степенью чистоты. Настоящее изобретение имеет отношение к способу получения фосфолипазы D. В частности, изобретение имеет отношение к способу получения фосфолипазы D из овощей или орехов. Фосфолипазу D из растений и микроорганизмов применяют в качестве биокатализатора для превращения фосфолипидов в жирные кислоты и другие гидрофобные вещества. В частности, фосфолипаза D способна как трансфосфатидилировать, так и гидролизовать разнообразные фосфолипиды.

Трансфосфатидилирование особенно полезно для превращения фосфатидилхолина в другие фосфолипиды.

Способы выделения фосфолипазы D из растений и микроорганизмов известны. Например, в работе Sharma et al, (2000), Bioseparation., vol.9, pages 93-98 была раскрыта очистка фосфолипазы D из арахиса путем осаждения с альгинатом. Очистка состояла из соосаждения фосфолипазы D с альгинатом при добавлении 0,06 М Ca^{2+} . Фермент элюировали из полимера, применяя 0,2 М хлорид натрия.

Однако сохраняется необходимость в способе получения фосфолипазы D из овощей или орехов, который мог бы быть проведен экономно и эффективно.

В соответствии с изобретением, представляется способ получения фосфолипазы D из овощей или орехов, включающий следующие стадии:

- (i) обеспечение жидкого экстракта овощей или орехов;
- (ii) контактирование жидкого экстракта, полученного на стадии (i), с осветляющим средством, включающим ионы одного или нескольких металлов, для получения суспензии, включающей осветленный жидкий экстракт и осадок, и отделение и сбор осветленного жидкого экстракта из полученной суспензии, причем стадию (ii) проводят при pH от 7 до 9;
- (iii) объединение жидкого экстракта с осаждающим средством, включающим фосфолипиды, моно-, ди- или триглицериды или их смесь, с добавлением, по меньшей мере, одного поверхностно-активного вещества, для получения суспензии, включающей супернатант и осадок;
- и (iv) отделение и сбор осадка из суспензии, полученной на стадии (iii).



Также изобретение обеспечивает

применение фосфолипазы D, полученной с помощью способа изобретения, при получении фосфолипидов.

Любые овощи или орехи, которые содержат фосфолипазу D, могут быть использованы для получения жидкого экстракта, используемого в настоящем изобретении. Предпочтительно, жидкий экстракт овощей или орехов получали из проростков пшеницы или подсолнечника, моркови, капусты или арахиса. Особенно предпочтительными были экстракты из моркови. Жидкий экстракт, используемый в настоящем изобретении, был предпочтительно предоставлен в форме сока, живицы или похожих жидких препаратов. Жидкий экстракт может быть не полностью жидким и может включать некоторое количество твердых частиц. Обычно овощи или орехи охлаждают до температуры ниже комнатной температуры (т.е. ниже 25°C), например при температуре от 1 до 10°C или от 2 до 7°C, промывают и измельчают. Сок или живицу затем экстрагировали из измельченных препаратов с помощью способов известных в этой области техники, например, применяя бытовую или промышленную соковыжималку. В некоторых случаях часть

исходного количества фосфолипазы D в источнике, представляющем собой овощи или орехи, может быть потеряна с твердыми отходами после первоначального извлечения сока или живицы. Необязательно, дополнительная фосфолипаза D может быть экстрагирована из этих твердых отходов путем добавления воды и повторного отжима через соковыжималку. Специалистом в этой области техники будет оценено по достоинству то, что жидкие экстракты, полученные на каждой из описанных выше стадий экстракции, могут быть объединены для получения жидкого экстракта для использования на стадии (i).

Предпочтительно, способ получения жидкого экстракта для использования на стадии (i), такой как был описан выше, осуществляли при температуре ниже комнатной температуры (т.е. ниже 25°C), например, при температуре примерно от 1 до 10°C или от 2 до 7°C . Полученный в результате супернатант собирали и, если его предполагалось хранить, то его предпочтительно замораживали в жидком азоте и хранили при приблизительно -70°C .

Для контроля эффективности описанных выше способов экстракции и для того, чтобы убедиться в том, что из овощей или орехов было экстрагировано необходимое количество фосфолипазы D, может быть использован наиболее распространенный способ определения активности фосфолипазы D.

Применяя описанный выше способ экстракции, можно получить высокий выход экстракта из овощей или орехов. Например, из 1 кг сырой моркови может быть экстрагировано от 0,6 до 0,67 литров жидкого экстракта.

Следует понимать, что жидкий экстракт, полученный с помощью описанного выше способа экстракции, может содержать осадок.

Например, неочищенные экстракты моркови могут содержать плавающий липид, насыщенный каротином. Следовательно, жидкий экстракт подвергают очистке перед стадией (iii) для получения осветленного жидкого экстракта. Предпочтительно, следовательно, чтобы жидкий экстракт находился в форме осветленного жидкого экстракта.

Очистка обычно включает контакт жидкого экстракта с осветляющим средством, включающим один или несколько ионов металла, для получения суспензии, включающей осветленный жидкий экстракт и осадок. Полученный осветленный жидкий экстракт затем отделяли и отбирали из суспензии.



Таким образом, способ изобретения включает следующие стадии перед стадией (iii):

- a) инкубация жидкого экстракта, полученного на стадии (i), с осветляющим средством, включающим один или несколько ионов металлов, для получения суспензии, включающей осветленный жидкий экстракт и осадок; и
- b) отделение и отбор осветленного жидкого

экстракта из суспензии, полученной на стадии (a).

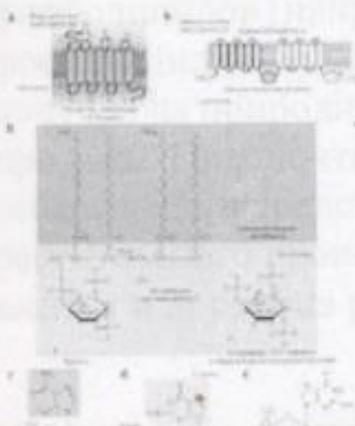
Обычно, один или несколько ионов металлов в осветляющем средстве представляют собой моно- или двухвалентные ионы, например ионы кальция, натрия, калия, магния и их смеси.

Например, может быть использована соль галогенида подходящего иона металла, такого, как был описан выше. Двухвалентные ионы кальция представляют собой предпочтительные ионы, представленные обычно в форме хлорида кальция.

Концентрация одного или нескольких ионов металлов на стадии (a) предпочтительно составляет от 20 до 60 мМ, например от 30 до 50 мМ или от 35 до 45 мМ.

Инкубацию на стадии (a) жидкого экстракта, полученного на стадии (i), с осветляющим средством предпочтительно проводили при температуре ниже комнатной температуры, т.е. ниже 25°C, например при температуре примерно от 1 и 20°C, более предпочтительно от 1 до 15°C, например от 2 до 10°C или от 2 до 7°C. Во время инкубации смесь тщательно перемешивали (например, с помощью механического перемешивания).

Предпочтительно, стадию (a) проводили при значении pH примерно от 4 до 9. Наиболее предпочтительно, величина pH была выше 7, например примерно от 7 до 9 или от 7 до 8. Желаемую величину pH можно было получить с помощью способов, известных в этой области техники, например путем добавления любого подходящего основания, такого как гидроксид натрия или гидроксид аммония.



В предпочтительном воплощении стадии (a), после инкубации жидкого экстракта, полученного на стадии (i), с осветляющим средством, pH довели до желаемого значения, температуру смеси предпочтительно снижали приблизительно

до 0°C и смесь оставляли в течение достаточного времени (например, примерно 20 минут) для образования осадка.

Осветленный жидкий экстракт, полученный на стадии (а), может быть отделен от осадка с помощью известных в этой области техники способов, например с помощью центрифугирования и/или фильтрования. Например, на стадии (b) суспензия может быть отфильтрована, и фильтрат центрифугировали при приблизительно 9000 г_г в течение примерно 15 минут.

На протяжении стадии (b) температуру предпочтительно поддерживали ниже комнатной температуры, например при температуре примерно от 1 до 20°C, более предпочтительно от 1 до 15°C, такую как от 2 до 10°C или от 2 до 7°C.

Обычно стадии (а) и (b) приводили к незначительному снижению количества фосфолипазы D в жидком экстракте. Например, очистка может приводить к менее чем 10%-ному по массе снижению количества фосфолипазы D в осветленном жидком экстракте по сравнению с неосветленным жидким экстрактом.

Осаждающее средство, используемое в способе изобретения, было предпочтительно в форме водной эмульсии. Предпочтительно, осаждающее средство включало фосфолипиды. Фосфолипиды могли быть синтетическими или могли быть получены из природных источников. Типичные примеры фосфолипидов, которые могут присутствовать во втором осаждающем средстве, включают фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозитол, фосфатидилглицерол, сфингомиелин и их смеси. Предпочтительным фосфолипидом был фосфатидилхолин. Осаждающее средство, примененное в изобретении, может быть получено из веществ, существующих в природе, полученных из животных и растительных источников, таких как лецитин, цефалин и сфингомиелин. Предпочтительно осаждающее средство было получено из лецитина.

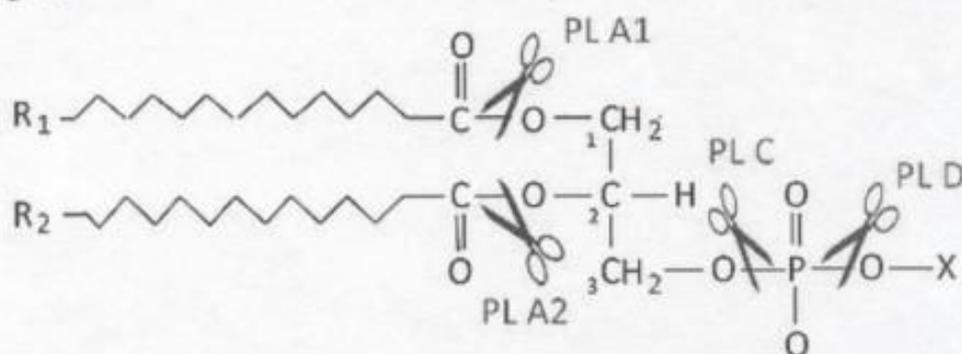
Лецитин содержит смесь гликолипидов, триглицеридов и фосфолипидов (например, фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина и фосфатидилинозитола) и может быть получен из природных источников или может быть синтетической природы. Предпочтительно, лецитин для применения в получении осаждающего средства получали из источников животного или растительного происхождения, таких как соевые бобы, яичный желток или семена рапса, применяя общепринятые способы

получения. Подходящий коммерчески доступный препарат лецитина включает, например, Membranol-35.

Предпочтительно, содержание фосфолипидов лецитина для применения в получении осаждающего средства было больше чем 15% по массе, более предпочтительно больше чем 25% по массе, например больше чем 30% по массе или больше чем 50% по массе.

В предпочтительном воплощении количество по массе фосфолипидов в осаждающем средстве составляло от 0,1 до 7% по массе, например от 0,5 до 4% по массе, более предпочтительно от 0,8 до 3% по массе или от 0,8 до 2% по массе. Количество фосфолипидов на стадии (iii), рассчитанное на общий реакционный объем, составляло примерно от 0,05 до 1% по массе, более предпочтительно от 0,1 до 0,5% по массе, например от 0,1 до 0,3% по массе.

Содержание фосфатидилхолина по отношению к массе фосфолипидов, присутствовавших в осаждающем средстве, предпочтительно было больше, чем 15% по массе. Например, содержание фосфатидилхолина могло изменяться в пределах от 20 до 100% по массе, например от 20 до 80% по массе, от 25 до 60% по массе, или от 25 до 40% по массе фосфолипидов в осаждающем средстве.



Необязательно, осаждающее средство дополнительно включает один или несколько ионов металлов. Один или несколько ионов металлов предпочтительно были моно- или двухвалентными ионами, например ионами натрия, калия, кальция, магния и их смесями. Например, осаждающее средство может включать водный раствор соли галогенида подходящего иона металла.

Двухвалентные ионы кальция представляют собой предпочтительные ионы, которые обычно были представлены в форме хлорида кальция.

Формула изобретения

1. Способ получения фосфолипазы D из моркови, включающий следующие стадии:

(i) обеспечение жидкого экстракта моркови;

(ii) контактирование жидкого экстракта, полученного на стадии (i), с осветляющим средством, включающим ионы одного или нескольких металлов, для получения суспензии, включающей осветленный жидкий экстракт и осадок, и отделение и сбор осветленного жидкого экстракта из полученной суспензии, причем стадию (ii) проводят при рН от 7 до 9;

(iii) объединение осветленного жидкого экстракта из (ii) с осаждающим средством, включающим, по меньшей мере, одно поверхностно-активное вещество в смеси с фосфолипидами и необязательно с моно-, ди- или триглицеридами или их смесью для получения суспензии, содержащей супернатант и осадок;

(iv) отделение и сбор осадка из суспензии, полученной в (iii).

2. Способ по п.1, где осаждающее средство находится в виде водной эмульсии.

3. Способ по п.1, где осаждающее средство получают из лецитина.

4. Способ по п.1, где осаждающее средство из (iii) дополнительно включает ионы одного или нескольких металлов.

5. Способ по п.1, где поверхностно-активное вещество представляет собой анионное поверхностно-активное вещество.

6. Способ по п.5, в котором поверхностно-активное вещество выбирают из соли холевой кислоты, додецилсульфата натрия и их смесей.

7. Способ по п.6, в котором соль холевой кислоты представляет собой холат натрия.

8. Способ по п.1, в котором ионы одного или нескольких металлов представляют собой двухвалентные ионы кальция.

9. Способ по п.8, в котором двухвалентные ионы кальция представлены в форме хлорида кальция.

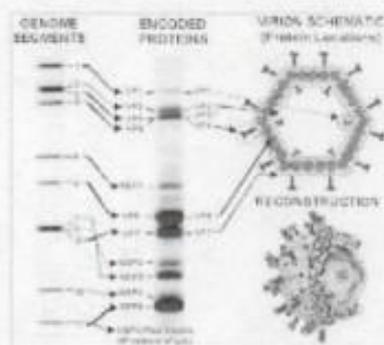
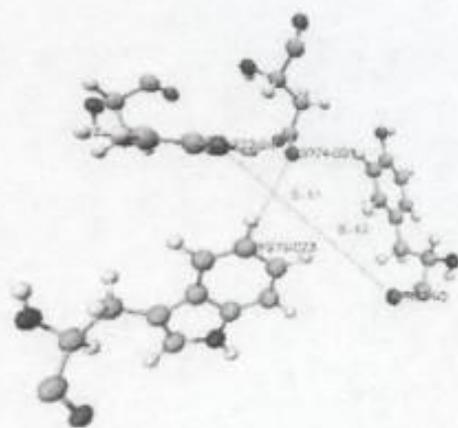
10. Способ по п.1, в котором стадию (iii) проводили при рН от 7 до 9.

11. Способ по п.1, в котором стадию (iii) осуществляют при температуре ниже 25°C, предпочтительно при температуре от 0 до 15°C.

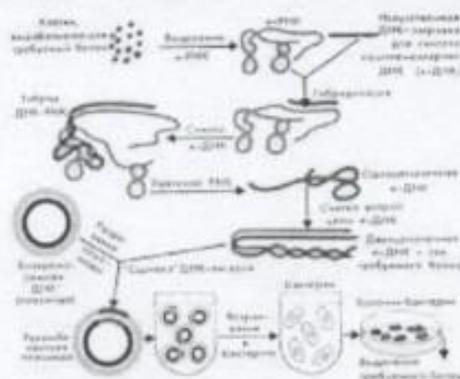
12. Способ по п.1, в котором собранный осадок сушат.

13. Способ по п.1, в котором количество поверхностно-активного вещества находится в диапазоне от 0,05 до 3% по массе.

14. Способ по п.3, в котором лецитин получают из животных и растительных источников.



№3 РЕКОМБИНАНТНЫЕ БЕЛКИ.

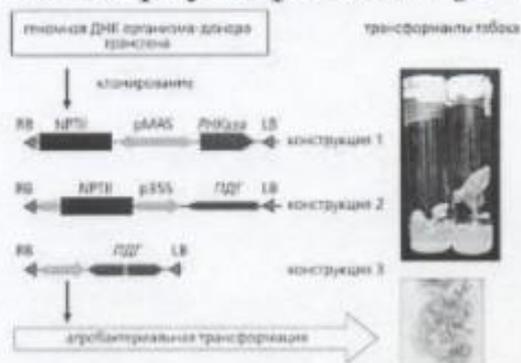


За последнее десятилетие значительно возрос интерес к трансгенным растениям как биопродуктам различных белков медицинского назначения. При получении рекомбинантных белков актуальным остается вопрос поиска

высокоэффективных и экономически выгодных систем экспрессии для их наработки. В настоящее время для наработки рекомбинантных терапевтических белков, субъединичных вакцин и рекомбинантных моноклональных антител используются бактерии, дрожжи, а также культуры клеток насекомых и млекопитающих. Каждая из этих систем имеет свои преимущества, однако эти системы не лишены и недостатков, связанных с посттрансляционными модификациями рекомбинантных белков, продолжительностью наработки продукта, ограниченным пролиферативным потенциалом, высокой стоимостью компонентов для поддержания культуры и т.д.

Новые перспективы получения рекомбинантных фармацевтических белков открываются с использованием генетически модифицированных растений. По оценкам зарубежных экспертов, трансгенные растения могли быть более дешевым и безопасным источником рекомбинантных белков по сравнению с традиционными системами экспрессии. Привлекательность растений в качестве систем экспрессии для накопления рекомбинантных фармацевтически ценных белков обеспечивается многими обстоятельствами. Прежде всего, в растительных тканях нет риска загрязнения рекомбинантного белка патогенами животного происхождения – вирусами и прионами. Растительные клетки обеспечивают правильную

посттрансляционную модификацию рекомбинантного белка, характерную для эукариотических клеток, а также его сборку и фолдинг [6–7].



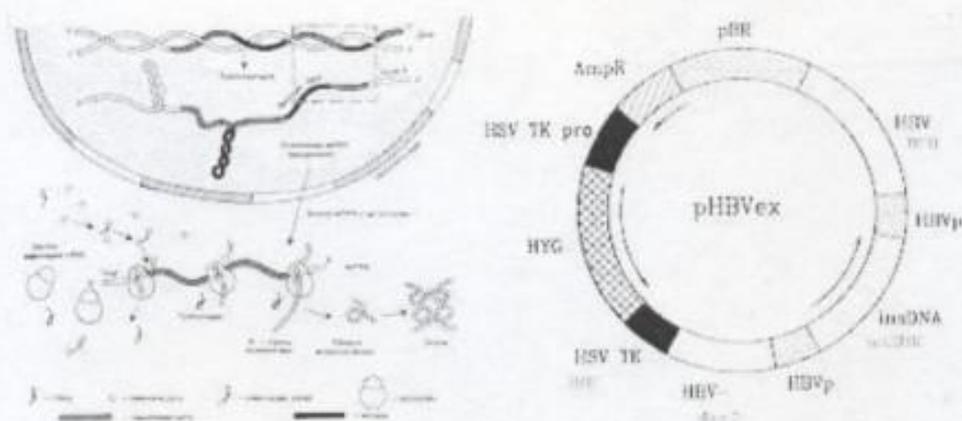
Экспрессированные в растительных клетках рекомбинантные белки могут быть направлены в различные компартменты растительной клетки (вакуоли или люмены эндоплазматического

ретикулума), а также в апопласт и различные органы растения (семена, клубни, плоды и т.д.). В растительных тканях рекомбинантные белки могут длительное время (месяцы и годы) сохраняться без каких-либо изменений и снижения биологической активности [8–11].

Новые методы агробактериального возделывания хозяйственно важных видов растений, а также системы семеноводства для той или иной культуры делают растения привлекательными для использования в качестве биофабрик белков медицинского назначения.

Не подвергаясь термообработке, растения могут использоваться в качестве готового продукта для профилактики и лечения заболеваний. Растения, в тканях которых синтезируются и накапливаются рекомбинантные бактериальные антигены, привлекательны для использования в качестве вакцин и получили специальное название – *съедобные вакцины* [12–17]. Более того, трансгенные растения представляют удобные модели для разработки новых альтернативных способов доставки (перорально и интраназально) рекомбинантных белков в организмы теплокровных.

Перспективные системы экспрессии для наработки рекомбинантных белков.



К настоящему времени разработаны технологии получения генетически модифицированных (трансгенных) растений, в геном которых перенесены гены, кодирующие различные белки для медицинских целей, в том числе и белки человека. Такие технологии основаны на прямом или векторном переносе целевых генов в ядерный геном растения. К настоящему времени получены десятки видов трансгенных растений, в геном которых перенесены гены антигенов различных возбудителей инфекционных заболеваний, разнообразных терапевтических белков, моноклонных антител [8; 13–14]. Однако относительно невысокий уровень накопления целевых белков (менее 1% от общего растворимого белка – ОРБ) в тканях генетически модифицированных растений послужил отправной точкой для разработки новых систем экспрессии.

В качестве одной из таких альтернативных систем экспрессии рассматриваются *внеядерные геномы (пластомы) хлоропластов* растений. Получение транспластомных растений, т.е. растений, в хлоропластный геном которых будут перенесены чужеродные гены, сулит множество преимуществ по сравнению с ядерными трансформантами. Это высокая экспрессия перенесенных генов, возможность полицистронного регулирования, экологическая безопасность, связанная с отсутствием чужеродных генов в пыльце, отсутствие вариабельности по экспрессии целевых генов, а также и отсутствие эффекта умолкания трансгенов у транспластомных растений. Однако

необходимо подчеркнуть, что эти преимущества нивелируются большими проблемами, с которыми сталкиваются исследователи при попытках перенести гены в пласты растений.



Мощным толчком к развитию технологии получения рекомбинантных белков на основе хлоропластного генома послужило сообщение о создании транспластомных растений табака с выходом целевого белка (Cry2Aa2-белок из *Bacillus thuringiensis*) на уровне 46,1% ОРБ [18]. На основе хлоропластных геномов в настоящее время интенсивно развиваются технологии создания транспластомных растений для многих видов – сои [19], хлопка [20], салата [21] и др. Всего к настоящему времени получено 15 видов транспластомных растений, у которых уровень накопления гетерологичных белков составил от 6% для интерферона-гамма и 19% для интерферона-альфа человека до 33% для инсулиноподобного фактора роста (IGF-1) человека.

Среди других альтернативных систем экспрессии гетерологичных белков для фармакологии следует назвать ряску, мох, некоторые виды водорослей, а также клетки генетически модифицированных растений, культивируемые в суспензионной культуре.

Ряска (*Letna gibba* – ряска горбатая и *L. minor* – ряска малая) – многолетнее

растение, среда обитания которого – поверхности стоячих пресных вод. Ряска относится к цветковым растениям, но ее тело редуцировано и

представлено листовой пластинкой и корнем. Ряска является представителем однодольных покрытосеменных

растений, и для переноса в ее геном чужеродных гетерологичных генов могут быть использованы системы агробактериальной трансформации и методы биобаллистики.

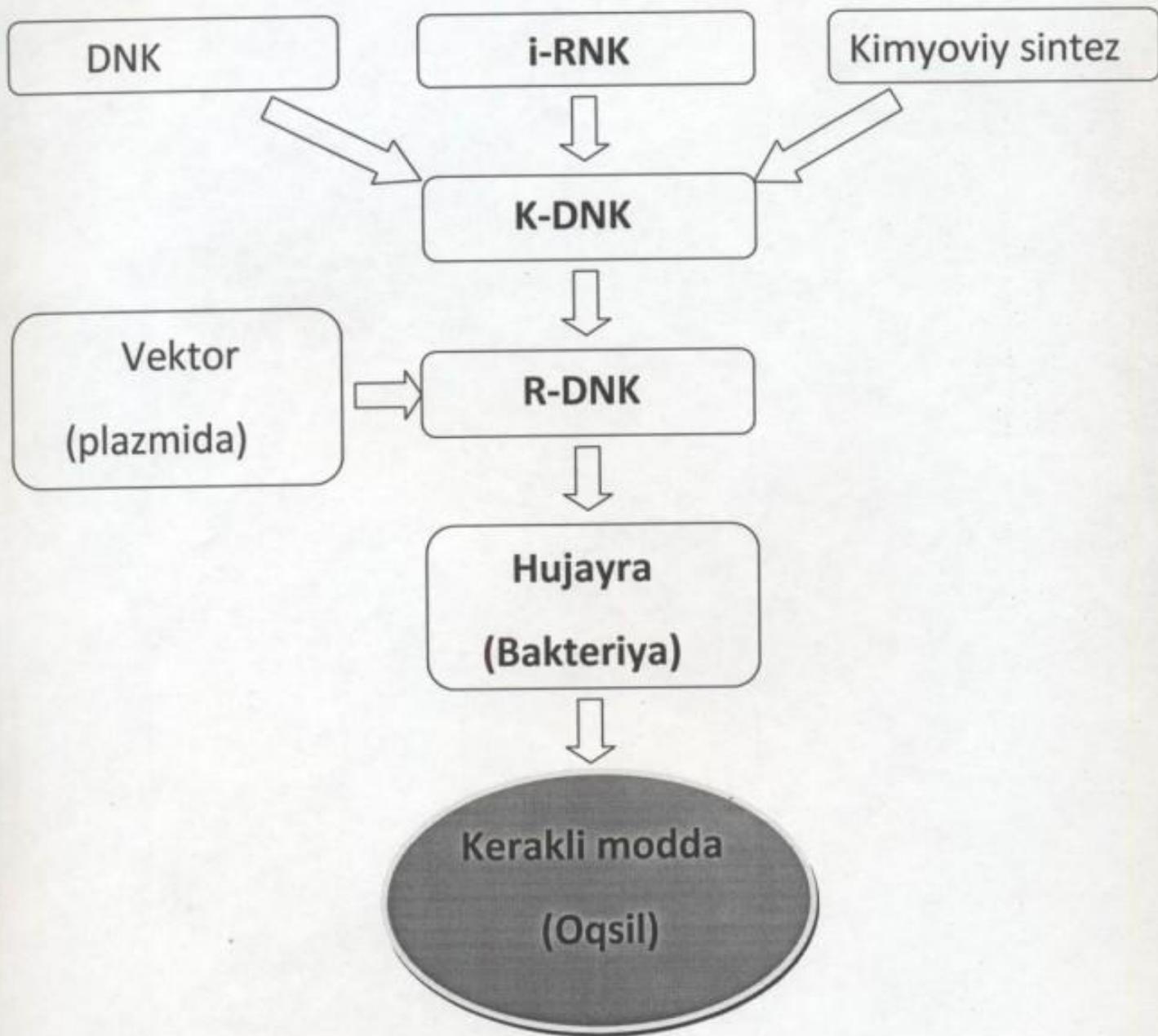
Ряска привлекает внимание исследователей как потенциальная высокоэффективная система экспрессии гетерологичных белков благодаря своей способности к быстрому накоплению биомассы, которая способна удваиваться в течение 24–48 ч. Генетически модифицированная ряска как потенциальный продуцент фармакологических белков может быть использована для употребления непосредственно в сыром виде или в виде высушенного продукта. При наличии в генетической конструкции соответствующих сигнальных последовательностей рекомбинантный белок может быть секретирован в культуральную среду [22]. Необходимо отметить, что моноклональные антитела человека, синтезированные в тканях ряски, проявляли более высокую активность при связывании с соответствующими рецепторами по сравнению с их гомологами, синтезированными в клетках СНО-линии клеток яичников китайских хомяков [23]. Близки к завершению работы по секвенированию хлоропластного генома ряски.



Зеленый мох (*Physcomitrella patens*) – единственный представитель мохообразных, геном которого полностью секвенирован [24]. Разработана методика трансформации *P. patens* [25]. Первым успешным примером использования этого вида мха в качестве системы экспрессии рекомбинантных белков является получение рекомбинантного человеческого эритропоэтина [26]. Фирма «Grenovation» (Германия) разрабатывает технологию наработки биофармацевтических белков на основе *P. patens* в клеточной суспензионной культуре с применением биореакторов.

Привлекательность этого вида мхов в качестве системы экспрессии рекомбинантных белков состоит в том, что по сравнению с растениями фрагменты экзогенных ДНК могут быть интегрированы в его геном по механизму гомологичной рекомбинации, что исключает возможное инактивирование в дальнейшем экспрессии перенесенных генов (трансгенов). *P. patens* рассматривается как перспективный кандидат на «молекулярное фермерство», поскольку в этой системе экспрессии белки эукариотического происхождения претерпевают посттрансляционную модификацию (гликозилирование, образование дисульфидных связей и т.д.). Если проводить сравнение белкового продукта, синтезируемого в клетках животных и в клетках *P. patens*, то последние имеют очевидное преимущество, поскольку отпадает проблема заражения культуры патогенами животного происхождения. Привлекательной стороной *P. patens* является еще и то, что его можно поддерживать в виде суспензионной культуры в контролируемых условиях

GENETIK YO`L BILAN OQSILNI OLISH



№4 ГИДРОЛИЗАТЫ СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ.



Гидролизат — продукт, полученный в процессе гидролиза. «Гидролиз» в буквальном переводе с латыни — это процесс расщепления какого-нибудь вещества при помощи воды, но на самом деле не воды, а кислоты или щелочи (есть гидролизаты щелочные и есть кислотные).

Обычно расщепляют химические связи белков и полисахаридов. Например, расщепляя белок (все равно — растительного или животного происхождения), получают

аминокислотные гидролизаты, включающие помимо кислот, входящих в состав данного конкретного белка (молочного, соевого, яичного и х.д.), еще пептиды и другие компоненты.

Белок подвергают гидролизу, чтобы он лучше усваивался. Например, получая с пищей белок коллаген (в том числе в желатине), мы его не усваиваем. Коллаген, однако, очень важен: это основной белок, обеспечивающий прочность и эластичность хрящей, стенок сосудов и связывающих тканей. В нем содержатся аминокислоты оксипролин и оксилизин, которые являются неизменными участниками метаболизма мышечной и соединительной ткани. Если подвергнуть сильному гидролизу белок животного происхождения, то мы «добудем» из него эти важные аминокислоты в том виде, в котором сможем их усвоить.

Гидролизаты коллагена часто входят в состав спортивных БАД.
ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ БЕЛКОВ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

Белки, содержащиеся в молочной сыворотке и концентратах сывороточных белков, обладают ценными биологическими свойствами. Наибольшее практическое

значение имеют β -лактоглобулин и α -лактоальбумин, доля которых в сывороточных белках составляет 70-80 %. Аминокислотный состав этих белков наиболее близок к аминокислотному составу мышечной ткани человека, а по содержанию незаменимых аминокислот (лизина, триптофана, метионина, треонина) и аминокислот с разветвленной цепью (валина, лейцина и изолейцина) они превосходят все остальные белки животного и растительного

происхождения [4].

Из литературных данных известно, что сывороточный белок β -лактоглобулин, содержащийся в коровьем молоке, обладает ярко выраженными антигенными свойствами. В целях снижения антигенных свойств молочное сырье можно подвергнуть тепловой обработке. Однако длительное нагревание уменьшает питательную ценность молока и может привести к снижению растворимости и слабой перевариваемости продукта. Наиболее эффективным способом уменьшения аллергенности белков молочной сыворотки считают проведение гидролиза, в



результате которого образуются белковые гидролизаты - продукты с высоким содержанием свободных аминокислот и низкомолекулярных полипептидов [3]. Гидролиз сывороточных белков может быть осуществлен при действии химических агентов (щелочь, кислота) или ферментных препаратов. Однако наибольший интерес вызывает именно ферментативный гидролиз, позволяющий получить гидролизаты с заданными свойствами. Преимуществом ферментативного гидролиза сывороточных белков является высокая скорость при относительно мягких условиях: атмосферном давлении и температуре не выше 70 °С (как правило, 37-50 °С). Поэтому в результате ферментативного гидролиза практически не происходит разрушения аминокислот и снижения биологической ценности конечного продукта. Особенностью действия протеолитических ферментов является их специфичность по отношению к типу пептидной связи, что позволяет получать гидролизаты с различной степенью гидролиза белка [1, 2]. В зависимости от содержания аминокислот, молекулярной массы полипептидной фракции, наличия ди-, три- и олигопептидов может быть определена область наиболее эффективного использования гидролизатов. Гидролизаты сывороточных белков добавляют в кондитерскую и хлебобулочную продукцию, продукты мясного производства; они входят в состав напитков для спортсменов и заменителей женского молока благодаря высокой пищевой ценности, отсутствию горького вкуса и низким антигенным свойствам [5].

Целью данной работы являлось исследование процесса ферментативного гидролиза белков молочной сыворотки различными протеолитическими препаратами и выбор оптимальных условий для получения ферментативных гидролизатов с высоким содержанием низкомолекулярных пептидов и аминокислот.

Материалы и методы исследования

Объектом исследований являлась фракция сывороточных белков, полученная после выделения из молочной сыворотки минорных компонентов лактоферрина, лактопероксидазы и иммуноглобулинов. Ее основные характеристики следующие: плотность - 1005 г/л, содержание сухих веществ - 5,1 %, из них белков - 7,1 г/л, углеводов - 35,9 г/л. Ультрафильтрацию проводили в лабораторной ультрафильтрационной ячейке с использованием полисульфонамидных мембран. В качестве ферментных препаратов были использованы трипсин (4040 ± 120 ед/г), химотрипсин (4960 ± 150 ед/г), химопсин (5250 ± 160 ед/г) производства «Самсон-Мед» (Россия) и панкреатин медицинский (5310 ± 160 ед/г) производства Pangeas (Италия). Общую протеолитическую активность ферментов определяли модифицированным методом Ансона с использованием в качестве субстрата казеината натрия. При построении калибровочного графика использовали стандартные растворы тирозина.

Концентрацию белковых веществ определяли методом Лоури. Для построения калибровочной кривой использовали стандартные растворы казеина. Содержание низкомолекулярных пептидов определяли модифицированным методом Лоури с предварительным осаждением белков и высокомолекулярных пептидов трихлоруксусной кислотой.

Содержание аминного азота в растворе определяли методом формольного титрования.

Определение молекулярной массы белка определяли методом гель-хроматографии с использованием колонки, заполненной полимерным гелем Молселект G-75 (рабочий диапазон 3000-70000 Дальтон). Для построения калибровочного графика использовали стандартные растворы белков в концентрации 1 мг/мл. В собранных фракциях определяли содержание белковых веществ по поглощению при длине волны 280 нм.

Мембрана	G, л/ м ² ·ч	φ, %	Содержание белковых веществ, г/л		Молекулярно-массовое распределение белковых веществ в пермеате, %	
			Концентрат	Пермеат	M = 18-20 кДа	M < 5 кДа
УПМ-10	2,2	93,1	32,73	0,69	5,5	94,5
УПМ-20	5,49	90,5	31,98	0,88	2,8	97,2
УПМ-50	4,39	89,9	31,82	0,92	7,4	92,6
УПМ-100	4,39	86,9	31,01	1,12	10,2	89,8

Результаты исследования и их обсуждение

Согласно гель-хроматографии фракция главных сывороточных белков содержит белки с молекулярными массами 65-70 кДа (7,2 %), 35-40 кДа (59,7 %) и 14-18 кДа (33,1 %), что соответствует бычьему сывороточному альбумину, димеру β-лактоглобулина и α-лактоальбумину.

С целью получения очищенных ферментативных гидролизатов первоначально проводили концентрирование сывороточных белков методом ультрафильтрации и отмывку от низкомолекулярных веществ методом диафильтрации. Для данного процесса были использованы мембраны УПМ-10, УПМ-20, УПМ-50, УПМ-100. Для количественной характеристики процесса ультрафильтрации и выбора оптимальной мембраны рассчитывали значения производительности G и интегральной селективности φ для каждой использованной мембраны. При увеличении кратности концентрирования резко падает производительность всех мембран и происходит замедление процесса, поэтому ограничились проведением 5-кратного концентрирования. В результате данного процесса получили концентрат сывороточных белков и пермеат, обогащенный низкомолекулярными компонентами исследуемой фракции (табл. 1).



Исследование молекулярно-массового распределения белковых веществ в полученных пробах пермеатов показало, что часть белковых веществ, проходящая через мембраны, соответствует протеозо-пептонной фракции молочной сыворотки (Молекулярная масса < 5000 Дальтон). При этом при использовании мембран УПМ-10 и УПМ-20 наблюдается минимальное присутствие в пермеате более крупных молекул сывороточных белков (Молекулярная масса = 18000-20000 Дальтон). Хотя значения интегральной селективности для обеих мембран достаточно высокие (не ниже 90 %), в дальнейшей работе была использована мембрана УПМ-20, отличающаяся более высокой производительностью по сравнению с УПМ-10 (соответственно 5,49 л/м²ч

и 2,2 л/(м²·ч)). Основные параметры процесса 5-кратного ультраконцентрирования фракции сывороточных белков на мембране УПМ-20 представлены в табл. 2.

Основные параметры процесса 5-кратного ультраконцентрирования
на мембране УПМ -20

Степень концентрирования	G, л/м ² ·ч	Ф, %	Концентрация белка в концентрате, г/л
2	6,4	92	13,1 ± 0,7
3	5,8	91,5	19,5 ± 0,9
4	5,6	91,5	26 ± 1,3
5	5,5	90,5	32,3 ± 1,6

Ферментативный гидролиз можно осуществить с применением протеаз животного, растительного и микробного происхождения. Однако при получении белковых гидролизатов пищевого назначения предпочтение отдается использованию протеолитических ферментов животного происхождения, выделенных из поджелудочной железы крупного рогатого скота. Для щелочных протеаз (трипсин, химотрипсин), а также комплексных препаратов, содержащих данные ферменты (химопсин, панкреатин), известны оптимальные условия проведения процесса (рН 7,2-8,0, t = 45...50 °С). В ходе гидролиза происходит освобождение аминокислот, что приводит к понижению рН. Ведение процесса при начальном значении рН 8,0 позволяет не проводить добавление щелочи для рН-стабилизации, что уменьшает количество поступающих в конечный продукт солей.

Были исследованы зависимости степени гидролиза (рН 8,0, t = 47 °С) от начальной концентрации белка в растворе (13,2; 19,8; 26,4; 32,3 г/л, что соответствует степени ультраконцентрирования n = 2,3,4,5) и соотношения фермент-субстрат (E/S = 0,5; 1; 2; 3 %). Установлено, что максимальная степень гидролиза для всех серий проведенных экспериментов наблюдается при времени гидролиза τ = 3 ч. Степень гидролиза оценивали по увеличению содержания низкомолекулярной пептидной фракции (Молекулярная масса < 2000 Да), не осаждаемой трихлоруксусной кислотой (рис. 1. а,б).

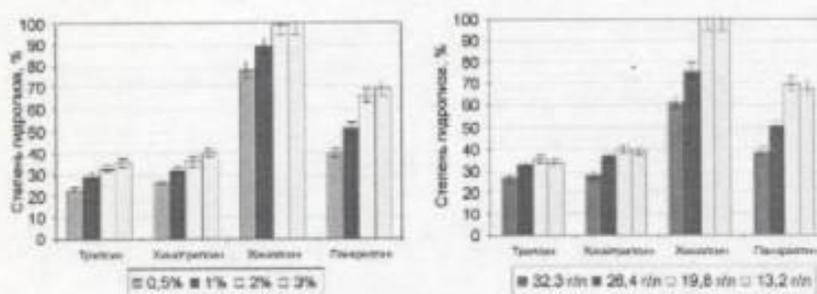


Рис. 1. Зависимость степени гидролиза:
а - от соотношения E/S (C0 = 19,8 г/л); б - от начальной концентрации белка
в растворе (E/S = 3 %)

Гидролиз протеолитическими ферментами происходит с разрывом пептидных связей и образованием более коротких полипептидных цепей и свободных аминокислот, которые не аллергенны. Считается, что пептиды с молекулярной массой менее 1000-1800 Да сами по себе не являются антигенами. Методом гель-хроматографии установлено, что гидролиз используемыми ферментами протекает с образованием 20-100 % коротких пептидов с молекулярной массой менее 2000 Дал. Из рис. 1 а и б видно, что наибольшая степень гидролиза (до 100 %) достигается при действии химопсином при соотношении E/S = 3 % в течение 3 ч. При этом начальная

концентрация белка в растворе должна составлять 19-26 г/л, что соответствует 3-4-кратному концентрированию фракции сывороточных белков.

Известно, что качество белковых гидролизатов в значительной степени зависит от содержания в них свободных аминокислот. На рис. 2. а и б представлены данные по содержанию аминного азота от общего содержания белка (%) в ферментативных гидролизатах, полученных при различных соотношениях E/S и различных начальных концентрациях субстрата.

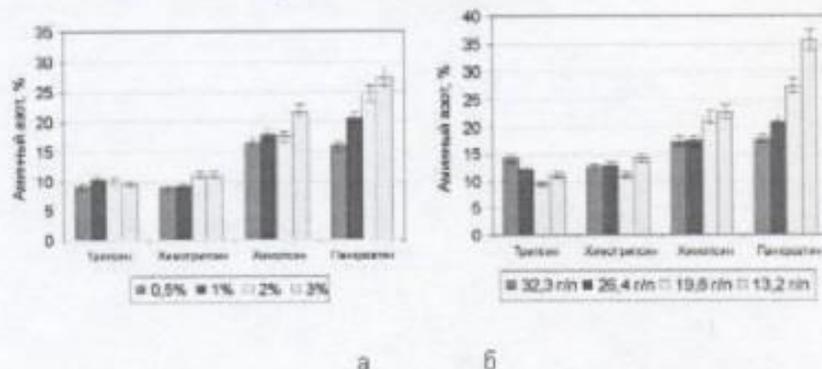
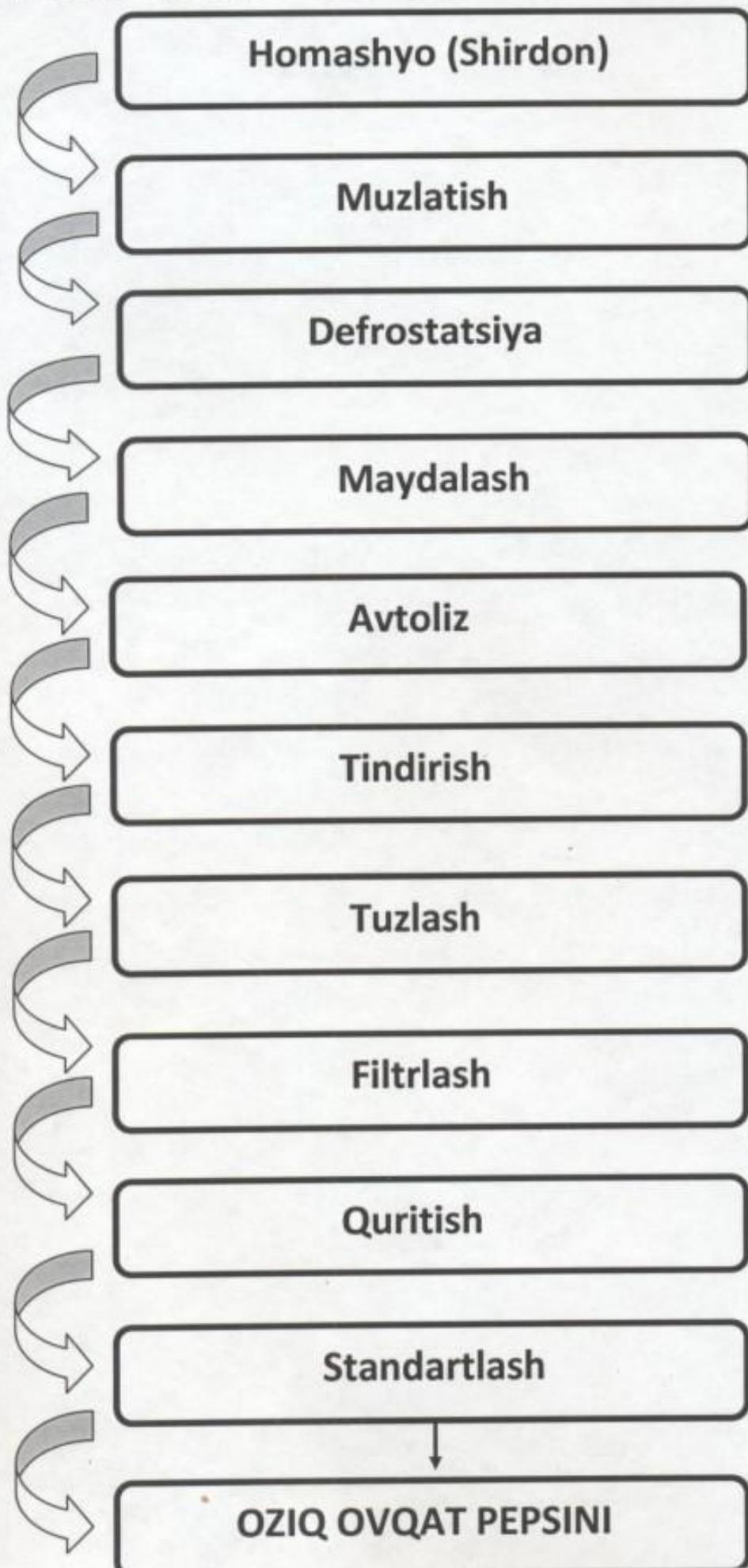


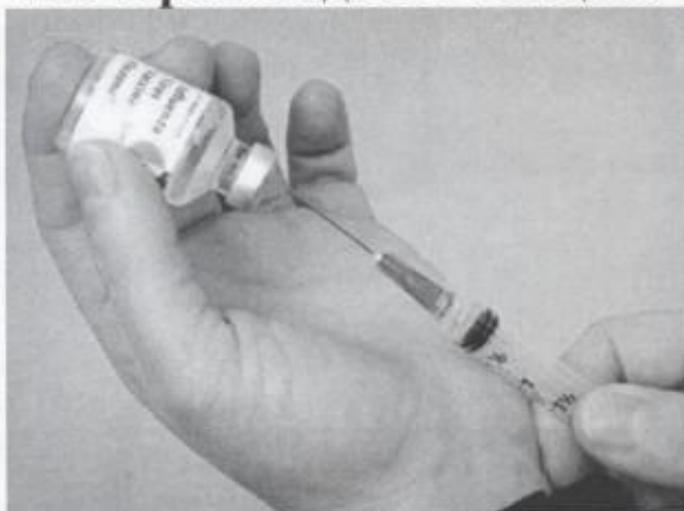
Рис. 2. Зависимость содержания аминного азота:
а - от соотношения E/S ($C_0=19,8$ г/л); б - от начальной концентрации белка в растворе ($E/S = 3 \%$)

Из рис. 2 а и б видно, что при действии ферментным препаратом панкреатинном и соотношении $E/S = 3 \%$ в течение 3 ч наблюдается более глубокий гидролиз с получением белкового гидролизата, содержащего 27-37 % аминного азота. При этом начальная концентрация белка в растворе должна составлять 13,2-19,8 г/л, что соответствует 2-3-кратному концентрированию фракции сывороточных белков. Таким образом, в результате действия на концентрат сывороточных белков ферментными препаратами трипсином, химотрипсином, химопсином и панкреатинном получены ферментативные гидролизаты сывороточных белков с различными свойствами. При использовании комплексных ферментных препаратов (химопсин, панкреатин) наблюдается более глубокий гидролиз по сравнению с использованием монопрепаратов (трипсин, химотрипсин), а образующиеся ферментативные гидролизаты содержат не менее 17 % аминного азота.

PEPSIN OLIISH TEHNOLOGIK SXEMASI



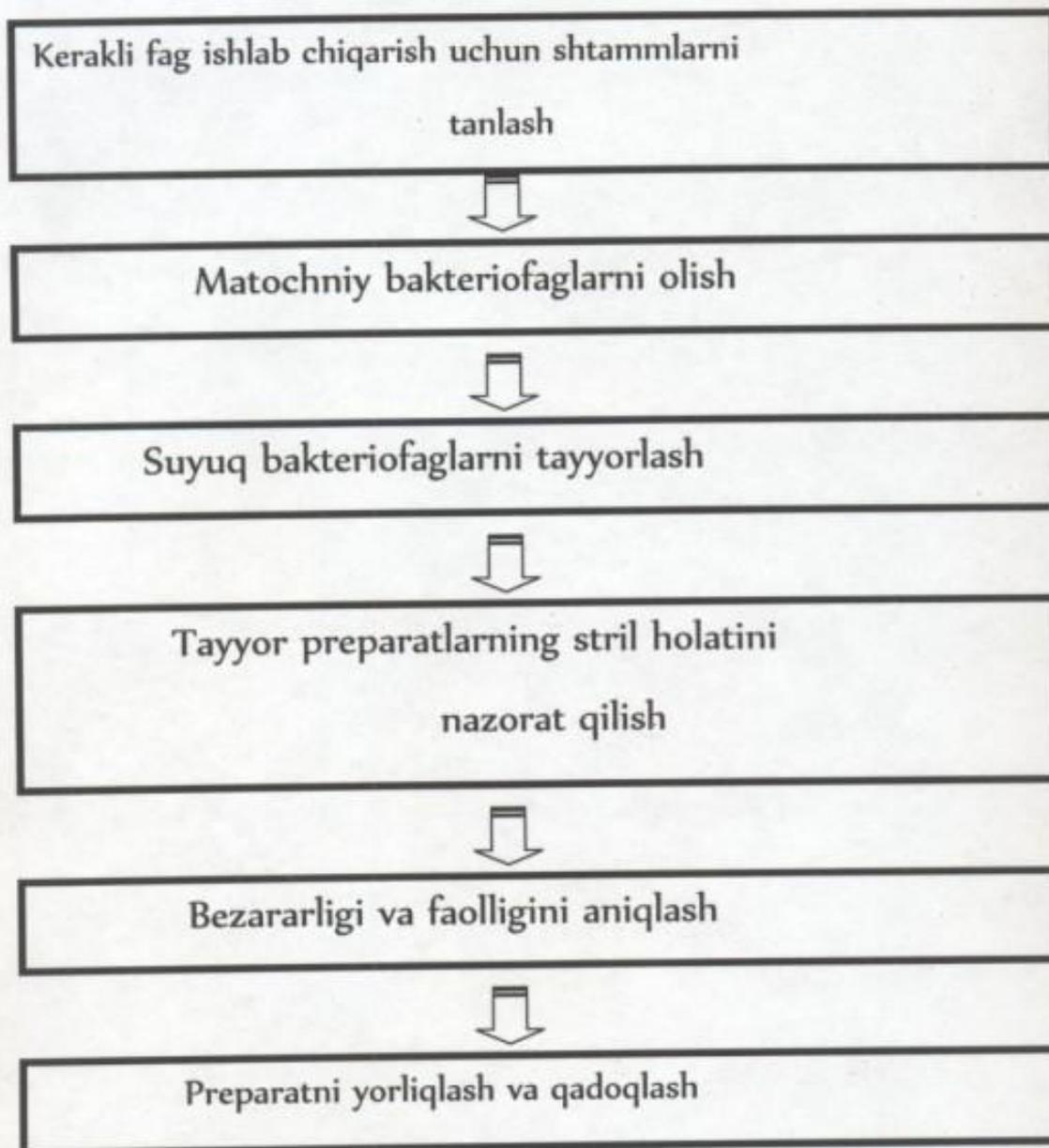
№5 Производство вакцин.



Случившаяся недавно и еще не стершаяся из памяти нехватка противогриппозных вакцин явилась своевременным напоминанием о скудности мирового резерва вакцин и производственных проблемах, связанных с его пополнением. Применение новых методик к разработке, тестированию и производству вакцин в будущем может предотвратить возникновение подобных ситуаций и обеспечить появление новых высокоэффективных препаратов. Генные вакцины, вирусоподобные частицы, вакцины растительного происхождения, а также новые адьюванты (вещества, повышающие иммуногенность) и методики введения препаратов – разработка всех этих направлений должна привести к появлению новых, более безопасных и эффективных вакцин. Это, в свою очередь, сможет защитить большее количество людей от более широкого спектра инфекционных заболеваний. Однако высокая стоимость производства новых вакцин и юридические вопросы, касающиеся возможности их применения, являются для производителей серьезными проблемами.

Предотвращение распространения инфекций с помощью иммунизации, без сомнения, является одним из величайших достижений человечества в области медицины. В настоящее время вакцины ежегодно предотвращают до трех миллионов смертей. За XX столетие средняя продолжительность жизни людей увеличилась примерно на 30 лет, что в немалой степени обусловлено массовой вакцинацией. Одно из опаснейших инфекционных заболеваний – оспа – полностью ликвидировано с помощью вакцинации. Ожидается, что такая же участь в скором времени постигнет и полиомиелит. Однако строгие регулятивные правила, касающиеся иммунизации здоровых людей, и ограниченный доход от производства вакцин являются серьезными препятствиями, которые удерживают фармацевтические компании от вступления в вакцинный бизнес. В результате за последние годы количество

**Suyuq holdagi bakterifaglarni ishlab chiqarishdagi
tehnologik jarayon quyidagi bosqichlardan tashkil
topgan.**



производителей вакцин значительно уменьшилось, что привело к снижению конкуренции и подавлению стимулов к инвестированию в эту область.

Однако ситуация уже начала меняться. Несколько новых вакцин недавно получили разрешения для клинического использования. Ожидается, что некоторые из них получат статус блокбастера (будут приносить доход более миллиарда долларов США в год). В число претендентов входят Превнар (Prevnar), разработанный компанией Wyeth Pharmaceuticals для профилактики пневмококковых инфекций и Гардасил (Gardasil) компании Merck, предназначенный для предотвращения инфицирования папилломавирусами. Научный и экономический прогресс указывает на возможность того, что в следующем десятилетии скорость развития вакцинного бизнеса превысит скорость развития бизнеса фармакологических средств. Если ожидания оправдаются, то развитие и внедрение инновационных методик повысит шансы на успех разрабатываемых в настоящее время вакцин против ВИЧ, малярии, гепатита С и других заболеваний.

Первая крупномасштабная вакцинация имела место более 200 лет назад и ее целью была профилактика оспы. Сегодня многие инфекционные заболевания, как бактериальной, так и вирусной природы можно предотвратить с помощью вакцин. Однако до сих пор инфекции вызывают значительную заболеваемость и смертность, что указывает на необходимость создания новых и усовершенствования существующих вакцин. К настоящему времени исходные варианты некоторых вакцин уже заменены более эффективными версиями и постоянно появляются новые препараты. Половина существующих вакцин появилась в течение последних 25 лет, что соответствует разработке примерно одной вакцины в год, по сравнению с одной в пять лет, как это было в более ранний период. Появление новых и усовершенствованных вакцин привело к изменениям в методах производства, а в некоторых случаях, наоборот, производственные достижения привели к появлению новых профилактических средств.

Из данного обзора вы можете получить информацию об основных типах существующих вакцин, методах их производства, примерах того, какие изменения произошли в подходах к созданию вакцин и как новые технологии могут повлиять на производство вакцин в будущем.



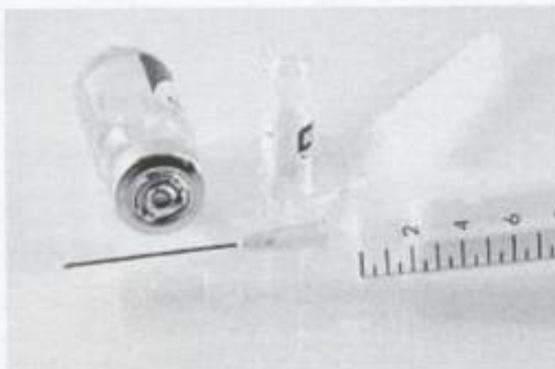
Очищенные или рекомбинантные субъединичные вакцины

Использование для производства вакцин целых живых или убитых микроорганизмов исключает необходимость идентификации нужных антигенов, однако обладает потенциальными недостатками в виде необходимости обеспечения безопасности и возможности развития недостаточного или патологического иммунного ответа. С этой точки зрения, если известен иммуногенный антиген, в большинстве случаев более безопасно и эффективно инициировать иммунный ответ избирательно.

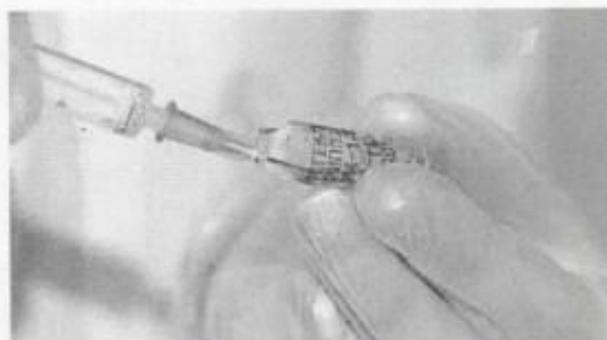
Многие бактерии (например, возбудитель дифтерии *Corynebacterium diphtheriae*) синтезируют токсины, вызывающие патологические реакции в инфицированном организме. То, что с помощью нейтрализующих токсины антител можно избежать развития заболевания, известно уже давно, и предназначенные для этих целей вакцины основаны на обезвреженных вариантах токсинов, называемых токсоидами или анатоксинами.

Действующие согласно этому же принципу антитела против полисахаридов некоторых покрытых капсулами бактерий (например, *Neisseria meningitidis* и *Streptococcus pneumoniae*) известны благодаря своей способности инициировать антибактериальный иммунитет. Поэтому вакцины против таких микроорганизмов в качестве активного компонента содержат выделенные из бактериальных культур и очищенные полисахариды. Такие вакцины обычно эффективны при введении взрослым, но обладают слабым эффектом на иммунитет детей младше двух лет, что обусловлено незрелостью иммунной системы в этом возрасте и независимостью иммунного ответа на полисахариды от Т-лимфоцитов. Этот недостаток можно преодолеть с помощью белков-носителей, обеспечивающих развитие Т-лимфоцитарных реакций против полисахаридов. Например, вакцина против наиболее распространенного возбудителя инфекций дыхательных путей – гемофильной палочки

(Haemophilus influenzae B) – производится путем конъюгации очищенных полисахаридов с одним из существующих белков-носителей.



И, наконец, рекомбинантные белковые вакцины, синтезируемые клеточными культурами, уже производятся против вируса гепатита В и возбудителя болезни Лайма *Borrelia burgdorferi*. Еще несколько препаратов находятся на стадии разработки.



FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR:

- 1. X.M.Komilov, A.A. Mahmudov**
“Biologik faol moddalar texnologiyasi” Toshkent 2010
- 2. Elinov M.O. Osnovo biotexnologii Sankt-Peterburt, nauka 1995.**
- 3. Uebb F. Mikrobiologik sintezda biokimyoviy texnologiya. M. Meditsina.1969.**
- 4. X.M.Komilov, A.A. Mahmudov , To`xtayev F.H.**
“Tibbiy birikmalar va dori vositalari biotexnologiyasi” fanidan elektron darslik.
- 5. Uchebnoe posobie po kursu “Osnovi biotexnologii” Chueshov V.I. Boguslovskiy L.I. Krasapolskiy, M.Xarkov 1995.**

INTERNET SAHIFALARI

www.aguatropic.uz

www.biorosinfo.ru

www.moeobrazovanie.ru

www.mosbiotechworld.ru

www.medportal.ru

www.wikipedia.org/wiki/Вакцина