

УДК 577.112 + 615.038

**РЕКОМБІНАНТНІ БІЛКИ ТЕРАПЕВТИЧНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ:
ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ,
ВИВЧЕННЯ БЕЗПЕЧНОСТІ ТА ЕФЕКТИВНОСТІ
(літературний огляд)**

Нечаєва Я. О., Грабчук С. М., Горшунов Ю. В., Мотроненко В. В., Галкін О. Ю.

*Національний технічний університет України
“Київський політехнічний інститут ім. Ігоря Сікорського”
03056, Україна, Київ, просп. Перемоги, 37*

alexfbt@gmail.com

Рекомбінантні білки мають надзвичайно важливе значення для терапії та діагностики багатьох захворювань людини та тварин. Лікарські препарати на основі рекомбінантних білків мають низку особливостей, пов'язаних із технологією отримання, доведенням показників безпечності та ефективності. Розглянуто можливі підходи до класифікації препаратів терапевтичних рекомбінантних білків, зокрема за міжнародним анатомо-терапевтично-хімічним класифікатором, а також за альтернативним підходом, що базується на їх функціях та медичному застосуванні. Зроблено порівняльний аналіз різних систем експресії рекомбінантних білків з огляду на їх терапевтичне призначення за такими критеріями: продуцент, вектор, регуляторна послідовність, маркерний ген, технологічні та медико-біологічні переваги та недоліки. Зокрема, розглянуто системи експресії на основі прокариотичних (бактеріальні клітини) та еукаріотичних організмів (дріжджові клітини, культури клітин комах, ссавців та рослин). Проведена коротка маркетингова характеристика світового ринку біопрепаратів. Особливу увагу приділено сучасним світовим та вітчизняним вимогам до вивчення безпечності та ефективності препаратів біологічного (біотехнологічного) походження, у т.ч. рекомбінантних білків.

Ключові слова: рекомбінантні білки, класифікація, терапія, біотехнологія, безпека, ефективність

Нечаева Я. О., Грабчук С. Н., Горшунов Ю. В., Мотроненко В. В., Галкин А. Ю. РЕКОМБИНАНТНЫЕ БЕЛКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ: ОСОБЕННОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ, ИЗУЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ (литературный обзор) / Национальный технический университет Украины “Киевский политехнический институт им. Игоря Сикорского”; 03056, Украина, Киев, просп. Победы, 37

Рекомбинантные белки имеют чрезвычайно важное значение для терапии и диагностики многих заболеваний человека и животных. Лекарственные препараты на основе рекомбинантных белков имеют ряд особенностей, связанных с технологией получения, доказательством показателей безопасности и эффективности. Рассмотрены возможные подходы к классификации препаратов терапевтических рекомбинантных белков, в том числе по международному анатомо-терапевтико-химическому классификатору, а также по альтернативному подходу, основанному на их функциях и медицинском применении. Сделан сравнительный анализ различных систем экспрессии рекомбинантных белков, учитывая их терапевтическое назначения по следующим критериям: продуцент, вектор, регуляторная последовательность, маркерный ген, технологические и медико-биологические преимущества и недостатки. В частности, рассмотрены системы экспрессии на основе прокариотических (бактериальные клетки) и эукариотических организмов (дрожжевые клетки, культуры клеток насекомых, млекопитающих и растений). Проведена короткая маркетинговая характеристика мирового рынка биопрепаратів. Особое внимание уделено современным международным и отечественным требованиям к изучению безопасности и эффективности препаратов биологического (биотехнологического) происхождения, в т.ч. рекомбинантных белков.

Ключевые слова: рекомбинантные белки, классификация, терапия, биотехнология, безопасность, эффективность.

Nechaeva Ya. O., Grabchuk S. N., Gorshunov Yu. V., Motronenko V. V., Galkin A. Yu. RECOMBINANT THERAPEUTIC PROTEINS: SPECIALTY OF OBTAINING, SAFETY AND EFFECTIVENESS STUDY (review) / National Technical University of Ukraine “Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute”; 03056, Ukraine, Kyiv, Peremohy av., 37

Recombinant proteins are extremely important for the therapy and diagnosis of many human and animal diseases. Medicines based on recombinant proteins have a number of features associated with the technology of obtaining, safety and effectiveness studies. In the review article, possible approaches to the classification of medical preparations based on therapeutic recombinant proteins were analyzed. First of all it was viewed biological (biotechnological) preparations within the framework of the international anatomical-therapeutic-chemical (ATC) classifier. According to the authors ATC classification is not always suitable for analysis of

the market of biotech drugs as well as formation of prospects of biopharmaceutics. Alternative approach based on functions and medical application of biotech drugs (Group I: therapeutic proteins with enzymatic or regulatory activity; Group II: therapeutic proteins with special targeting activity; Group III: therapeutic proteins as vaccines; Group IV: therapeutic proteins as diagnostics).

A comparative analysis of different systems of expression of recombinant proteins was made (according to the following criteria: producer, vector, regulatory sequence, marker gene, technological and biomedical advantages and disadvantages). In particular, expression systems based on prokaryotic (bacterial cells) and eukaryotic organisms (yeast cells, insect cells, mammalian and plant cells) are considered. Expression systems based on bacterial cells are cost-effective and fast way to get many proteins. *E. coli* is the most detailed studied biological agent compared to others; it characterized by high yields of the target protein. But mostly target protein produced in the form of inclusion bodies in the randomly-expanded form (it requiring additional technological steps. Expression systems based on yeast cells are convenient because proteins are synthesized in secreted form. The target protein is synthesized as a glycosylated form, but the type of glycosylation does not always correspond to human. Expression systems based on insect cells provide a synthesis of secreted form of proteins. Disadvantages are expensive culturing mediums, and significant duration of biosynthesis process. Expression systems based on mammalian cells have following advantages: the target protein is humanized; high level of purity of proteins.

A short marketing characteristic of the world market of biologics was carried out. Particular attention is paid to modern international and domestic requirements for the study of the safety and efficacy of biological (biotechnological) origin products, including recombinant proteins. Quality, safety and efficacy of recombinant products are largely dependent on adequate control of raw materials and production process, as well as active pharmaceutical ingredient and of drug. Validation of cleaning processes for the removal / inactivation of undesirable materials (particularly viral contaminants, proteins and host cell DNA) are very important.

Key words: recombinant proteins, classification, therapy, biotechnology, safety, efficacy.

ВСТУП

Білки є одним із найбільш важливих класів біологічних макромолекул, які беруть участь практично у всіх клітинних процесах. Тому значна кількість досліджень у біології та медицині направлена на використання білків як діагностичних або терапевтичних препаратів. Значна частина антигенів, що є маркерами інфекційних та неінфекційних захворювань, має білкову природу. Сьогодні розроблено чимало методів отримання імунологічно активних білкових продуктів, до яких відноситься біоорганічний синтез, екстракція з біологічної сировини, біосинтез з використанням мікроорганізмів тощо. Водночас не всі білки можливо отримувати у необхідних кількостях такого ступеню чистоти, щоби задовольняти вимоги їх діагностичного чи терапевтичного застосування. Окрім цього, використання даних методів не завжди є ефективним з техніко-економічної точки зору. Використання біосировини людського та тваринного походження також суттєво обмежує медичне використання таких білкових препаратів через питання біобезпеки [1-3]. У 1973 р. було розроблено спосіб перенесення генетичної інформації з одного організму в інший в умовах *in vitro* [2]. Цей метод, що отримав назву технології рекомбінантних ДНК, дозволив вченим виділяти певні гени і вводити їх в організм нового господаря. Рекомбінантна технологія дала можливість створювати продуценти для крупномасштабного синтезу багатьох імунологічно активних білків, а також отримувати препарати з покращеними властивостями.

Метою роботи був аналіз особливостей отримання, а також вивчення безпечності та ефективності рекомбінантних білків терапевтичного призначення.

ПРОБЛЕМИ КЛАСИФІКАЦІЇ ТЕРАПЕВТИЧНИХ БІОПРЕПАРАТІВ

За прогнозами ВООЗ у 2023 році близько 50 % продуктів (препаратів) у системі охорони здоров'я будуть саме біотехнологічного (біологічного) походження. Переважна більшість із них – рекомбінантні продукти [4]. Лікарські засоби прийнято класифікувати за міжнародним анатомо-терапевтично-хімічним класифікатором (Anatomical Therapeutic Chemical Classification System, АТС). АТС поділяє лікарські засоби на групи, що мають 5 різних рівнів: I – клас препаратів у розрізі захворювань анатомічних органів та систем; II – блок препаратів у розрізі основних груп терапевтичних та фармакологічних особливостей; III – розділ препаратів уточнених терапевтичних та фармакологічних характеристик; IV – підрозділ препаратів уточнених терапевтичних, фармакологічних та хімічних характеристик; V – хімічна речовина.

Рекомбінантні препарати відносяться до різних груп згідно з АТС класифікатором, проте найбільша їх кількість зосереджена в таких підгрупах: J06 – Імунні сироватки та імуноглобуліни, J07 – Вакцини, L01 – Протипухлинні препарати, L03 – Імуностимулятори, L04 – Імунодепресанти. Слід зазначити, що АТС-класифікація не у всіх випадках є зручною для аналізу ринку біотехнологічних препаратів, формування перспектив розвитку біофармації.

Akash M. та співавтори [5] запропонували більш зручну, на нашу думку, класифікацію білків медичного призначення з точки зору їхніх функцій та застосування (рис. 1). I та II групи – білки, що схвалені регуляторними органами, III і IV групи – перебувають на стадії досліджень. До групи Ia відносять білки, які використовуються для лікування порушень обміну речовин або дисфункцій ендокринної системи (наприклад, ІЛ-1, фактор згортання крові VIII). Група Ib включає в себе білки, які стимулюють різні гематологічні та імунні реакції (зокрема, інтерферон-альфа, еритропоїтин). Білки, які використовують для зміни патофізіології захворювання, включені до групи Ic (наприклад, ботулічний токсин типів А і В). Протеїни, віднесені до групи IIa, стимулюють сигнальний шлях або пригнічують функціонування молекул або організмів за допомогою прямого зв'язування. До групи IIa відносять більшість моноклональних антитіл. Препарати, які передбачають цілеспрямовану (специфічну) доставку білків, включені до групи IIb (наприклад, ibritumomab tiuxetan – радіоактивно кон'юговані моноклональні антитіла, denileukin difitox – химерний протеїн із активністю ІЛ-2 та дифтерійного токсину). Білки, які використовуються як вакцини (профілактичні та терапевтичні), належать до групи III (наприклад, вакцина проти гепатиту В на основі HBsAg). Білки, які віднесено до IV групи, використовуються для діагностичних цілей, а саме для діагностики інфекційних, онкологічних захворювань та ендокринних порушень [5].

Ринок біотехнологічних лікарських засобів, у т.ч. рекомбінантних білків, розвивається в останні десятиліття вкрай стрімко. Нині в різних країнах випускається понад 120 рекомбінантних білків, з яких 100, пройшовши клінічні випробування, дозволені до використання в Європейському Союзі та США. За підрахунками фахівців, щорічний обсяг світового ринку лікарських засобів на основі білків, створених генно-інженерним шляхом, збільшується на 15 % і у 2010 році становив 18 млрд доларів США. Станом на 2015 рік майже 400 рекомбінантних білків успішно виробляються і схвалюються до застосування. Решта – 1300 терапевтичних білків перебувають на стадії розробки, з яких близько 50 % знаходяться на етапі доклінічних досліджень, інші 33 % – на етапі клінічних випробувань [6-8].



Рис. 1. Класифікація білків медичного застосування [5]

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ РЕКОМБІНАНТНИХ ТЕРАПЕВТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

За 40 років, що минули з моменту відкриття технології рекомбінантних ДНК, розроблено чимало рекомбінантних систем експресії різних біологічно активних речовин на основі прокаріотичних та еукаріотичних продуцентів. Характеристика різних систем експресії рекомбінантних білків наведена в табл. 1.

Таблиця 1 – Системи експресії, що використовуються для синтезу рекомбінантних білків [3]

| Продуцент | Вектор | Регуляторна послідовність | Маркерний ген | Переваги цієї системи | Недоліки цієї системи |
|-------------------------|--|--|---|---|---|
| Прокаріотичні системи | | | | | |
| Бактеріальні клітини | Плазміда, вірус, фаг або косміда | Промотор T7 РНК полімерази (pT7), TAC промотор (pTAC), Trp промотор, Lac промотор, Tce промотор, PhoA промотор | Ген стійкості до антибіотика | Економічно вигідний та швидкий спосіб отримання багатьох білків. <i>E.coli</i> - найдетальніше вивчений організм в порівнянні з іншими, що полегшує роботу з ним. Високі виходи цільового білка | У більшості випадків цільовий білок напрацьовується у вигляді тілець – включень у хаотично-розгорнутій формі, що потребує додаткових технологічних етапів. Потребує урахування вимог вірусної безпеки у випадку використання вірусної векторної системи |
| Еукаріотичні системи | | | | | |
| Дріжджові клітини | Епісомні або плазмідні вектори, інтегруючі вектори, штучні дріжджові хромосоми | Окисадзний промотор I | Ген стійкості до антибіотика | Напрацювання білка в секретованій формі | Цільовий білок напрацьовується в глікозилюваній формі, але тип глікозилювання не завжди відповідає людському |
| Культури клітин комах | Бакуловірусна векторна система експресії | Актиновий промотор OpIE2 | Ген стійкості до зеоцину | Напрацювання білка в секретованій формі | Коштовні середовища для культивування продуцента. Значна тривалість процесу напрацювання цільового білка |
| Культури клітин ссавців | Плазмідні вектори pCR, pcDNA-hPS, аденовірусні вектори | Вірусні промотори, промотори внутрішніх генів та гібридні промотори | Селективні маркерні гени, що кодують синтез неоміцинфосфотрасфераз, дигідрофолатредуктази або глутамінсинтази | Цільовий білок є гуманізованим. Ступінь чистоти отриманого білка набагато вищий, ніж у білка отриманого за допомогою систем експресії на основі прокаріотичних та дріжджових клітин | Висока вартість напрацювання цільового білка. Потребує урахування вимог вірусної безпеки |

Для отримання рекомбінантних білків дуже часто обирають найпростішу та найпоширенішу систему експресії, а саме *Escherichia coli*. Цей продуцент має ряд переваг: потенційно високий рівень експресії, низька вартість, прості умови культивування, швидкий ріст, простота маніпуляцій з геномом порівняно з іншими мікроорганізмами, більшість параметрів культивування можна змінювати для оптимізації експресії білка. До того ж *E. coli* є найдетальніше вивченим організмом порівняно з іншими, що полегшує роботу з ним. Недоліком продуценту є те, що в більшості випадків цільовий білок напрацьовується у вигляді тілець включень в хаотично-розгорнутій формі, що потребує додаткових технологічних етапів [3, 9, 10].

Біосинтез цільового білка в *E. coli* відбувається за стандартним механізмом синтезу білка в клітинах бактерій. Для забезпечення цього процесу культивування проводять у дві фази у ферментері при оптимальній температурі росту продуцента цільового білка, інтенсивному перемішуванні та аерації (якщо це позитивно впливає на накопичення білка).

У першій фазі відбувається накопичення біомаси, у другій – індукція та синтез рекомбінантного білка. Для запуску механізму біосинтезу цільового рекомбінантного білка в середовище необхідно додавати індуктор.

Як бактерійна система експресії також можуть використовуватися *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Micrococcus sp* [2].

Крім генетично модифікованих прокариотичних клітин, для отримання терапевтичних білків розроблені технології з використанням рекомбінантних одноклітинних еукаріот. В основному це дріжджі родів *Pichia*, *Candida*, *Kloeckera*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula*, *Hansenula*, *Torulopsis*. Зазначимо, що *Pichia pastoris* та *Saccharomyces cerevisiae* є одними із найбільш широко використовуваними системами експресії. Генно-інженерні дріжджі *S.cerevisiae*, використовуються щонайменше у виробництві 10 рекомбінантних білків, що схвалені до клінічного використання. До них відносяться деякі похідні інсуліну і гормони росту, рекомбінантна вакцина проти гепатиту В [2].

Деякі рекомбінантні терапевтичні білки (інтерферони, людські гонадотропіни) мають дуже складну структуру і вимагають певних посттрансляційних модифікацій, що приводять до правильної конформації білкової молекули і її глікозилювання – все це робить використання прокариот для синтезу таких молекул досить складним завданням. Наприклад, від того, у яких точках молекули відбудеться глікозилювання, залежить третинна структура, час деградації, розпізнавання такої молекули рецепторами клітин-мішеней тощо. Тож зараз рекомбінантні глікозилювані пептиди успішно синтезуються клітинними лініями [2].

Продуцентом терапевтичних білків може бути будь-яка підготована еукаріотична клітинна лінія: клітинні лінії тварин, серед яких найбільш розповсюджені СНО (Chinese hamster ovary cell), Baby hamster kidney (ВНК), PerC6, HEK293; рослинні клітини: клітини тютюну чи томату; клітини комах тощо [2, 3, 11].

Вибір потрібної клітинної лінії визначається трьома факторами: співвідношенням між виживаністю та продуктивністю; якістю посттрансляційних модифікацій синтезованого білка; біобезпечністю (співвідношенням ризику контамінації клітинної лінії вірусною, пріонною чи іншою контамінацією).

Як продуценти найчастіше використовуються клітинні лінії СНО, що виділяють з яєчників китайського хом'яка. Вони мають ряд переваг, а саме: можуть виживати при достатньо високій клітинній щільності; порівняно легко трансформуються чужерідною ДНК; легко розмножуються в культурі; забезпечують найбільш ефективний та максимально близький до людського профіль глікозилювання білків; клітини та їхні похідні мають значною продуктивністю за генно-інженерними білками; клітини можуть бути адаптовані до росту в суспензії та життєздатні в безсироватковому середовищі. Визначальним фактором при виборі клітинної лінії СНО є посттрансляційні модифікації синтезованого білка. При культивуванні клітинних ліній тварин необхідно враховувати морфологічні особливості біологічного агента

(вразливість клітинної оболонки), субстратзалежність, забезпечення аерації без ефекту турбогіпобіозів. Клітинні лінії СНО культивують на мікроносіях у промислових масштабах, в основному, з використанням одноразових ферментерів.

Серед нових систем експресії клітини комах досить швидко впроваджуються в розробки технологій отримання рекомбінантних білків. У 2007 році за допомогою клітинних ліній комах була отримана перша вакцина з використанням бакуловірусної системи – рекомбінантна адсорбована вакцина проти вірусу папіломи людини (ВПЛ), що являє собою суміш вірусоподібних частинок рекомбінантних поверхневих білків ВПЛ типів 16 і 18. Білки ВПЛ отримані з використанням рекомбінантних бакуловірусів на культурі клітин *Trichoplusia ni* (Hi-5 Rix4446) [12].

Крім того, розробляються трансгенні рослини та тварини, які також використовуються для виробництва різних типів терапевтичних білків. ДНК цільового білку вводять в геном рослин з метою отримання великого обсягу необхідного білка. До того ж культурні рослини є економічно ефективними біореакторами, які можуть бути використані як істивні вакцини. Вакцини, що виробляються в трансгенних рослинах, мають низку переваг, а саме: спрощений процес зберігання, зручна система доставки і низька вартість в порівнянні з рекомбінантними вакцинами [12].

ОСОБЛИВОСТІ ДОВЕДЕННЯ БЕЗПЕЧНОСТІ ТА ЕФЕКТИВНОСТІ РЕКОМБІНАНТНИХ ТЕРАПЕВТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

Із появою технології рекомбінантної ДНК з'явилась можливість виробництва великої кількості лікарських засобів, які важко отримати з природних джерел. Проте не уявляється можливим повністю спрогнозувати біологічні властивості і клінічні характеристики цих макромолекул тільки на основі їхніх фізико-хімічних характеристик. Крім того, біологічні системи за своєю суттю варіабельні, що має важливі наслідки для безпеки та ефективності отриманого продукту. Тому необхідною умовою для запровадження біопрепаратів у клінічну практику є забезпечення належного рівня якості від партії до партії, розроблення надійних (стабільних) виробничих процесів [3].

Потенційні проблеми безпеки виникають із появою нових процесів, які використовуються у виробництві, продуктів і домішок, а також через складні структурні та біологічні властивості самих продуктів. Особливої уваги вимагають фактори, що включають можливу присутність у продуктах, отриманих із трансформованих клітин ссавців, забруднюючої онкогенної ДНК клітини-господаря, а також наявність вірусів. Оскільки природа і виробництво цих продуктів є дуже складними, вони так само вимагають складних лабораторних методів для забезпечення їх належної стандартизації та контролю. Комплексна аналітична характеристика лікарської речовини і/або лікарського препарату не виключає процес перевірки та контролю в процесі виробництва. Заходи контролю стосуються і вихідних матеріалів, і виробничого процесу. Необхідні дані про якість клітини-господаря, чистоту, відсутність сторонніх агентів, адекватне тестування в процесі виробництва, а також ефективність методів випробувань [12-14].

Якість, безпека та ефективність рекомбінантних продуктів значною мірою залежать від адекватного контролю вихідних матеріалів і виробничого процесу, а також лікарської речовини і самого лікарського препарату. Важливою є валідація процесів очищення для видалення/інактивації небажаних матеріалів – особливо вірусних домішок, білків і ДНК клітини-хазяїна. Ці керівні принципи охоплюють також процеси управління виробництва і комплексну характеристику лікарської речовини і лікарського продукту [1].

Особливістю стандартизації препаратів біотехнологічного походження на основі рекомбінантних білків є те, що кожен рекомбінантний препарат індивідуальний, тому потребує індивідуального підходу з урахуванням властивостей конкретної речовини, особистого підходу в розробленні методів контролю якості. Рекомбінантні білки, що плануються до застосування із лікувальною метою, мають відповідати специфічним вимогам,

що відрізняє їх від тих білків, що використовуються винятково в науково-дослідних роботах. Характеристика отриманих за допомогою рекомбінантних технологій білків повинна містити визначення їхніх фізико-хімічних властивостей, біологічної активності, імунохімічних властивостей, чистоти та наявності домішок за допомогою відповідних сучасних методів, та є необхідною умовою для розроблення повних і відповідних специфікацій [12-14].

Специфікація для активної речовини та лікарського препарату є одним з елементів загальної стратегії контролю, яка включає контроль вхідних матеріалів та допоміжних речовин, контроль у процесі виробництва, валідацію процесів, дотримання вимог належної виробничої практики, випробування стабільності і контроль однорідності серій. Належна якість активної речовини/лікарського препарату може бути гарантована тільки при застосуванні всіх цих елементів [12-14].

Питання, що стосуються доведення ефективності біологічних (біотехнологічних) лікарських засобів, у т.ч. біологічно подібних препаратів (біосимілярів), залишається складним науково-практичним завданням. Фахівцями регуляторних органів провідних країн світу, зокрема, Європейського агентства з лікарських засобів, Адміністрацією продуктів харчування та ліків США сформовано керівні принципи дослідження безпечності та ефективності біопрепаратів [12-17]. Загальні принципи доклінічних та клінічних досліджень подібних біологічних лікарських засобів, які містять як активну субстанцію білки, отримані за допомогою біотехнологій, сформовано й у нашій країні [18]. Рекомендації, що наведені у цих документах, засновані на багаторічному досвіді роботи з традиційними та рекомбінантними біопрепаратами [12-17]. Ці принципи застосовують, загалом, до всіх біологічно активних білкових продуктів, що використовуються при лікуванні захворювань людини, і які отримують за допомогою технології рекомбінантної ДНК з використанням прокаріотичних або еукаріотичних клітин. Ці принципи стосуються також білкових продуктів, що використовуються для діагностики *in vivo* (наприклад, моноклональних антитіл), продуктів, що застосовуються для лікування *ex vivo*, а також тих, що навмисно модифіковані, наприклад, поліетиленгліколем, кон'югацією з цитотоксичним лікарським засобом, або з модифікованою рДНК. Деякі аспекти цих принципів можуть застосовуватися до продукції, виробленої в трансгенних тваринах і рослинах [12-17].

ВИСНОВКИ

Проаналізовано сучасні підходи до класифікації лікарських засобів та визначено класифікацію, що є найбільш зручною для біологічних (біотехнологічних) препаратів. Проведений порівняльний аналіз різних систем експресії рекомбінантних білків (за такими критеріями: продуцент, вектор, регуляторна послідовність, маркерний ген) дозволив сформулювати переваги та недоліки в контексті технологічних та медико-біологічних особливостей. Проаналізовано системи експресії на основі прокаріотичних (бактеріальні клітини) та еукаріотичних організмів (дріжджові клітини, культури клітин комах, ссавців та рослин). Проаналізовано сучасні світові та вітчизняні вимоги до вивчення безпечності та ефективності препаратів біологічного (біотехнологічного) походження, у т.ч. рекомбінантних білків.

ЛІТЕРАТУРА

1. Andersen D. C., Krummen L. Recombinant protein expression for therapeutic applications. *Cur. Op. Biotechnol.* 2002. Vol. 13. P. 117-123.
2. Glick B. R., Pasternak J. J. Molecular biotechnology. Principles and applications of recombinant DNA. 3rd ed. Department of Biology, University of Waterloo Waterloo, Ontario, Canada. ASM Press Washington D.C. 2003. 760 p.
3. Галкін О. Ю., Широбоков В. П., Григоренко А. А., Дуган О. М., Луценко Т. М., Комар А. Г. Біотехнологічні основи створення засобів серологічної діагностики інфекційних та неінфекційних захворювань: монографія / Під ред. В. П. Широбокова. К.: НТУУ "КПІ", 2015. 204 с.

4. Проценко М. В., Ягудина Р. И. Биотехнологические лекарственные средства и биоподобные препараты: обзор практического применения и нормативной базы регулирования обращения. *Фармакоэкономика*. 2010. Т. 3, № 4. С. 13-21.
5. Akash M.S.H., Rehman K., Tariq M., Chen S. Development of therapeutic proteins: advances and challenges. *Turkish J. Biol.* 2015. № 39. P. 1-16.
6. Milenic D. E., Brady E. D., Brechbiel M.W. Antibody-targeted radiation cancer therapy. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2004. Vol. 3 (6). P. 488-499.
7. Sanchez-Garcia L., Martín L., Mangues R., Ferrer-Miralles N., Vázquez E., Villaverde A. Recombinant pharmaceuticals from microbial cells: a 2015 update. *Microbial Cell. Factories*. 2016. № 15:33. P. 1-7.
8. Żerek B., Rózga P. Recombinant protein therapeutics – the future is here. *Laborant*. № 4. P. 34-37.
9. Галкин А. Ю., Горшунов Ю. В., Бесараб А. Б., Луценко Т.Н., Гришина А. С. Влияние добавок растительного происхождения к питательной среде на уровень биосинтеза рекомбинантного белка бактериями *Escherichia coli*. *Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки*. 2015. №1. С. 184-194.
10. Луценко Т. Н., Галкин А. Ю. Обоснование биотехнологических подходов получения интерлейкина-7 человека рекомбинантного. *Труды Белорусского государственного технологического университета. Серия "Химия, технология органических веществ и биотехнология"*. 2015. № 4 (177). С. 188-197.
11. Петров Ю. П., Цупкина Н. В. Особенности роста культуры клеток линии СНО. *Цитология*. 2012. № 10. С. 754-760.
12. Janice M., Paquette C. Clinical development of therapeutic recombinant protein. *Drug discovery and genomic technologies*. 2003. Vol. 1 (35). P. 176-183.
13. Посилкіна О. В., Літвінова О. В. Перспективи розробки і клінічного використання біосимілярів в Україні. *Клінічна фармація*. 2014. Т. 18, № 1. С. 11-14.
14. Талаєва Т. В., Дорошук Л. В., Кудрявцева І. Г. Біотехнологічні лікарські препарати та біосиміляри: що необхідно знати клініцистам при призначенні біосимілярів. *Український ревматологічний журнал*. 2015. № 1 (59). С. 3-7.
15. Guidelines on the quality, safety and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology. Geneva: WHO. 2013. 92 p.
16. Alten R., Cronstein B. N. Clinical trial development for biosimilars. *Semin Arthritis Rheum*. 2015. Vol. 44(6). P. 2-8.
17. Braun J., Kudrin A. Progress in biosimilar monoclonal antibody development: the infliximab biosimilar CT-P13 in the treatment of rheumatic diseases. *Immunotherapy*. 2015. Vol. 7(2). P. 73-87.
18. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-7.5:2016. Лікарські засоби. Загальні принципи доклінічних та клінічних досліджень подібних біологічних лікарських засобів, які містять як активну субстанцію білки, отримані за допомогою біотехнологій. К.: МОЗ України. 2016. 132 с.

REFERENCES

1. Andersen D. C., Krummen L. Recombinant protein expression for therapeutic applications. *Cur. Op. Biotechnol.* 2002. Vol. 13. P. 117-123.
2. Glick B. R., Pasternak J. J. Molecular biotechnology. Principles and applications of recombinant DNA. 3rd ed. Department of Biology, University of Waterloo Waterloo, Ontario, Canada. ASM Press Washington D.C. 2003. 760 p.
3. Galkin O. Ju., Shirobokov V. P., Grigorenko A. A., Dugan O. M., Lucenko T. M., Komar A. G. Biotehnologichni osnovi stvorennja zasobiv serologichnoї diagnostiki in-fekciynih ta neinfekciynih zahvorjuvan': monografija / Pid red. V. P. Shirobokova. K.: NTUU "KPI". 2015. 204 s.

4. Procenko M. V., Jagudina R. I. Biotehnologicheskie lekarstvennyye sredstva i biopodobnyye preparaty: obzor prakticheskogo primeneniya i normativnoj bazy regulirovaniya obrashheniya. *Farmakojekonomika*. 2010. T. 3, № 4. S. 13-21.
5. Akash M. S. H., Rehman K., Tariq M., Chen S. Development of therapeutic proteins: advances and challenges. *Turkish J. Biol.* 2015. № 39. P. 1-16.
6. Milenic D. E., Brady E. D., Brechbiel M. W. Antibody-targeted radiation cancer therapy. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2004. Vol. 3 (6). P. 488-499.
7. Sanchez-Garcia L., Martín L., Mangues R., Ferrer-Miralles N., Vázquez E., Villaverde A. Recombinant pharmaceuticals from microbial cells: a 2015 update. *Microbial Cell. Factories*. 2016. № 15:33. P. 1-7.
8. Žerek B., Rózga P. Recombinant protein therapeutics – the future is here. *Laborant*. № 4. P. 34-37.
9. Galkin A. Ju., Gorshunov Ju. V., Besarab A. B., Lucenko T. N., Grishina A. S. Vliyanie dobavok rastitel'nogo proishozhdeniya k pitatel'noj srede na uroven' biosinteza rekombinantnogo belka bakterijami *Escherichia coli*. *Visnik Zaporiz'kogo nacional'nogo universitetu. Biologichni nauki*. 2015. №1. S. 184-194.
10. Lucenko T. N., Galkin A. Ju. Obosnovanie biotehnologicheskikh podhodov poluchenija interlejkina-7 cheloveka rekombinantnogo. *Trudy Belorusskogo gosudars'vennogo tehngicheskogo universiteta. Seriya "Himija, tehnologija organicheskikh veshhestv i biotehnologija"*. 2015. № 4 (177). S. 188-197.
11. Petrov Ju. P., Cupkina N. V. Osobennosti rosta kul'tury kletok linii SNO. *Citologija*. 2012. № 10. S. 754-760.
12. Janice M., Paquette C. Clinical development of therapeutic recombinant protein. *Drug discovery and genomic technologies*. 2003. Vol. 1 (35). P. 176-183.
13. Posilkina O. V., Litvinova O. V. Perspektivi rozrobki i klinichnogo vikoristannja biosimiljariv v Ukraini. *Klinichna farmacija*. 2014. T. 18, № 1. S. 11-14.
14. Talayeva T. V., Doroshuk L. V., Kudrjavceva I. G. Biotehnologichni likars'ki preparati ta biosimiljari: shho neobhidno znati klinicistam pri priznachenni biosimiljariv. *Ukrayins'kij revmatologichnij zhurnal*. 2015. № 1 (59). S. 3-7.
15. Guidelines on the quality, safety and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology. Geneva: WHO. 2013. 92 p.
16. Alten R., Cronstein B. N. Clinical trial development for biosimilars. *Semin Arthritis Rheum*. 2015. Vol. 44(6). P. 2-8.
17. Braun J., Kudrin A. Progress in biosimilar monoclonal antibody development: the infliximab biosimilar CT-P13 in the treatment of rheumatic diseases. *Immunotherapy*. 2015. Vol. 7(2). P. 73-87.
18. Nastanova ST-N MOZU 42-7.5:2016. Likars'ki zasobi. Zagal'ni principi doklinichnih ta klinichnih doslidzhen' podibnih biologichnih likars'kih zasobiv, jaki mistjat' jak aktivnu substanciju bilki, otrimani za dopomogoj biotehnologij. K.: MOZ Ukraïni. 2016. 132 s.

УДК 616-001.4-085.33:615.03.032:612-092.9

ВПЛИВ МЕЛАНІНУ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ШКІРИ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМИ РАНАМИ

Табурець О. В., Верещака В. В., Берегова Т. В., Остапченко Л. І.

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка

ННЦ "Інститут біології та медицини"

03127, Україна, Київ, просп. Академіка Глушкова, 2

olesya8@ukr.net

Встановлено, що при травмуванні шкіри розвиваються деструктивні зміни в епідермісі та дермі шкіри, ступінь яких залежить від терміну експерименту. Виявлено, що використання нової фармакологічної композиції на основі меланіну призводить до відновлення структури шкіри при її механічних ушкодженнях.
Ключові слова: ризана рана, хімічний опік, меланін, шкіра.

Табурець О. В., Верещака В. В., Береговая Т. В., Остапченко Л. И. ВЛИЯНИЕ МЕЛАНИНА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КОЖИ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМИ РАНАМИ / Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко; 03127, Украина, Киев, ул. Академика Глушкова, 2
Установлено, что при травмировании кожи развиваются деструктивные изменения в эпидермисе и дерме кожи, степень которых зависит от срока эксперимента. Выведено, что использование новой фармакологической композиции на основе меланина приводит к восстановлению структуры кожи при ее механических повреждениях.

Ключевые слова: резаная рана, химический ожог, меланин, кожа.