

**МЕББМ ҚАЗАҚСТАН-РЕСЕЙ
МЕДИЦИНАЛЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ**



**НУО КАЗАХСТАНСКО-РОССИЙСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

Кафедра фармации

Тема: Интерферон

Факультет: Фармация

Группа: 401 А

Проверила: Қадырбаева Г.М

Выполнила: Мухтарбек А.Б.

План

- Введение
- Основная часть
- Получения интерферона биотехнологическим путем
- Заключение
- Список литературы

Введение

В 1957г. Айзекс и Линдеман обнаружили, что клетки животных, инфицированных вирусами, выделяют в сферу фактор, который способен вызывать у гентактных (не обработанных вирусом) клеток устойчивость у вирусной инфекции. Этот фактор был назван интерфероном.

Интерферон относится к протеинам или гликопротеинам, в состав которых включено 146-166 аминокислотных остатков. Молекулярная масса – 20-80 кДальтон.

Вырабатывать интерферон могут клетки позвоночных от рыб до человека, наиболее активными продуцентами интерферона являются лимфоциты и макрофаги. Наиболее активными индукторами среди вирусов являются вирус Ньюкаслской болезни, вирус Сендай, чумы свиней.

ЭФФЕКТЫ ИНТЕРФЕРОНА

- ОБЛАДАЕТ АКТИВИРУЕМЫМ ДЕЙСТВИЕМ – ИНТЕРФЕРОН НЕ ДЕЙСТВУЕТ НА ВНЕКЛЕТОЧНЫЙ ВИРУС, А ПРОТИВОДЕЙСТВУЕТ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ПУТЕМ УСИЛЕНИЯ ФАГОЦИТОЗА, АКТИВИЗАЦИИ ЕСТЕСТВЕННЫХ КИЛЛЕРНЫХ КЛЕТОК, СТИМУЛИРУЕТ ОБРАЗОВАНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-2, УВЕЛИЧИВАЕТ СИНТЕЗ ФЕРМЕНТОВ.

- ИНГИБИРОВАНИЕ КЛЕТОЧНОГО РОСТА – КАК ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ СРЕДСТВ – СПОСОБЕН ПОДАВЛЯТЬ ДЕЛЕНИЕ ОНКОГЕННЫХ КЛЕТОК ПРИ СОХРАНЕНИИ ФУНКЦИИ АКТИВАЦИИ ВСЕХ ЗВЕНЬЕВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ.

- ОБЛАДАЕТ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

- ОКАЗЫВАЕТ РАДИОЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ

- ИНТЕРФЕРОН ЯВЛЯЕТСЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРОМ – СТИМУЛИРУЕТ ИММУННУЮ СИСТЕМУ ОРГАНИЗМА.

Свойства#	Типы интерферона#		
	α #	β #	γ #
Количество подтипов#	>14 #	≥ 5 #	1#
Клетки-продуценты#	Лейкоциты#	Фибробласты#	T-лимфоциты#
Индукторы#	Вирусы, бактериальные продукты, полимеры#	Синтетические митогены#	T-митогены, лектины, антигены#
Локализация в хромосоме#	9-я#	2-я; 5-я; 9-я#	11-я#
Длина иРНК в килобазах#	0,7-0,8#	0,7-0,8#	#
Наличие интронов#	Нет#	1#	3#
Количество аминокислот #	166#	166#	#
Молекулярная масса#	17500-22000#	20000#	38000-68000#
Активность (МЕ/мг белка)#	$2,4 \cdot 10^8$ #	$2,4 \cdot 10^8$ #	$\geq 5 \cdot 10^7$ #
Отношение к рН 2,0#	Устойчив#	Устойчив#	Чувствителен#
Отношение к температуре 56°C в течение 1 ч#	Устойчив#	Устойчив#	Чувствителен#
Гликозилирование#	-#	+#	+#
Антигенная специфичность#	+#	+#	+#
Наиболее выраженная биологическая активность#	Противовирусная#		Иммуномодулирующая#

РАЗЛИЧАЮТ СЛЕДУЮЩИЕ ВИДЫ ИНТЕРФЕРОНИЗАЦИИ

Экзогенная – введение готового интерферона в организм, использование мазей, содержащих интерферон.

Эндогенная – введение в организм индукторов интерферон, которые стимулируют процесс образования интерферона.

The background is a dark teal gradient. In the corners, there are decorative white and light blue circuit-like patterns consisting of lines and circles, resembling a printed circuit board or a network diagram.

НАИБОЛЕЕ АКТИВНЫМИ ИНДУКТОРАМИ
ИНТЕРФЕРОНА ЯВЛЯЮТСЯ СИНТЕТИЧЕСКИЕ И
ПРИРОДНЫЕ ДВУНИТЕВЫЕ РНК.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ИНДУКТОРОВ IFN:

1



Стимулируют фагоцитоз и биосинтез антител

2



Тормозят рост и метастазирование опухолей

3



Проявляют антиклеточную активность

4



Оказывают радиозащитное действие

5



Увеличивают чувствительность клеток к действию интерферона

6



Принимают участие в регуляции биосинтеза белка в клетке

Поэтапный процесс производства интерферона

1) Подготовка питательной среды, проросших спор для засева и вспомогательных материалов



2) Процесс ферментации



3) Удаление мицеллия из метаболической жидкости, очистка и концентрирование растворов пенициллинов



4) Получение сухих препаратов, их упаковка и хранение

Технологическая схема производства интерферона



Стадии получения интерферона

Суспензию лейкоцитарных клеток, выделенных из крови доноров, обрабатывают вирусом, оказывающим индуцирующий эффект на биосинтез IFN (н-р, вирусом Сендай).

Из лейкоцитов получают и-РНК, которая программирует биосинтез интерферона, при этом концентрация и-РНК в индуцированных лейкоцитах не более 0,1%.

С помощью фермента обратной транскриптазы (ревертазы) на полипептидной основе и-РНК синтезируют комплементарную ей одноцепочечную копию ДНК.

Эукариотический ген в условии *in vitro* перестраивают, удаляя рестриктазой ту часть нуклеотидов, которая кодирует ненужную информацию.

Созданный ген переносят в плазмиду, где он совмещается с бактериальным промотором, а затем вводится в бактериальную клетку-хозяин.

Существуют другие способы получения интерферона

На основе сконструированных рекомбинантных ДНК, экспрессируемых в клетках *E.coli* (α , β , α -IFN).

Возможен синтез химическим путем β и α - интерферона.

Повышение биосинтеза IFN возможно при введении в эукариотическую дрожжевую клетку вектора, на основе которого сконструирована рекомбинантная молекула ДНК с ионами β и α - интерферонов.

Производство IFN с применением моноклональных антител к соответствующему IFN.

Приготовление посевного материала

Будучи помещенным в питательный раствор, этот штамм начнет синтезировать лейкоцитарный интерферон практически в неограниченном количестве. Концентрация его в 1 литре бактериальной суспензии будет в несколько раз выше, чем в том же объеме донорской крови. Количество среды для приготовления 60 тонн интерферона

Компоненты: -Вода дистиллированная – 10000 литров (10000 кг)

- Na_2HPO_4 – 60 кг (содержание основного вещества 98%) -61,22 кг

- K_2HPO_4 – 30 кг (содержание в безводном 98%) – 30,61кг

- NaCl – 5 кг (содержание 98%) – 5,102кг

- NH_4Cl – 10 кг(содержание 99,5) – 10,05кг

- CaCl_2 – раствор 0,1М. Количество раствора в литрах – 100.

Количество безводного хлористого кальция высшего сорта с массовым содержанием 96,5% - 11,502 кг (масса раствора при плотности 1,007 – 100,7кг)

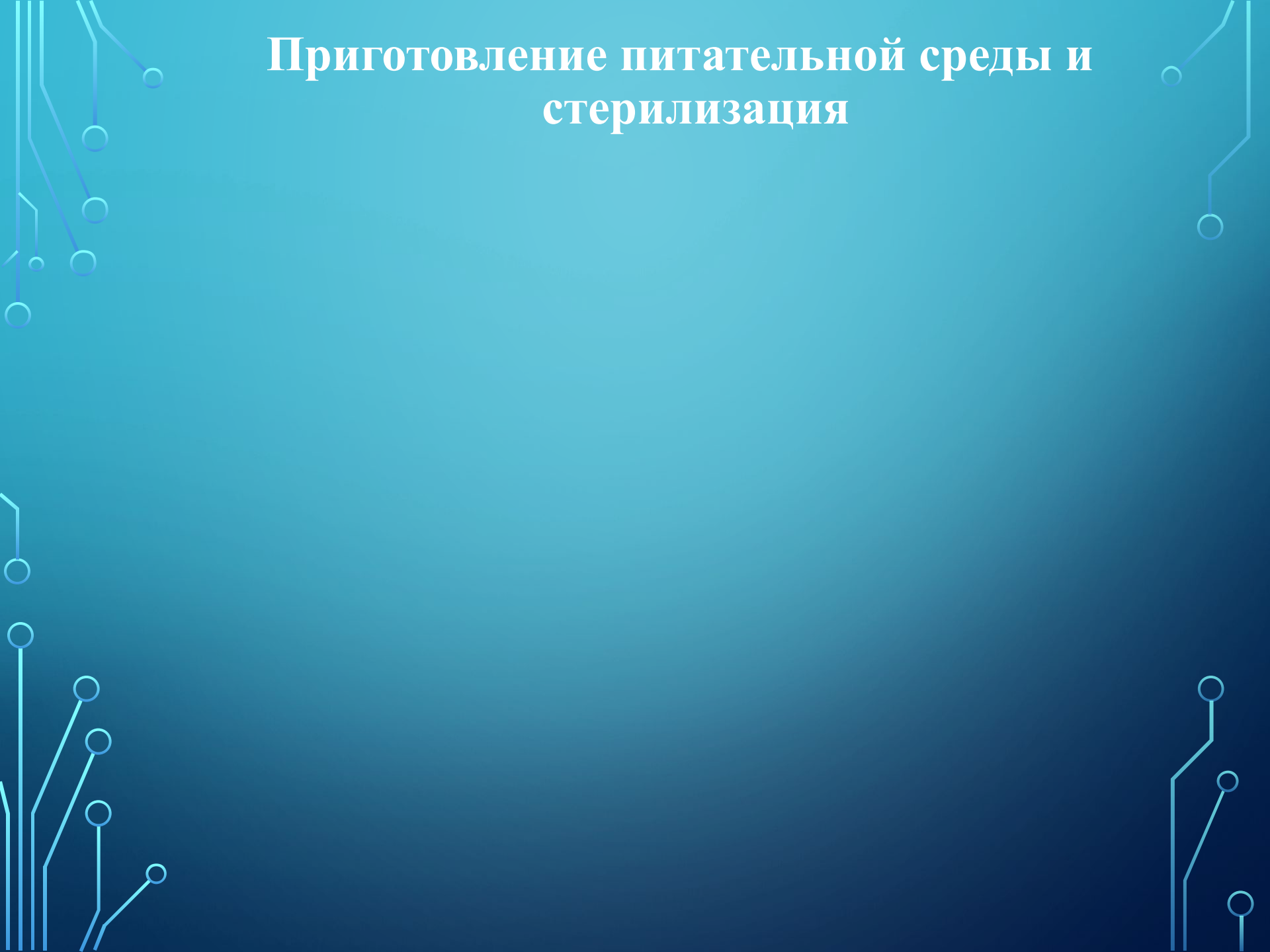
- MgSO_4 – раствор 0,1М. Количество в литрах – 10. Количество безводного MgSO_4 хч с массовым содержанием 99,5% - 0,1206 кг (масса раствора – 100,33кг).

-Глюкоза, 40% - 50 л, при плотности 1,5 – 75 кг.

-Дрожжевой экстракт – 50 кг.

Итого масса среды: 10433,012кг

Приготовление питательной среды и стерилизация



The background is a solid teal color with a subtle gradient. In the four corners, there are decorative white line-art patterns resembling circuit board traces and nodes. The top-left and bottom-left patterns are more complex, with multiple lines and nodes. The top-right and bottom-right patterns are simpler, consisting of a few lines and nodes.

СТАДИЯ ПОДГОТОВКИ ПИТАТЕЛЬНОЙ
СРЕДЫ СОСТОЯТ ИЗ:

Стерилизация питательной среды

The background is a solid teal color. In the four corners, there are decorative white lines that resemble a circuit board or a network diagram. These lines consist of straight segments connected by right-angle turns, ending in small white circles. The lines are more densely packed in the bottom-left and top-left corners, and more sparse in the top-right and bottom-right corners.

Стерилизация воздуха



АППАРАТУРНАЯ СХЕМА ПРОЦЕСС ПОДГОТОВКИ ВОЗДУХА

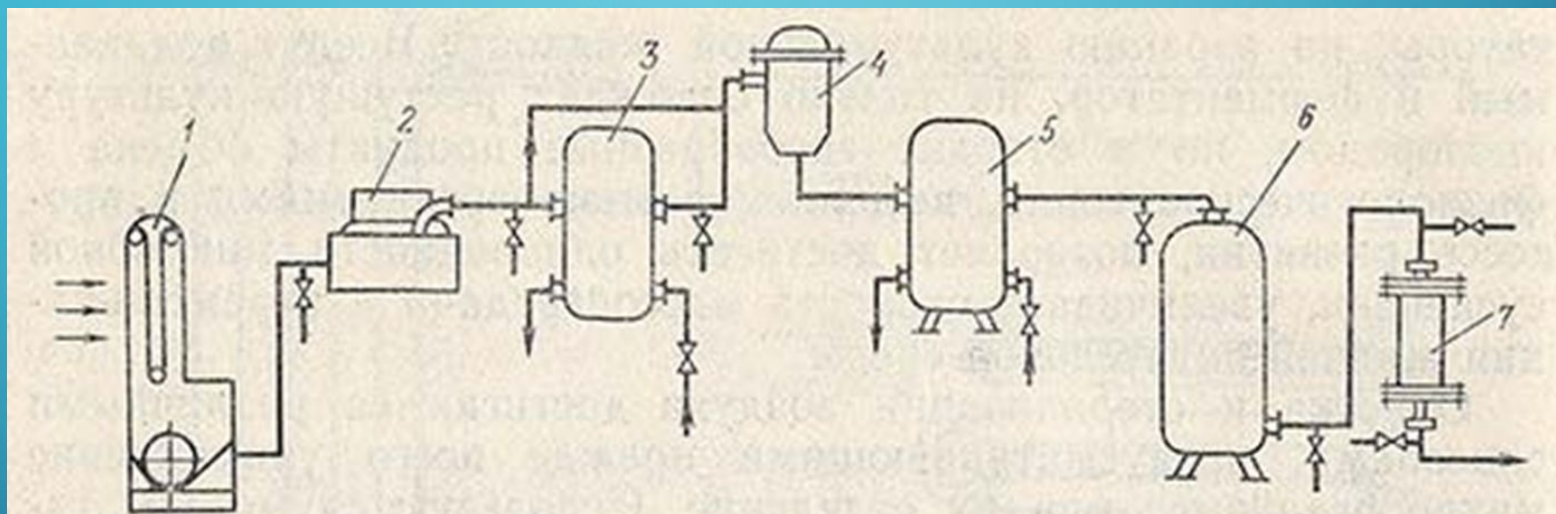


Рис. 2.8. Технологическая схема очистки воздуха:

1 — фильтр предварительной очистки воздуха; 2 — турбокомпрессор; 3 — теплообменник-охладитель; 4 — влагоотделитель; 5 — теплообменник-нагреватель; 6 — головной фильтр; 7 — индивидуальный фильтр

СТЕРИЛИЗАЦИЯ АППАРАТОВ

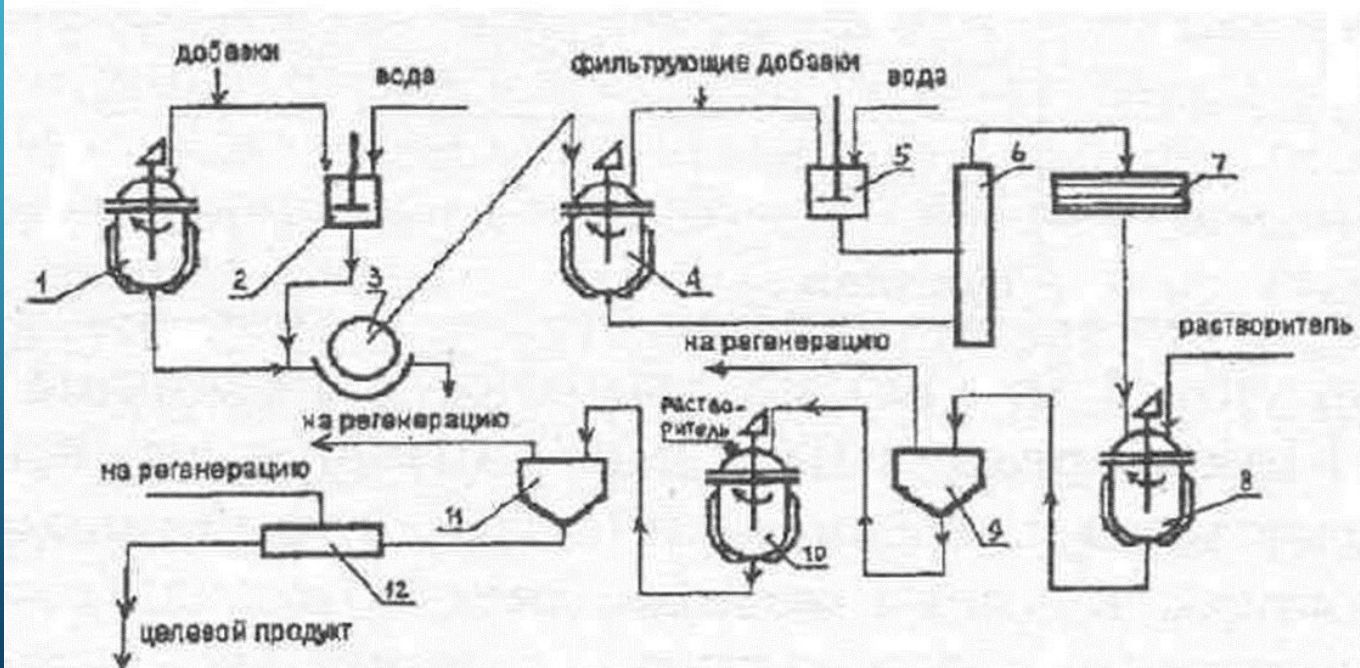
- При стерилизации аппаратуры режимы стерилизации зависят главным образом от материала, из которого изготовлено оборудование и его отдельные узлы. Наибольшая эффективность стерилизации аппаратуры и коммуникаций наблюдается при применении острого пара, имеющего температуру 135–140°C. Но отдельные блоки аппаратов, в том числе датчики измерительных приборов, не выдерживают таких условий стерилизации, и потому в этих случаях могут применяться «холодные» способы стерилизации. Для такой обработки могут быть использованы бактерицидные газы (этилен) и растворы химических реагентов
- Степень стерильности среды, оборудования и коммуникаций может быть проверена. Простерилизованную среду или смывы, произведенные стерильной водой с внутренних поверхностей аппаратов и трубопроводов, высевают на агаризованные или жидкие питательные среды и инкубируют в термостате сутки. Если среды остаются стерильными, то стерилизация проведена качественно.

The background is a solid teal color. In the four corners, there are decorative white line-art patterns resembling circuit board traces and nodes. The top-left and bottom-left patterns are more complex, with multiple lines and nodes. The top-right and bottom-right patterns are simpler, consisting of a few lines and nodes.

ИЗЛОЖЕНИЕ ПРОЦЕССА КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИКОБАКТЕРИЙ И ПОЛУЧЕНИЕ ПЕНИЦИЛЛИНА

ОТДЕЛЕНИЕ БИОМАССЫ ОТ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ

Примерная технологическая схема выделения антибиотика из культуральной жидкости (КЖ): 1 - предварительная обработка КЖ, 2 - подготовка раствора, 3 - первый фильтр, 4 - сборник первого фильтра, 5 подготовка раствора для фильтрации, 6 - дополнительная фильтрация, 7 - стерилизующая фильтрация, 8 - коагуляция растворителем, 9 - предварительное осаждение, 10 - промывание осадка, 11 - вторичное осаждение, 12 - высушивание.



Сводные результаты этапов очистки интерферона альфа-2b из культуральной жидкости штамма-продуцента ВКПМ У-3493

Этап	Описание этапа	Метод очистки	Эффективность этапа (%)	Выход интерферона альфа-2b (%)
0	Культуральная жидкость	-	-	100
1	Отделение биомассы	Центрифугирование	100	100
2	Очистка от обломков клеток	Микрофльтрация	82	82
3	Захват	Катионообменная хроматография на SP-сефарозе	91	75
4	Тонкая очистка	Хроматография на обращенной фазе C 18	74	55
5	Концентрирование	Катионообменная хроматография на CM-сефарозе	90	50

ФАСОВКА, УПАКОВКА И МАРКИРОВКА

-
- Интерферон выпускают в сухом виде в ампулах. Нативный сухой интерферон представляет собой пористый порошок серовато-коричневого цвета, который легко растворяется в дистиллированной воде. Растворенный препарат имеет розовато-красный цвет с опалесценцией. Допускается слабый коричневый оттенок раствора. Концентрированный сухой препарат - пористый порошок серовато-белого цвета, также легко растворяющийся в дистиллированной воде. Раствор препарата имеет сероватый цвет с опалесценцией, допустим слабый желтовато-коричневый оттенок. Посторонние примеси содержаться не должны.
- Препарат хранят при температуре 4 °С. Срок годности 1 год. По истечению его может быть проведен переконтроль в институте, изготовившем данную серию препарата. При сохранении физических свойств и активности срок годности препарата может быть продлен еще на 3 месяца.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

1) Внешний вид и растворимость.

Пенициллины представляют собой твердые вещества белого цвета. Растворимость в воде и других растворителях зависит от того, в какой форме (кислотной или солевой) находится вещество и от природы катиона, входящего в состав солевой формы.

2) Прозрачность и цветность.

Данный показатель определяется для многих пенициллинов. Водные растворы растворимых солевых форм антибиотиков должны быть прозрачны. Для определения цветности у некоторых пенициллинов (натриевые соли ампициллина, амоксициллина) измеряют оптическую плотность раствора при 430 нм. Она не должна быть большей данной величины.

3) рН растворов.

Устойчивость пенициллинов зависит от рН, поэтому определение данного показателя является обязательным при контроле качества субстанций пенициллинов (табл.3). Водные растворы солей бензилпенициллина, карбенициллина, оксалицилина и пиперациллина имеют среду близкую к нейтральной, кислотных форм пенициллинов (феноксиметилпенициллина и, в меньшей степени, ампициллина) - кислую, а натриевых солей ампициллина и амоксициллина - щелочную.

4)Родственные соединения.

В качестве родственных соединений в субстанциях пенициллинов могут содержаться:

- другие пенициллины (например, бензилпенициллин в феноксиметилпенициллине);
- 6-аминопенициллановая кислота;
- кислота, ацильный остаток, который входит в состав молекулы пенициллина (например, фенилуксусная кислота для бензилпенициллина, фенилмалоновая для карбоксиметилпенициллина);
- продукты разрушения пенициллинов - соответствующие пенициллоиновые, пениллоиновые и пенилловые кислоты;

- 5) Вода или потеря в массе при высушивании.
- Данный показатель определяют для всех пенициллинов. Наименьшее содержание воды характерно для феноксиметилпенициллина, наибольшее - для ампициллина тригидрата.
- 6) Стерильность, бактериальные эндотоксины.
- Данные показатели определяют для пенициллинов, которые применяются парентерально (натриевые соли полусинтетических пенициллинов, все соли бензилпенициллина). Исследуемые пенициллины должны соответствовать испытанию на стерильность, а содержание эндотоксинов в них не должно превышать определенной величины.

Таким образом создан штамм-продуцент *E. coli*, синтезирующий IFN в высоких концентрациях.

В 1л полученной бактериальной суспензии содержится около 5 мг α -IFN, что в 5тыс. раз больше того количества, которое можно получить из 1л донорской крови.

Заключение

Человеческий лейкоцитарный интерферон выпускают вирусологически и бактериологически стерильным. Противовирусная активность нативного препарата должна быть не менее 32 единиц, концентрированного - 100 единиц. Активность определяется титрованием на первичной культуре клеток кожно-мышечной ткани эмбриона человека с вирусом везикулярного стоматита. Противопоказаний к применению препарата нет. Интерферон не реактогенен, не вызывает побочных явлений.

Однако применение интерферона имеет ряд недостатков: короткий период сохранения в организме (до 12ч.) Препарат применяется в основном только парэнтерально. Через 2-3 дня после применения интерферона наблюдается угнетение защитных функций иммунной системы, что может привести к быстрому размножению в организме условно-патогенной микрофлоры. Возможны аллергические реакции при длительном применении.

Список литературы

1. Государственная Фармакопея РК
2. Ю.М.Краснопольский, Н.Ф.Клещев «Фармацевтическая биотехнология: производство биологических активных веществ» учебное пособие.
<https://ru.wikipedia.ru>
3. http://studbooks.net/1920355/meditsina/proizvodstvo_interferona
4. <https://meduniver.com/Medical/Biology/294.html>