

SADRŽAJ

| | |
|--|-----------|
| 1. UVOD U FARMACEUTSKU BIOTEHNOLOGIJU | 1 |
| 1.1. Razvoj biotehnologije i farmaceutske biotehnologije..... | 2 |
| 1.1.1. <i>Istorijski razvoj farmaceutske industrije.....</i> | <i>4</i> |
| 1.1.2. <i>Nova era u razvoju farmaceutske industrije</i> | <i>5</i> |
| 1.2. Izvod | 12 |
| 2. POSTUPAK LICENCIRANJA BIOFARMACEUTIKA I REGULATIVA U BIOFARMACEUTSKOJ PROIZVODNJI | 13 |
| 2.1. Proizvodna regulativa biotehnoloških postupaka..... | 16 |
| 2.1.1. <i>Regulativa bioloških procesa sa korišćenjem genetičkih manipulacija.....</i> | <i>18</i> |
| 2.1.2. <i>Patentiranje u farmaceutskoj industriji i biotehnologiji.....</i> | <i>20</i> |
| 2.2. Izvod | 23 |
| 3. VRSTE ĆELIJA KOJE SE KORISTE U PROIZVODNJI BIOFARMACEUTIKA I TEHNIKE NJIHOVE KULTIVACIJE | 25 |
| 3.1. Biotehnološki procesi | 25 |
| 3.2. Vrste i karakteristike ćelija koje se koriste za proizvodnju biofarmaceutika.. | 28 |
| 3.2.1. <i>Prokariotske ćelije.....</i> | <i>29</i> |
| 3.2.2. <i>Eukariotske ćelije.....</i> | <i>31</i> |
| 3.2.3. <i>Osnovne razlike između prokariotske i eukariotske ćelije.....</i> | <i>34</i> |
| 3.2.4. <i>Virusi.....</i> | <i>34</i> |
| 3.3. Ćelije od industrijskog značaja - proizvodne ćelije | 36 |
| 3.4. Izvori ćelija..... | 39 |
| 3.5. Izolacija i selekcija mikrobnih ćelija | 40 |
| 3.5.1. <i>Izolacija mikroorganizama.....</i> | <i>41</i> |
| 3.5.2. <i>Selekcija mikroorganizama</i> | <i>42</i> |
| 3.5.3. <i>Poboljšanje proizvodnih osobina mikroorganizama.....</i> | <i>43</i> |
| 3.6. Animalna ćelijska kultura | 44 |
| 3.6.1. <i>Izolacija animalnih ćelijskih kultura</i> | <i>45</i> |
| 3.6.1.1. <i>Direktno izolovanje ćelija iz tkiva.....</i> | <i>45</i> |
| 3.6.2. <i>Tipovi animalnih ćelija.....</i> | <i>47</i> |
| 3.6.3. <i>Normalne i transformisane ćelije.....</i> | <i>48</i> |
| 3.6.4. <i>Diferenciranje animalnih ćelija</i> | <i>50</i> |
| 3.7. Biljne ćelije i njihova izolacija i mikro–propagacija | 51 |
| 3.7.1. <i>Mikropropagacija biljaka</i> | <i>51</i> |
| 3.8. Čuvanje proizvodnih ćelija | 54 |
| 3.9. Hranjive podloge za gajenje ćelija | 55 |
| 3.9.1. <i>Hranjive podloge za gajenje mikrobnih ćelija</i> | <i>56</i> |
| 3.9.1.1. <i>Formulisanje hranjive podloge za gajenje mikroorganizama</i> | <i>61</i> |
| 3.9.2.1. <i>Održavanje pH vrednosti u podlozi za gajenje animalnih ćelija</i> | <i>64</i> |
| 3.9.2.2. <i>Dodaci hranjivoj podlozi za gajenje animalnih ćelija.....</i> | <i>65</i> |
| 3.9.3. <i>Hranjiva podloga za gajenje biljnih ćelija</i> | <i>67</i> |
| 3.10. Industrijska proizvodnja biofarmaceutika gajenjem ćelija u bioreaktorima | 67 |
| 3.10.1. <i>Režim rada bioreaktora.....</i> | <i>70</i> |
| 3.10.1.1. <i>Šaržni režim rada bioreaktora</i> | <i>72</i> |

| | |
|--|------------|
| 3.10.1.2. Dolivni režim rada bioreaktora | 72 |
| 3.10.1.3. Postupak sa perfuzijom supstrata | 73 |
| 3.10.1.4. Kontinualni režim rada bioreaktora | 74 |
| 3.11. Tipovi reaktora koji se koriste za proizvodnju biofarmaceutika | 75 |
| 3.11.1. Sistemi za kultivaciju animalnih ćelija..... | 75 |
| 3.11.1.1. Oprema za kultivaciju animalnih ćelija..... | 76 |
| 3.11.1.2. Tipovi bioreaktora za gajenje animalnih ćelija | 79 |
| 3.11.2. Sistemi za kultivaciju biljnih ćelija..... | 86 |
| 3.11.2.1. Bioreaktori za kulture u suspenziji | 86 |
| 3.11.2.2. Bioreaktori sa imobilisanim ćelijama | 89 |
| 3.11.2.3. Bioreaktori sa organizovanim tkivom | 90 |
| 3.12. Izvod | 92 |
| 4. GENETIČKO INŽENJERSTVO U PROIZVODNJI BIOFARMACEUTIKA | 95 |
| 4.1. DNK kao osnova prenosa informacija u ćelijama | 95 |
| 4.1.1. Replikacija DNK | 98 |
| 4.1.2. Transkripcija: prepisivanje poruke | 101 |
| 4.1.2.1. Razlike u transkripciji kod prokariotskih i eukariotskih ćelija | 103 |
| 4.1.3. Translacija genetičkih informacija: prenos poruke do proizvoda..... | 104 |
| 4.1.4. Posttranslacione promene proteina..... | 109 |
| 4.1.4.1. Prostorno uređivanje proteina..... | 109 |
| 4.1.4.2. Dodavanje signalne sekvence | 111 |
| 4.1.4.3. Glikozilacija | 111 |
| 4.2. Osnovne tehnike genetičkog inženjerstva..... | 112 |
| 4.2.1. Izolacija i prečišćavanje nukleinskih kiselina..... | 114 |
| 4.2.2. Tehnika komplementarne DNK..... | 114 |
| 4.2.3. Restrikcioni enzimi - endonukleaze..... | 116 |
| 4.2.4. DNK ligaze | 117 |
| 4.2.5. Vektori..... | 118 |
| 4.2.6. Plazmidi..... | 119 |
| 4.2.7. Prenos gena..... | 121 |
| 4.2.8. Genetički markeri | 127 |
| 4.2.9. Tehnika repliciranih ploča | 128 |
| 4.2.10. Tehnika PCR..... | 129 |
| 4.2.11. DNK probe..... | 131 |
| 4.2.12. Tehnika " paljbe" | 132 |
| 4.2.13. Tehnika isključivanja gena..... | 132 |
| 4.2.14. Sinteza gena | 133 |
| 4.2.15. Gel -elektroforeza..... | 133 |
| 4.3. Genetički inženjerizovani sistemi za proizvodnju rekombinantnih proteina | 134 |
| 4.3.1. Uticaj proizvoda na procesnu strategiju..... | 135 |
| 4.3.2. Pregled sistema domaćina | 137 |
| 4.3.2.1. <i>Escherichia coli</i> | 139 |
| 4.3.2.2. Gram pozitivne bakterije | 142 |
| 4.3.2.3. Niže eukariotske ćelije | 143 |
| 4.3.2.4. Ćelije sisara | 146 |
| 4.3.2.5. Sistem ćelije insekata-baculovirus | 148 |

| | |
|---|------------|
| 4.3.2.6. Korišćenje transgenih životinja | 149 |
| 4.3.2.7. Korišćenje transgenih biljaka i kulture biljnog tkiva..... | 150 |
| 4.3.2.8. Poređenje različitih sistema i strategija | 151 |
| 4.4. Ograničenja procesa proizvodnje rekombinantnih proteina: genetička nestabilnost | 153 |
| 4.4.1. Segregacioni gubitak | 154 |
| 4.4.2. Strukturna nestabilnost plazmida..... | 156 |
| 4.4.3. Mutacije ćelija domaćina..... | 156 |
| 4.4.4. Nestabilnost uslovljena većom brzinom rasta | 157 |
| 4.5. Projektovanje i konstrukcija plazmida | 157 |
| 4.6. Genomika i proteomika u razvoju novih biofarmaceutika..... | 162 |
| 4.6.1. DNK mikroserije (engleski "DNA microarrays")..... | 166 |
| 4.6.2. Proteomika | 168 |
| 4.6.3. Strukturna genomika..... | 171 |
| 4.6.4. Farmakogenetika | 171 |
| 4.7. Izvod | 173 |
| 5. GENSKA TERAPIJA | 175 |
| 5.1. Osnovi genske terapije | 176 |
| 5.2. Vektori koji se koriste u genskoj terapiji | 180 |
| 5.2.1. Retrovirusni vektori | 180 |
| 5.2.2. Drugi vektori na bazi virusa | 184 |
| 5.2.3. Proizvodnja virusnih vektora..... | 186 |
| 5.2.4. Nevirusni vektori za gensku terapiju..... | 187 |
| 5.2.4.1. Proizvodnja plazmidne DNK | 190 |
| 5.3. Primeri korišćenja genske terapije | 192 |
| 5.3.1. Korišćenje genske terapije za lečenje genetičkih bolesti..... | 192 |
| 5.3.2. Korišćenje genske terapije za lečenje kancera..... | 195 |
| 5.3.3. Korišćenje genske terapije za lečenje AIDS-a..... | 196 |
| 5.3.4. Sprečavanje dejstva gena (tehnika besmislenih gena)..... | 197 |
| 5.4. Izvod | 198 |
| 6. PROIZVODNJA ANTIBIOTIKA | 199 |
| 6.1. Istorijat proizvodnje antibiotika | 199 |
| 6.2. Upotreba antibiotika | 203 |
| 6.3. Mehanizam delovanja antibiotika..... | 204 |
| 6.4. Jedinice biološke aktivnosti antibiotika..... | 204 |
| 6.5. Analiza antibiotika | 205 |
| 6.6. Klasifikacija antibiotika..... | 205 |
| 6.6.1. Osnovne karakteristike β -laktamskih antibiotika | 207 |
| 6.6.2. Penicilini | 208 |
| 6.6.3. Cefalosporini..... | 211 |
| 6.6.4. Drugi β -laktamski antibiotici..... | 213 |
| 6.6.5. Inhibitori β -laktamaze | 213 |
| 6.6.6. Tetraciklini..... | 214 |
| 6.6.7. Makrolidni antibiotici | 215 |
| 6.6.8. Aminoglukozidni antibiotici | 217 |
| 6.6.9. Glikopeptidni antibiotici | 218 |

| | |
|--|------------|
| 6.6.10. Streptogramini | 219 |
| 6.6.11. Lipopeptidni antibiotici..... | 220 |
| 6.6.12. Bacitracin i drugi peptidni antibiotici | 221 |
| 6.6.13. Bakteriocini..... | 221 |
| 6.6.14. Polienski antibiotici | 222 |
| 6.6.15. Griseofulvin..... | 223 |
| 6.7. Industrijska proizvodnja antibiotika..... | 224 |
| 6.7.1. Priprema proizvodnog mikroorganizma..... | 224 |
| 6.7.1.1. Mikroorganizmi producenti antibiotika | 224 |
| 6.7.1.2. Selekcija i održavanje proizvodnih mikroorganizama | 225 |
| 6.7.1.3. Uvećanje razmera..... | 227 |
| 6.7.2. Faza fermentacije antibiotika..... | 228 |
| 6.7.2.1. Hranjiva podloga za rast mikroorganizama | 229 |
| 6.7.2.2. Hranjiva podloga za proizvodnju antibiotika | 229 |
| 6.7.2.3. Uklanjanje pene u toku proizvodnje | 230 |
| 6.7.2.4. pH | 230 |
| 6.7.2.5. Rastvoreni kiseonik..... | 231 |
| 6.7.2.6. Temperatura | 231 |
| 6.7.3. Izdvajanje i prečišćavanje antibiotika | 231 |
| 6.7.4. Pravci razvoja fermentacione proizvodnje antibiotika..... | 233 |
| 6.8. Izvod | 234 |
| 7. BIOTEHNOLOŠKA PROIZVODNJA VITAMINA | 235 |
| 7.1. Mikrobiološka proizvodnja vitamina iz grupe b | 236 |
| 7.1.1. Vitamin B ₂ - riboflavin..... | 237 |
| 7.1.1.1. Mikroorganizmi producenti riboflavina | 238 |
| 7.1.1.2. Industrijski postupci za dobijanje riboflavina | 239 |
| 7.1.1.3. Fermentaciono – hemijski postupak | 239 |
| 7.1.1.4. Direktna fermentacija..... | 240 |
| 7.1.1.5. Izolovanje riboflavina..... | 242 |
| 7.1.1.6. Određivanje vitamina B ₂ | 242 |
| 7.1.2. Vitamin B ₁₂ – cijanokobalamin..... | 242 |
| 7.1.2.1. Rasprostranjenost i biološka uloga vitamina B ₁₂ | 244 |
| 7.1.2.2. Biosinteza vitamina B ₁₂ | 245 |
| 7.1.2.3. Mikrobiološka proizvodnja vitamina B ₁₂ | 246 |
| 7.1.2.4. Izolovanje vitamina B ₁₂ | 248 |
| 7.1.2.5. Određivanje vitamina B ₁₂ | 249 |
| 7.2. β-karoten- provitamin A..... | 249 |
| 7.2.1. Struktura β-karotena | 250 |
| 7.2.2. Biološka uloga β-karotena i vitamina A..... | 251 |
| 7.2.3. Mikrobiološka proizvodnja β-karotena | 252 |
| 7.2.4. Merenje spektra apsorpcije karotenoida | 253 |
| 7.3. Vitamin D₂ i ergosterol (provitamin D₂)..... | 254 |
| 7.3.1. Hemijska struktura ergosterola, vitamina D ₂ i vitamina D ₃ i njihova biosinteza..... | 255 |
| 7.3.2. Mikrobiološka proizvodnja ergosterola..... | 257 |
| 7.3.3. Izolovanje ergosterola..... | 258 |

| | |
|--|------------|
| 7.3.4. <i>Određivanje ergosterola</i> | 259 |
| 7.4. Vitamin C – L askorbinska kiselina | 259 |
| 7.4.1. <i>Biološka funkcija</i> | 260 |
| 7.4.2. <i>Struktura</i> | 261 |
| 7.4.3. <i>Biosinteza vitamina C</i> | 262 |
| 7.4.3.1. <i>Biotehnološka proizvodnja vitamina C</i> | 263 |
| 7.5. Izvod | 267 |
| 8. ANTITELA I VAKCINE | 269 |
| 8.1. Poliklonska antitela i njihova proizvodnja | 269 |
| 8.2. Proizvodnja monoklonskih antitela | 275 |
| 8.2.1. <i>Imunizacija</i> | 275 |
| 8.2.2. <i>Hibridizacija ćelija - postupak fuzije</i> | 277 |
| 8.2.3. <i>Selekcija ćelija</i> | 278 |
| 8.2.4. <i>Testovi za određivanje koncentracije monoklonskih antitela</i> | 281 |
| 8.2.4.1. <i>ELISA test</i> | 281 |
| 8.2.4.2. <i>RIA- radioimunotest</i> | 285 |
| 8.2.4.3. <i>Afinitivno vezivanje</i> | 285 |
| 8.2.4.4. <i>Imuno gel-elektroforeza</i> | 285 |
| 8.2.5. <i>Terapeutsko korišćenje monoklonskih antitela</i> | 285 |
| 8.2.6. <i>Monoklonska antitela namenjena za tretman kancera</i> | 287 |
| 8.2.6.1. <i>Strategije za detekciju i destrukciju tumora pomoću antitela</i> | 288 |
| 8.2.6.2. <i>Klinički rezultati prve generacije anti-tumornih antitela</i> | 292 |
| 8.2.7. <i>Nove generacije monoklonska antitela</i> | 293 |
| 8.2.8. <i>Druga terapeutska korišćenja monoklonska antitela</i> | 294 |
| 8.3. Vakcine | 295 |
| 8.3.1. <i>Proizvodnja vakcina</i> | 298 |
| 8.3.1.1. <i>Proizvodnja bakterijskih vakcina</i> | 298 |
| 8.3.1.2. <i>Proizvodnja virusnih vakcina</i> | 299 |
| 8.3.1.3. <i>Rekombinantne vakcine</i> | 302 |
| 8.3.2. <i>Formulacije vakcina</i> | 304 |
| 8.4. Izvod | 305 |
| 9. CITOKINI: INTERFERONI I INTERLEUKINI | 307 |
| 9.1. Citokini | 307 |
| 9.1.1. <i>Osnovne karakteristike citokina</i> | 309 |
| 9.1.2. <i>Receptori citokina</i> | 315 |
| 9.1.3. <i>Citokini kao biofarmaceutici</i> | 315 |
| 9.2. Interferoni | 316 |
| 9.2.1. <i>Biohemija i proizvodnja interferona</i> | 318 |
| 9.3. Interleukini | 323 |
| 9.3.1. <i>Interleukin - 1</i> | 324 |
| 9.3.2. <i>Interleukin - 2</i> | 327 |
| 9.3.2.1. <i>Interleukin - 2 u tretmanu kancera</i> | 329 |
| 9.3.2.2. <i>Interleukin - 2 u tretmanu infektivnih bolesti</i> | 330 |
| 9.3.2.3. <i>Inhibicija aktivnosti interleukina - 2</i> | 331 |
| 9.3.3. <i>Interleukin - 3</i> | 333 |
| 9.3.4. <i>Interleukin - 4</i> | 333 |

| | |
|--|-----|
| 9.3.5. Interleukin – 5..... | 335 |
| 9.3.6. Interleukin – 6..... | 337 |
| 9.3.7. Interleukini – 7 i 8 | 338 |
| 9.3.8. Interleukin – 12..... | 339 |
| 9.4. Tumor nekrosis faktor (TNF)..... | 340 |
| 9.4.1. Biološke aktivnosti TNF- α | 341 |
| 9.4.1.1. Uticaj TNF- α na imuni odgovor i na inflamaciju | 342 |
| 9.4.1.2. TNF receptori | 343 |
| 9.5. Izvod | 347 |
| 10. HEMATOPOETSKE FAKTORI RASTA | 349 |
| 10.1. Hematopoeza..... | 349 |
| 10.2. Interleukini kao hematopoetski faktori rasta | 351 |
| 10.3. Stimulirajući faktor kolonija granulocita (g-csf)..... | 352 |
| 10.4. Stimulirajući faktor kolonija makrofaga (m-csf) | 352 |
| 10.5. Stimulirajući faktor kolonija granulocita-makrofaga (gm-csf)..... | 353 |
| 10.5.1. Klinička primena CSF | 354 |
| 10.6. Eritropoetin (EPO)..... | 356 |
| 10.6.1. Eritropoetin kao terapeutik..... | 357 |
| 10.7. Trombopoetin | 359 |
| 10.8. Izvod | 360 |
| 11. INSULIN I DRUGI HORMONI OD TERAPEUTSKOG INTERESA..... | 361 |
| 11.1. Insulin | 362 |
| 11.1.1. Diabetes melitus | 364 |
| 11.1.2. Stuktura insulinskog molekula..... | 366 |
| 11.1.3. Proizvodnja insulina | 369 |
| 11.1.4. Enzimski konverzija svinjskog insulina | 372 |
| 11.1.5. Proizvodnja humanog insulina pomoću tehnologije rekombinantne DNK..... | 373 |
| 11.1.6. Formulacije insulinskih proizvoda..... | 376 |
| 11.1.7. Inženjerizovani insulini | 377 |
| 11.1.8. Razvoj sistema za administraciju insulina i novih terapeutskih metoda.. | 379 |
| 11.2. Glukagon | 380 |
| 11.3. Humani hormon rasta | 383 |
| 11.3.1. Receptor hormona rasta | 384 |
| 11.3.2. Biološki dejstvo GH..... | 385 |
| 11.3.3. Terapeutsko dejstvo hormona rasta | 386 |
| 11.3.3.1. Terapeutsko dejstvo na patuljast rast usled poremećaja dejstva hipofize | 387 |
| 11.3.3.2. Idiopatski nizak rast i Tarnerov sindrom..... | 387 |
| 11.3.3.3. Uticaj hormona rasta na metabolizam | 388 |
| 11.3.3.4. Uticaj hormona rasta na laktaciju i ovulaciju..... | 389 |
| 11.3.4. Proizvodnja rekombinantnog humanog hormona rasta..... | 389 |
| 11.4. Gonadotropini..... | 390 |
| 11.4.1. Stimulirajući hormon folikula (FSH), luteinizirajući hormon (LH) i humani horioni gonadotropin (hCG)..... | 391 |
| 11.4.1.1. Regulacija proizvodnje gonadotropina..... | 395 |

| | |
|--|------------|
| 11.4.1.2. Korišćenje gonadotropina u medicini i veterini | 396 |
| 11.4.1.3. Rekombinantni gonadotropini | 399 |
| 11.4.1.4. Gonadotropinski rilizing hormoni (GnRH)..... | 400 |
| 11.5. Izvod | 401 |
| 12. KRVNI PROIZVODI I DRUGI TERAPEUTSKI ENZIMI | 403 |
| 12.2. Zgrušavanje krvi - koagulacija | 404 |
| 12.2.1. <i>Poremećaji zgrušavanja krvi</i> | <i>408</i> |
| 12.2.1.1. <i>Faktor VIII.....</i> | <i>409</i> |
| 12.2.1.2. <i>Faktori IX, VIIa i XIII.....</i> | <i>412</i> |
| 12.3. Antikoagulant i trombolitički agensi | 413 |
| 12.3.1. <i>Antikoagulant i</i> | <i>413</i> |
| 12.3.1.1. <i>Heparin.....</i> | <i>414</i> |
| 12.3.1.2. <i>Antimetaboliti vitamina K.....</i> | <i>416</i> |
| 12.3.1.3. <i>Hirudin.....</i> | <i>417</i> |
| 12.3.1.4. <i>Antitrombin.....</i> | <i>420</i> |
| 12.3.1.5. <i>Protein C.....</i> | <i>421</i> |
| 12.3.2. <i>Trombolitični agensi.....</i> | <i>422</i> |
| 12.3.2.1. <i>Tkivni plazminogen aktivator.....</i> | <i>423</i> |
| 12.3.2.2. <i>Streptokinaza</i> | <i>427</i> |
| 12.3.2.3. <i>Urokinaza</i> | <i>428</i> |
| 12.3.2.4. <i>Stafilokinaza</i> | <i>429</i> |
| 12.3.2.5. <i>Drugi enzimi od terapeuskog značaja</i> | <i>430</i> |
| 12.4. Izvod | 431 |
| 13. BIOFARMACEUTICI NA BAZI BILJAKA..... | 433 |
| 13.1. <i>Nova generacija lekova na bazi transgenih biljaka i kulture biljnih ćelija ..</i> | <i>434</i> |
| 13.2. <i>Proizvodnja transgenih biljaka i regulacija njihove proizvodnje</i> | <i>437</i> |
| 13.3. <i>Pravci razvoja proizvodnje farmaceutskih preparata na bazi biljaka</i> | <i>440</i> |
| 13.4. <i>Izvod</i> | <i>441</i> |
| LITERATURA | 443 |