

OBSAH:

| | |
|--|----|
| 1. Úvod - Biotechnologie a výroba léčiv | 7 |
| 1.1. Historický přehled | 7 |
| 1.2. Moderní biotechnologické postupy v humánní medicíně a její ekonomické aspekty | 9 |
| 1.2.1. Náhrada chybějících peptidů či proteinů | 13 |
| 1.2.2. Protilátky použité pro blokování funkce proteinů | 13 |
| 1.2.3. Geny použité pro léčení | 13 |
| 1.2.4. Buněčné transplantace | 14 |
| 1.2.5. Stimulace imunitního systému | 14 |
| 1.2.6. Potlačení imunitního systému | 14 |
| 1.2.7. Xenotransplantace | 15 |
| 1.2.8. Použití biopolymerů | 15 |
| 1.2.9. Regenerativní medicína | 15 |
| 1.2.10. Vakcíny | 15 |
| 2. Biomakromolekulární látky a jejich stavební kameny | 17 |
| 2.1. Nukleové kyseliny | 17 |
| 2.1.1. DNA | 17 |
| 2.1.2. RNA | 18 |
| 2.1.3. Transkripce | 19 |
| 2.1.4. Translace | 20 |
| 2.2. Aminokyseliny a proteiny | 21 |
| 2.2.1. Aminokyseliny jako stavební jednotky proteinů | 21 |
| 2.2.2. Proteiny | 28 |
| 2.2.2.1. Posttranslační modifikace proteinů | 29 |
| 2.2.2.2. Disulfidová vazba | 29 |
| 2.2.2.3. Acetylace | 29 |
| 2.2.2.4. Fosforylace | 29 |
| 2.2.2.5. Proteolytické štěpení peptidů | 29 |
| 2.2.2.6. Glykosylace | 30 |
| 2.2.3. Dělení proteinů podle funkce | 34 |
| 2.2.3.1. Stavební proteiny | 34 |
| 2.2.3.2. Enzymy | 36 |
| 2.2.3.3. Komunikace mezi buňkami | 42 |
| 2.2.3.3.1. <i>Hormony</i> | 42 |
| 2.2.3.3.2. <i>Citokiny</i> | 43 |
| 2.2.3.3.3. <i>Neurotransmitery</i> | 45 |
| 2.2.3.3.4. <i>Receptory a iontové kanály</i> | 45 |
| 2.2.3.4. Protilátky podílející se na obranných reakcích organismu | 46 |
| 2.2.3.5. Transportní proteiny | 48 |
| 3. Živý organismus jako zdroj či výrobní nástroj | 50 |
| 3.1. Bakteriální buňky <i>Escherichia coli</i> | 50 |
| 3.2. Bakteriální plasmidové vektory | 51 |
| 3.3. Vnesení plasmidové DNA do bakteriálních buněk | 53 |
| 3.4. Izolace plasmidové DNA | 53 |
| 3.5. Práce s DNA | 54 |
| 3.5.1. Specifické štěpení DNA | 54 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 3.6. | Produkce rekombinantních proteinů | 56 |
| 3.6.1. | Expres v <i>Escherichia coli</i> | 56 |
| 3.6.2. | Promotory | 57 |
| 3.6.3. | Translačně iniciační sekvence | 58 |
| 3.6.4. | Expres v kvasinkách | 58 |
| 3.6.5. | <i>Pichia pastoris</i> | 60 |
| 3.6.6. | Tkáňové buňky, jejich kultivace a využití pro expresi | 61 |
| 3.6.7. | Kultivační nádoby | 64 |
| 3.6.8. | Zvyšování kultivačních objemů | 65 |
| 3.6.9. | Média | 66 |
| 3.6.10. | Příprava stabilně transformovaných buněk | 68 |
| 3.6.11. | Monoklonální protilátky | 69 |
| 3.6.12. | Vektory pro expresi a jejich vnesení do buněk | 70 |
| 3.6.13. | Expres v tkáňových buňkách | 72 |
| 3.6.13.1. | Transientní expres v COS-1 buňkách | 72 |
| 3.6.13.2. | Expres pomocí systému s vakcinia virem | 72 |
| 3.6.13.3. | Expres proteinů v hmyzích buňkách použitím bakulovirových vektorů | 73 |
| 3.6.13.4. | Princip přípravy transgenních rostlin | 74 |
| 4. | Výroba bioléciv | 77 |
| 4.1. | Výroba a správná výrobní praxe | 77 |
| 4.1.2. | Geneticky modifikované organismy a související legislativa | 77 |
| 4.2. | Výrobní prostory a výrobní zařízení | 79 |
| 4.2.1. | Čisté prostory | 79 |
| 4.2.2. | Čištění, dekontaminace, sanitace | 82 |
| 4.2.2.1. | CDS pro výrobní prostory | 82 |
| 4.2.2.2. | CDS pro výrobní zařízení | 82 |
| 4.2.3. | Voda | 83 |
| 4.3. | Dokumentace | 83 |
| 4.3.1. | Standardní operační postupy | 84 |
| 4.3.2. | Specifikace | 84 |
| 4.3.3. | Výrobní postupy od vstupu výchozích látek po balení produktů | 84 |
| 4.3.4. | Záznamy | 85 |
| 4.4. | Lékopis – farmakopea | 85 |
| 4.5. | Úřady kontrolující farmaceutické výroby a postup schvalování | 85 |
| 4.6. | Hlavní zdroje bioléciv | 86 |
| 4.6.1. | Použití <i>E.coli</i> k produkci | 87 |
| 4.6.2. | Použití eukaryotních buněk ze zvířecích zdrojů | 87 |
| 4.6.3. | Další buněčné systémy pro produkci bioléciv | 87 |
| 4.6.3.1. | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 88 |
| 4.6.3.2. | Transgenní zvířata a rostliny | 88 |
| 4.7. | Postup výroby léčiv | 89 |
| 4.7.1. | Upstream processing | 90 |
| 4.7.2. | Downstream processing | 92 |
| 4.7.2.1. | Hlavní operace | 93 |
| 4.7.3. | Analýza finálních produktů | 93 |
| 4.7.3.1. | Možné kontaminanty a jejich analýza | 95 |

| | |
|--|-----|
| 5. Formulace bioléciv | 99 |
| 6. Hlavní bioléciva | 102 |
| 6.1. Obecný úvod | 102 |
| 6.2. Přehled nejvýznamnějších bioléciv..... | 103 |
| 6.2.1. Cytokiny | 103 |
| 6.2.2. Interferony | 103 |
| 6.2.2.1. Produkce a terapeutické použití interferonu - α | 103 |
| 6.2.2.2. Produkce a terapeutické použití interferonu - β | 105 |
| 6.2.2.3. Produkce a terapeutické použití interferonu - γ | 106 |
| 6.2.3. Interleukiny a tumorový nekrotický faktor..... | 106 |
| 6.2.3.1. Produkce a terapeutické použití antagonisty interleukinu-1 a dalších protirevmatických bioléciv..... | 107 |
| 6.2.3.2. Produkce a terapeutické použití interleukinu-2 | 110 |
| 6.2.4. Hematopoetické růstové faktory | 112 |
| 6.2.4.1. Produkce a terapeutické použití ČSFS | 112 |
| 6.2.4.2. Produkce a terapeutické použití erythropoetinu | 113 |
| 6.2.5. Růstové faktory..... | 115 |
| 6.2.5.1. Epidermální růstový faktor..... | 115 |
| 6.2.5.2. Růstový faktor odvozený z krevních destiček - Platelet derived growth factor (PDGF) | 116 |
| 6.2.5.3. Insulinu podobný růstový faktor – 1 (Insulin-like growth factor –1) | 116 |
| 6.2.6. Hormony | 116 |
| 6.2.6.1. Insulin | 116 |
| 6.2.6.2. Lidský růstový hormon..... | 119 |
| 6.2.6.3. Glukagon | 120 |
| 6.2.6.4. Gonádotropní hormony FSH, LH, CG | 121 |
| 6.2.6.5. Další hormony | 122 |
| 6.2.7. Hemofilie a její léčba..... | 123 |
| 6.2.8. Ostatní krevní proteiny | 125 |
| 6.2.9. Snížení srážlivosti – infarkt myokardu a související preparáty | 125 |
| 6.2.10. Použití monoklonálních protilátek | 130 |
| 6.2.10.1. Použití monoklonálních protilátek v léčení rakoviny | 130 |
| 6.2.10.2. Použití monoklonálních protilátek v léčení dalších chorob..... | 134 |
| 6.2.11. Rekombinantní enzymy používané k terapii dalších onemocnění | 135 |
| 6.2.12. Další aplikace | 138 |
| 6.2.13. DNA léčiva | 139 |
| 6.2.14. Vakcíny | 140 |
| 6.2.15. Přehled bioléciv registrovaných do konce roku 2004 | 146 |