

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

**НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ**

**МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
до практичних занять**

Навчальна дисципліна	Методи концентрування та розділення біологічних сполук
Галузь знань	G «Інженерія, виробництво та будівництво»
Спеціальність	G21 «Біотехнології та біоінженерія»
Спеціалізація	Промислова та фармацевтична біотехнологія
Форма навчання	Заочна
Кафедра	Аналітичної, фізичної та колоїдної хімії

Затверджено на засіданні кафедри аналітичної, фізичної та колоїдної хімії
Протокол № 1 від 26 серпня 2025 р.

Розглянуто та затверджено на засіданні ЦМК зі спеціальності І8 «Фармація»
Протокол № 1 від 29 серпня 2025 р.

Автори:

Зайцева Г.М. – завідувачка кафедри аналітичної, фізичної та колоїдної хімії,

Пушкарьова Я.М. – доцентка кафедри аналітичної, фізичної та колоїдної хімії.

Тема заняття № 1:

Основні принципи та етапи розділення та очищення у біотехнології. Методи осадження та екстракції

Компетенції:

- демонструвати знання теоретичних основ downstream processing у біотехнології;
- розуміти фізико-хімічні механізми осадження білків і біомолекул;
- аналізувати ефективність методів екстракції у фармацевтичному виробництві;
- застосовувати принципи розділення для очищення біологічно активних речовин;
- демонструвати здатність до наукового аналізу технологічних процесів.

Мета:

- пояснювати етапи розділення та очищення біопродуктів (primary recovery, purification, polishing);
- класифікувати методи осадження (соляне, ізоелектричне, органічними розчинниками);
- розкрити механізми рідинно-рідинної екстракції;
- проаналізувати вплив рН, температури та іонної сили на процеси очищення;
- оцінювати технологічну доцільність методів у фармацевтичному виробництві.

Обладнання:

1. Лабораторний посуд (колби, пробірки, мірні циліндри).
2. Буферні розчини різного рН.
3. Органічні розчинники (для демонстрації принципів екстракції).
4. рН-метр (для ілюстрації впливу рН)

План та організаційна структура заняття

Назва етапу	Опис етапу	Рівні засвоєння	Час
Підготовчий (15% від тривалості заняття)	Організаційні питання	Ознайомлення	1 хв
	Формування мотивації Актуальність теми: процеси розділення та очищення є	Сприйняття	3 хв

	критичною стадією біотехнологічного виробництва лікарських засобів; саме на цих етапах забезпечується виділення цільового біопродукту (білків, ферментів, антибіотиків) з біологічних середовищ; недосконалість методів очищення може призводити до втрати активності препарату або наявності токсичних домішок, що має безпосереднє клінічне значення.		
	Контроль початкового рівня підготовки (стандартизовані засоби контролю)		8 хв
Основний (65%)	Диспут та обговорення питань відповідно до теми заняття. 1. Основні принципи розділення біомолекул. 2. Фізико-хімічні основи осадження. 3. Механізми екстракції у біотехнології.	Осмислення Розуміння	30 хв
	Практичні завдання. 1. Який метод доцільно застосувати для виділення білка з культуральної рідини: осадження чи екстракцію? Обґрунтуйте. 2. Поясніть, як зміна рН впливає на осадження білків. Студенти працюють у групах та разом формують відповіді на поставлені завдання та їх обґрунтування. Кожна група представляє та захищає свою відповідь.	Застосування на практиці Пошукова творча діяльність	20 хв

	Самостійна робота. Розподілити методи на ті, що базуються на зміні розчинності, та ті, що базуються на розподілі між фазами: осадження солями, органічна екстракція, ізоелектричне осадження, рідинно-рідинна екстракція.	Застосування на практиці Пошукова творча діяльність	5 хв
	Узагальнення знань	Закріплення	5 хв
Заключний (20%)	Контроль кінцевого рівня підготовки (письмове тестування)	Відтворювання	15 хв
	Загальна оцінка навчальної діяльності студента		2 хв
	Інформування студентів про тему наступного заняття та завдання до самостійної роботи		1 хв

Рекомендована література.

Основна:

1. Державна фармакопея України: в 3 т. / ДП “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 2-е вид. – Харків : Державне підприємство “ Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів ”, 2015. – Т.1. – 1128 с.
2. Доклінічне вивчення безпеки лікарських засобів біотехнологічного походження (методичні рекомендації), схвалені на засіданні Науково-експертної ради Державного експертного центру МОЗ. – К., 2011. – 32 с.
3. Особливості біологічних/біотехнологічних продуктів та біосимілярів (методичні рекомендації), схвалені на засіданні Науково-експертної ради Державного експертного центру МОЗ (протокол N 03 від 29.03.2013 р.). – К., 2013. - 38 с.;
4. Подібні біологічні препарати, що містять як активні речовини протеїни, отримані біотехнологічним шляхом. СТ-Н МОЗУ 42-8.0:2013. – Київ, 2013. – 27 с.

Додаткова:

1. Гончарук В. В., Малюк В. І., Соколов В. В. Основи біотехнології та біоінженерії. Київ: Видавничий дім «Слово», 2012
2. Seidman, M., Introduction to Bioprocess Engineering. 2nd ed., Academic Press, 2017.
3. Shukla, A. A., Etzel, M. R., Gadam, S. D. Process Scale Bioseparations for the Biopharmaceutical Industry. Taylor & Francis, 2007.
4. Harrison, R. G., Todd, P., Rudge, S. R., Petrides, D. P. Bioseparations Science and Engineering. 2nd ed., Oxford University Press, 2015.

Питання до самопідготовки студента до практичного заняття:

1. Які фізико-хімічні властивості біомолекул лежать в основі процесів розділення та очищення?
2. Які механізми лежать в основі осадження білків (сольове, ізоелектричне, органічними розчинниками)?
3. У чому полягає принцип рідинно-рідинної екстракції та які фактори впливають на її ефективність?
4. Які переваги та обмеження методів осадження та екстракції при очищенні фармацевтичних біопрепаратів?

Тема заняття № 2:

Мембранні та хроматографічні методи розділення

Компетенції:

- розуміти принципи мембранного розділення (ультрафільтрація, нанофільтрація);
- аналізувати селективність і продуктивність хроматографічних систем;
- інтерпретувати параметри розділення (retention time, selectivity);
- застосовувати методи для очищення білків і біопрепаратів;
- оцінювати технологічні ризики у процесах фільтрації.

Мета:

- пояснювати механізми мембранного транспорту (дифузія, конвекція);
- класифікувати типи мембранних процесів;
- розкрити загальні принципи хроматографії;
- проаналізувати ефективність методів у виробництві біопрепаратів;
- оцінити роль мембранних технологій у GMP-виробництві.

Обладнання:

1. Схеми/плакати мембранних і хроматографічних процесів.
2. Демонстраційні зразки фільтрів або мембран.
3. Моделі або зображення хроматографічних колонок.
4. Спектрофотометр (як детекція).

План та організаційна структура заняття

Назва етапу	Опис етапу	Рівні засвоєння	Час
Підготовчий	Організаційні питання	Ознайомлення	1 хв

(15% від тривалості заняття)	Формування мотивації Актуальність теми: мембранні та хроматографічні методи є ключовими у сучасному виробництві біопрепаратів; вони забезпечують високий ступінь очищення білків, антитіл та вакцин; правильний вибір методу визначає ефективність, безпечність і відповідність продукції вимогам GMP.	Сприйняття	3 хв
	Контроль початкового рівня підготовки (стандартизовані засоби контролю)		8 хв
Основний (65%)	Диспут та обговорення питань відповідно до теми заняття. 1. Принципи мембранного розділення (ультрафільтрація, діаліз). 2. Основи хроматографії. 3. Порівняльна характеристика методів.	Осмислення Розуміння	30 хв
	Практичні завдання. 1. Який метод обрати для концентрування білкового препарату — ультрафільтрацію чи гел'є-хроматографію? 2. Обґрунтуйте вибір методу очищення моноклональних антитіл. Студенти працюють у групах та разом формують відповіді на поставлені завдання та їх обґрунтування. Кожна група представляє та захищає свою відповідь.	Застосування на практиці Пошукова творча діяльність	20 хв
	Самостійна робота. Розподілити методи на мембранні та хроматографічні: діаліз,	Застосування на практиці Пошукова творча діяльність	5 хв

	ультрафільтрація, афінна хроматографія, йонообмінна хроматографія.		
	Узагальнення знань	Закріплення	5 хв
Заключний (20%)	Контроль кінцевого рівня підготовки (письмове тестування)	Відтворювання	15 хв
	Загальна оцінка навчальної діяльності студента		2 хв
	Інформування студентів про тему наступного заняття та завдання до самостійної роботи		1 хв

Рекомендована література.

Основна:

1. Державна фармакопея України: в 3 т. / ДП “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 2-е вид. – Харків : Державне підприємство “ Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів ”, 2015. – Т.1. – 1128 с.
2. Вовк С.В., Дем’яненко В.Ф., Левицька Г.Д. та ін. Мембранні технології в біотехнології. Київ: КПП ім. Ігоря Сікорського, 2021.
3. Світовий О. П. Хроматографічні методи аналізу. Львів: Видавництво Львівської політехніки, 2015.

Додаткова:

5. Seidman, M., Introduction to Bioprocess Engineering. 2nd ed., Academic Press, 2017.
6. Shukla, A. A., Etzel, M. R., Gadam, S. D. Process Scale Bioseparations for the Biopharmaceutical Industry. Taylor & Francis, 2007.
7. Harrison, R. G., Todd, P., Rudge, S. R., Petrides, D. P. Bioseparations Science and Engineering. 2nd ed., Oxford University Press, 2015.

Питання до самопідготовки студента до практичного заняття:

1. Які принципи лежать в основі мембранного розділення (ультрафільтрація, нанофільтрація, діаліз)?
2. Як визначається селективність мембран і які фактори впливають на її ефективність?
3. У чому полягає загальний принцип хроматографічного розділення?
4. Які параметри впливають на ефективність хроматографічного процесу (швидкість потоку, сорбент, рН)?
5. Порівняйте мембранні та хроматографічні методи за ефективністю, селективністю та застосуванням у фармації.

Тема заняття № 3:

Гель-проникна, йонообмінна, афінна хроматографія та хроматографія оберненої фази

Компетенції:

- розуміти механізми розділення у різних типах хроматографії;
- інтерпретувати взаємодії білок–ліганд;
- аналізувати селективність сорбентів;
- застосовувати хроматографічні методи у фармацевтичному аналізі;
- демонструвати здатність до вибору оптимального методу очищення.

Мета:

- пояснювати принципи size-exclusion, ion-exchange, affinity та RP-хроматографії;
- класифікувати типи сорбентів і лігандів;
- розкрити механізми взаємодії біомолекул із матрицею;
- проаналізувати застосування у очищенні білків і антитіл;
- оцінити ефективність методів у біофармацевтиці.

Обладнання:

1. Схематичні матеріали типів хроматографії.
2. Зразки сорбентів (за можливості).
3. Буферні розчини (для пояснення механізмів).
4. Спектрофотометр (для пояснення принципів аналізу).

План та організаційна структура заняття

Назва етапу	Опис етапу	Рівні засвоєння	Час
Підготовчий (15% від тривалості заняття)	Організаційні питання	Ознайомлення	1 хв
	Формування мотивації Актуальність теми: різні типи хроматографії дозволяють селективно очищати біомолекули залежно від їх розміру, заряду та специфічної взаємодії; ці методи є основою фармацевтичного контролю якості та	Сприйняття	3 хв

	виробництва біологічно активних речовин.		
	Контроль початкового рівня підготовки (стандартизовані засоби контролю)		8 хв
Основний (65%)	Диспут та обговорення питань відповідно до теми заняття. 1. Гель-проникна хроматографія. 2. Йонообмінна хроматографія. Афінна хроматографія. 3. Хроматографія оберненої фази.	Осмислення Розуміння	30 хв
	Практичні завдання. 1. Який метод є найбільш селективним для очищення ферменту — афінна чи гель-проникна хроматографія? 2. Поясніть вплив гідрофобності на розділення в RP-HPLC. Студенти працюють у групах та разом формують відповіді на поставлені завдання та їх обґрунтування. Кожна група представляє та захищає свою відповідь.	Застосування на практиці Пошукова творча діяльність	20 хв
	Самостійна робота. Класифікувати методи за принципом розділення: за розміром, зарядом, специфічною взаємодією, гідрофобністю.	Застосування на практиці Пошукова творча діяльність	5 хв
	Узагальнення знань	Закріплення	5 хв
Заключний (20%)	Контроль кінцевого рівня підготовки (письмове тестування)	Відтворювання	15 хв
	Загальна оцінка навчальної діяльності студента		2 хв
	Інформування студентів про тему наступного заняття та завдання до самостійної		1 хв

	роботи		
--	--------	--	--

Рекомендована література.

Основна:

1. Державна фармакопея України: в 3 т. / ДП “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 2-е вид. – Харків : Державне підприємство “ Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів ”, 2015. – Т.1. – 1128 с.
2. Світовий О. П. Хроматографічні методи аналізу. Львів: Видавництво Львівської політехніки, 2015.

Додаткова:

3. Гончарук В. В., Малюк В. І., Соколов В. В. Основи біотехнології та біоінженерії. Київ: Видавничий дім «Слово», 2012
4. Seidman, M., Introduction to Bioprocess Engineering. 2nd ed., Academic Press, 2017.
5. Shukla, A. A., Etzel, M. R., Gadam, S. D. Process Scale Bioseparations for the Biopharmaceutical Industry. Taylor & Francis, 2007.
6. Harrison, R. G., Todd, P., Rudge, S. R., Petrides, D. P. Bioseparations Science and Engineering. 2nd ed., Oxford University Press, 2015.

Питання до самопідготовки студента до практичного заняття:

1. У чому полягає принцип гелі-проникної (size-exclusion) хроматографії?
2. Які механізми взаємодії лежать в основі йонообмінної хроматографії?
3. Поясніть принцип специфічної взаємодії в афінній хроматографії.
4. Які особливості та механізм розділення в хроматографії оберненої фази (RP-HPLC)?
5. Як обрати оптимальний тип хроматографії для очищення білків або біопрепаратів?

Тема заняття № 4:

Електрофоретичні методи. Кристалізація та ліофілізація

Компетенції:

- розуміти електрофоретичні методи аналізу білків;
- аналізувати електрофоретичні профілі;
- пояснювати фізико-хімічні основи кристалізації;
- оцінювати роль ліофілізації у стабілізації біопрепаратів;
- застосовувати методи контролю якості.

Мета:

- пояснювати принципи електрофорезу (SDS-PAGE, ізоелектричне фокусування);
- розкрити механізми кристалізації біомолекул;
- проаналізувати стадії ліофілізації (заморожування, сублімація, десорбція);
- оцінити стабільність лікарських форм;
- визначити значення методів у фармацевтичній технології.

Обладнання:

1. Схеми електрофоретичних методів (SDS-PAGE, ізоелектричне фокусування).
2. Демонстраційні зображення електрофореграм.
3. Лабораторний посуд для моделювання кристалізації.
4. Візуальні матеріали процесу ліофілізації.

План та організаційна структура заняття

Назва етапу	Опис етапу	Рівні засвоєння	Час
Підготовчий (15% від тривалості заняття)	Організаційні питання	Ознайомлення	1 хв
	Формування мотивації Актуальність теми: електрофорез дозволяє аналізувати чистоту біопрепаратів, тоді як кристалізація та ліофілізація є критичними стадіями стабілізації лікарських засобів; ці процеси безпосередньо впливають на ефективність і термін придатності препаратів	Сприйняття	3 хв
	Контроль початкового рівня підготовки (стандартизовані засоби контролю)		8 хв
Основний (65%)	Диспут та обговорення питань відповідно до теми заняття. 1 Принципи електрофорезу. 2.SDS-PAGE як аналітичний метод. 3.Кристалізація біомолекул. 4.Ліофілізація у фармації.	Осмислення Розуміння	30 хв
	Практичні завдання.	Застосування на практиці Пошукова творча	20 хв

	1. Як визначити чистоту білка за допомогою електрофорезу? 2. Чому ліофілізація є кращою за звичайне висушування для біопрепаратів? Студенти працюють у групах та разом формують відповіді на поставлені завдання та їх обґрунтування. Кожна група представляє та захищає свою відповідь.	діяльність	
	Самостійна робота. Розподілити методи на аналітичні та технологічні: електрофорез, кристалізація, ліофілізація.	Застосування на практиці Пошукова творча діяльність	5 хв
	Узагальнення знань	Закріплення	5 хв
Заключний (20%)	Контроль кінцевого рівня підготовки (письмове тестування)	Відтворювання	15 хв
	Загальна оцінка навчальної діяльності студента		2 хв
	Інформування студентів про тему наступного заняття та завдання до самостійної роботи		1 хв

Рекомендована література.

Основна:

1. Державна фармакопея України: в 3 т. / ДП “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 2-е вид. – Харків : Державне підприємство “ Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів ”, 2015. – Т.1. – 1128 с.
2. Особливості біологічних/біотехнологічних продуктів та біосимілярів (методичні рекомендації), схвалені на засіданні Науково-експертної ради Державного експертного центру МОЗ (протокол N 03 від 29.03.2013 р.). – К., 2013. - 38 с.;
3. Подібні біологічні препарати, що містять як активні речовини протеїни, отримані біотехнологічним шляхом. СТ-Н МОЗУ 42-8.0:2013. – Київ, 2013. – 27 с.
4. Світовий О. П. Хроматографічні методи аналізу. Львів: Видавництво Львівської політехніки, 2015.

Додаткова:

5. Гончарук В. В., Малюк В. І., Соколов В. В. Основи біотехнології та біоінженерії. Київ: Видавничий дім «Слово», 2012
6. Seidman, M., Introduction to Bioprocess Engineering. 2nd ed., Academic Press, 2017.
7. Shukla, A. A., Etzel, M. R., Gadam, S. D. Process Scale Bioseparations for the Biopharmaceutical Industry. Taylor & Francis, 2007.
8. Harrison, R. G., Todd, P., Rudge, S. R., Petrides, D. P. Bioseparations Science and Engineering. 2nd ed., Oxford University Press, 2015.

Питання до самопідготовки студента до практичного заняття:

1. Які фізико-хімічні принципи лежать в основі електрофоретичних методів розділення?
2. У чому полягає метод SDS-PAGE і яке його значення для аналізу білків?
3. Які фактори впливають на процес кристалізації біомолекул?
4. Охарактеризуйте стадії ліофілізації та їх значення для стабільності біопрепаратів.
5. Які переваги використання ліофілізації у виробництві лікарських засобів?

Тема заняття № 5:

Аналітичний контроль та тенденції і перспективи розділення та очищення продуктів біотехнологічного виробництва

Компетенції:

- розуміти методи аналітичного контролю якості біопрепаратів;
- аналізувати чистоту та стабільність продуктів;
- оцінювати сучасні технологічні тренди;
- інтерпретувати результати аналітичних досліджень;
- демонструвати критичне мислення у фармацевтичній біотехнології.

Мета:

- пояснювати принципи аналітичного контролю (HPLC, ELISA, мас-спектрометрія);
- класифікувати методи контролю якості;
- розкрити сучасні тенденції (continuous processing, single-use systems);
- проаналізувати регуляторні вимоги (GMP, ICH);
- оцінити перспективи розвитку технологій очищення біопродуктів.

Обладнання:

1. Схеми аналітичних методів (HPLC, спектрофотометрія).
2. Демонстраційні хроматограми та спектри.
3. Стандартні зразки (умовно/демонстраційно).
4. Комп'ютерні презентації та навчальні матеріали.

План та організаційна структура заняття

Назва етапу	Опис етапу	Рівні засвоєння	Час
Підготовчий (15% від тривалості заняття)	Організаційні питання	Ознайомлення	1 хв
	Формування мотивації Актуальність теми: аналітичний контроль є невід'ємною складовою забезпечення якості біотехнологічних продуктів; сучасні тенденції спрямовані на підвищення селективності, автоматизацію та відповідність міжнародним стандартам якості (GMP), що є критичним для фармацевтичної галузі.	Сприйняття	3 хв
	Контроль початкового рівня підготовки (стандартизовані засоби контролю)		8 хв
Основний (65%)	Диспут та обговорення питань відповідно до теми заняття. 1.Методи аналітичного контролю біопрепаратів. 2.Валідація процесів очищення. 3.Сучасні тенденції (HPLC, мас-спектрометрія).	Осмислення Розуміння	30 хв
	Практичні завдання. 1.Який метод контролю доцільний для визначення домішок у біопрепараті? 2.Обґрунтуйте роль валідації у фармацевтичному виробництві. Студенти працюють у групах	Застосування на практиці Пошукова творча діяльність	20 хв

	та разом формують відповіді на поставлені завдання та їх обґрунтування. Кожна група представляє та захищає свою відповідь		
	Самостійна робота. Розподілити методи контролю на якісні та кількісні: HPLC, електрофорез, спектрофотометрія.	Застосування на практиці Пошукова творча діяльність	5 хв
	Узагальнення знань	Закріплення	5 хв
Заключний (20%)	Контроль кінцевого рівня підготовки (письмове тестування)	Відтворювання	15 хв
	Загальна оцінка навчальної діяльності студента		2 хв
	Інформування студентів про тему наступного заняття та завдання до самостійної роботи		1 хв

Рекомендована література.

Основна:

1. Державна фармакопея України: в 3 т. / ДП “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 2-е вид. – Харків : Державне підприємство “ Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів ”, 2015. – Т.1. – 1128 с.
2. Доклінічне вивчення безпеки лікарських засобів біотехнологічного походження (методичні рекомендації), схвалені на засіданні Науково-експертної ради Державного експертного центру МОЗ. – К., 2011. – 32 с.
3. Особливості біологічних/біотехнологічних продуктів та біосимілярів (методичні рекомендації), схвалені на засіданні Науково-експертної ради Державного експертного центру МОЗ (протокол N 03 від 29.03.2013 р.). – К., 2013. - 38 с.;
4. Подібні біологічні препарати, що містять як активні речовини протеїни, отримані біотехнологічним шляхом. СТ-Н МОЗУ 42-8.0:2013. – Київ, 2013. – 27 с.
5. Світовий О. П. Хроматографічні методи аналізу. Львів: Видавництво Львівської політехніки, 2015.

Додаткова:

6. Seidman, M., Introduction to Bioprocess Engineering. 2nd ed., Academic Press, 2017.
7. Harrison, R. G., Todd, P., Rudge, S. R., Petrides, D. P. Bioseparations Science and Engineering. 2nd ed., Oxford University Press, 2015.

Інформаційні ресурси:

1. Державний реєстр лікарських засобів. URL: <http://www.drlz.com.ua/>
2. Міністерство охорони здоров'я України. URL: www.moz.gov.ua
3. Фармацевтична енциклопедія. URL: www.pharmencyclopedia.com.ua
4. Компендіум: лікарські засоби. – <http://compendium.com.ua/>.
5. Освітня платформа дистанційного навчання – <https://likar.nmu.kyiv.ua/>

Питання до самопідготовки студента до практичного заняття:

1. Які основні методи аналітичного контролю використовуються у біотехнології та фармації?
2. У чому полягає валідація процесів очищення та її значення?
3. Які сучасні інструментальні методи (HPLC, мас-спектрометрія) застосовуються для контролю якості?
4. Які вимоги GMP до процесів очищення та контролю якості біопрепаратів?
5. Які сучасні тенденції та інновації у технологіях розділення та очищення біопродуктів?