

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ**  
**«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ**  
**імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»**  
**Факультет біотехнології і біотехніки**  
**Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології**

«На правах рукопису»  
УДК \_\_\_\_\_

До захисту допущено:  
В.о. завідувача кафедри  
\_\_\_\_\_ Наталія ГОЛУБ  
«\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 р.

**Магістерська дисертація**  
**на здобуття ступеня магістра**  
**за освітньо-професійною програмою «Біотехнології»**  
**зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»**  
**на тему: «Біотехнологія виробництва інсуліну людини з використанням**  
**рекомбінантної *E.coli*»**

Виконала:

студенка II курсу, групи БЕ-01мп  
Коровка Катерина Андріївна \_\_\_\_\_

Науковий керівник:

старший викладач, к.т.н.п  
Зубченко Людмила Сергіївна \_\_\_\_\_

Консультант з графічної частини:

професор, д.т.н., професор  
Саблій Лариса Андріївна \_\_\_\_\_

Консультант з розробки стартап-проєкту:

доцент каф. економіки і підприємництва, к.е.н., доцент  
Ткаченко Тетяна Петрівна \_\_\_\_\_

Рецензент:

доцент каф. екології та технології рослинних  
полімерів, к.т.н., доцент  
Трус Інна Миколаївна \_\_\_\_\_

Засвідчую, що у цій магістерській  
дисертації немає запозичень з праць  
інших авторів без відповідних  
посилань.

Студентка \_\_\_\_\_

Київ – 2021 року

**Національний технічний університет України**  
**«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»**  
**Факультет біотехнології і біотехніки**  
**Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології**

Рівень вищої освіти – другий (магістерський)

Спеціальність – 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнології»

ЗАТВЕРДЖУЮ  
В.о. завідувача кафедри  
\_\_\_\_\_ Наталія ГОЛУБ  
«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 р.

**ЗАВДАННЯ**  
**на магістерську дисертацію студенту**  
**Коровці Катерині Андріївні**

1. Тема дисертації «Біотехнологія виробництва інсуліну людини з використанням рекомбінантної *E.coli*», науковий керівник дисертації Зубченко Людмила Сергіївна, к. т. н, старший викладач, затверджені наказом по університету від «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ р. № \_\_\_\_\_
2. Термін подання студентом дисертації \_\_\_\_\_
3. Об'єкт дослідження: технологія виробництва препарату інсуліну людини (порошок, нестерильна субстанція)
4. Вихідні дані: маса продукту отримана з одного циклу культивування 1,847 кг, біологічний агент – *E.coli*.
5. Перелік завдань, які потрібно розробити: розглянути і охарактеризувати *Escherichia coli* як біологічний агент, обрати високопродуктивний штам *E.coli*. для використання в біосинтезі інсуліну людини, проаналізувати методи отримання інсуліну на сучасному етапі розвитку виробництва та обґрунтувати вибір технології виробництва рекомбінантного препарату інсуліну людини, надати характеристику кінцевого продукту виробництва – препарату рекомбінантного інсуліну людини, запропонувати технологічну та апаратурну схему виробництва рекомбінантного інсуліну, провести розрахунок матеріального балансу стадій виробництва, обрати та розрахувати технологічні та конструктивні параметри ферментера для проведення процесу виробничого культивування, розробити схему автоматизації стадії виробничого культивування, розробити стартап-проект виробництва інсуліну людини з використанням рекомбінантної *E. coli*,

навести заходи з охорони праці на виробництві та заходи, які потрібно приймати для захисту довкілля для попередження негативного впливу виробничого процесу

6. Орієнтовний перелік ілюстративного матеріалу: креслення технологічної схеми (A1), креслення апаратурної схеми (A1), схема автоматизації стадії виробничого культивування (A1), креслення ферментера (A1), ілюстративні таблиці до стартап-проекту (A1).

7. Орієнтовний перелік публікацій: 2 тез доповідей на науково-практичних конференціях.

1. Коровка К. Аналіз технологій виробництва інсуліну людини. Матеріали Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Тенденції та перспективи розвитку науки і освіти в умовах глобалізації»: Зб. наук. праць. Переяслав, 2021. Вип. 76. – с. 322-325.

2. Коровка К. Характеристика рекомбінантного штаму *Escherichia coli* як продуцента інсуліну людини. Матеріали ХІ Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Проблеми та перспективи розвитку сучасної науки в країнах Європи та Азії» // Збірник наукових праць. – Переяслав, 2021 р. – с. 6-8

#### 8. Консультанти розділів дисертації

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Графічна частина	Саблій Л. А., к.т.н., професор		
Розробка стартап-проекту	Ткаченко Т. П., к.е.н., доцент		

9. Дата видачі завдання \_\_\_\_\_

#### Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання магістерської дисертації	Термін виконання етапів магістерської дисертації	Примітка
1	Огляд літератури, вибір технології виробництва	01.09.2021 – 22.09.2021	
2	Вибір біологічного агенту	25.09.2021 – 30.09.2021	
3	Опис стадій виробництва	01.10.2021 – 14.10.2021	
4	Розробка технологічної та апаратурної схем	15.10.2021 – 31.10.2021	
5	Вибір і розрахунок основного виробничого обладнання, виконання креслення ферментеру	02.11.2021 – 10.11.2021	
6	Розробка схеми автоматизації стадії біосинтезу	11.11.2021 – 17.11.2021	
7	Розробка стартап-проекту	17.11.2021 – 22.11.2021	
8	Оформлення ПЗ, підготовка до захисту	25.11.2021 – 13.12.2021	

Студент  
Науковий керівник

Катерина КОРОВКА  
Людмила ЗУБЧЕНКО

## РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка до магістерської дисертації на тему «Біотехнологія виробництва інсуліну людини з використанням рекомбінантної *E. coli*» містить 181 сторінку, 61 літературне джерело, 4 рисунки, 25 таблиць, 1 додаток.

В магістерській дисертації розглянуто технологію виробництва інсуліну людини. Огляд літератури дипломного проекту узагальнює наявну на теперішній час інформацію про інсулін, його види та методи отримання, застосування, наводить аналіз переваг та недоліків використанні різних мікроорганізмів при отриманні готового препарату інсуліну людини рекомбінантного.

Базовою вимогою до готової продукції будь-якого виробництва ЛЗ є забезпечення якості, безпечності та ефективності. Забезпечення цієї вимоги обумовлюється використанням обладнання з високою функціональною відповідністю чинній технології виробництва. Пропонована технологія та обране обладнання забезпечують якісне виробництво готового препарату. Матеріальні розрахунки представлені матеріальним балансом виробництва. Для підтвердження працездатності та надійності обраної конструкції основного виробничого обладнання – ферментеру були проведені тепловий, гідравлічний, конструктивний розрахунки елементів конструкції.

Виконано розробку стартап-проекту цеху з виробництва інсуліну людини, розглянуті питання автоматичного контролю і керування виробництвом, охорони праці на підприємстві.

Розрахунки та креслення виконані згідно чинних стандартів, з використанням сучасних системних та інформаційних технологій.

Ключові слова: інсулін людини, рекомбінантний, біореактор, ферментація, рефолдинг.

## ABSTRACT

Explanatory note to the master's thesis on "Biotechnology of human insulin production using recombinant *E. coli*" contains 181 pages, 61 references, 4 figures, 25 tables, 1 appendix.

In the master's dissertation the technology of human insulin production is considered. The literature review of the diploma project summarizes the currently available information about insulin, its types and methods of production, application, provides an analysis of the advantages and disadvantages of using different microorganisms in obtaining the finished product of recombinant human insulin.

The basic requirement for finished products of any drug production is to ensure quality, safety and efficiency. Ensuring this requirement is due to the use of equipment with high functional compliance with current production technology. The proposed technology and selected equipment ensure quality production of the finished product. Material calculations are represented by the material balance of production. To confirm the efficiency and reliability of the selected design of the main production equipment – the fermenter, thermal, hydraulic, structural calculations of structural elements were performed.

The development of a startup project of the shop for the production of human insulin was performed, the issues of automatic control and management of production, labor protection at the enterprise were considered.

Calculations and drawings are made according to current standards, using modern system and information technologies.

**Key words:** human insulin, recombinant, bioreactor, fermentation, refolding.

## ЗМІСТ

Вступ.....	8
РОЗДІЛ 1. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА.....	11
1.1. Обґрунтування вибору технології виробництва.....	11
1.2. Характеристика біологічного агента.....	20
РОЗДІЛ 2. БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ.....	26
2.1. Схема перебігу процесів.....	26
2.2. Характеристика кінцевого продукту.....	28
РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА.....	31
3.1. Матеріали основні і допоміжні .....	31
3.2. Опис технологічного процесу виробництва рекомбінантного інсуліну людини.....	46
3.3. Контроль виробництва.....	71
3.4. Матеріальний баланс.....	98
РОЗДІЛ 4. АВТОМАТИЗАЦІЯ СТАДІЇ ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУ РЕКОМБІНАНТНОГО ІНСУЛІНУ ЛЮДИНИ.....	107
4.1 Опис технологічного процесу як процесу автоматизації.....	107
4.2. Основні рішення з автоматизації.....	107
4.2.1. Система контролю.....	107
4.2.2. Автоматичне регулювання.....	108
4.2.3. Технологічна сигналізація та захист.....	109
4.2.4. Дистанційне керування виконавчими механізмами.....	110
4.3. Специфікація обладнання.....	110
РОЗДІЛ 5. ПІДБІР ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ.....	112

					<i>БЕ0101.МД.ПЗ</i>		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Коровка К. А.			ЗМІСТ	Стадія	Арк.
Конс.							6
							181
Керів.		Зубченко /І. С.				КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ	
Затверд.							

5.1. Обґрунтування вибраної конструкції. Підбір конструкційних матеріалів для окремих елементів апарату.....	112
5.2. Технологічний, конструктивний, гідравлічний розрахунки.....	116
5.2.1. Конструктивний розрахунок ферментера.....	116
5.2.2. Розрахунок перемішуючих пристроїв.....	118
5.2.3. Розрахунок воронки.....	119
5.2.4. Розрахунок барботера.....	119
5.2.5. Тепловий розрахунок.....	120
5.3. Вибір загальнозаводського обладнання.....	123
5.4. Специфікація обладнання.....	126
РОЗДІЛ 6. СТАРТАП-ПРОЄКТ ВИРОБНИЦТВА РЕКОМБІНАНТНОГО ІНСУЛІНУ ЛЮДИНИ.....	127
6.1. Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартапу.....	128
6.2. Визначення ключових факторів успіху проєкту.....	133
6.3. Визначення потенційних споживачів.....	135
6.4. Ціна інноваційної пропозиції на ринку.....	138
6.5. Концепція бізнес-моделі проєкту та карта бізнес-процесів реалізації проєкту.....	143
6.6. Ризики стартап-проєкту та методи управління ними.....	148
РОЗДІЛ 7. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ.....	160
7.1. Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях на підприємстві з виробництва інсуліну людини.....	160
7.2. Охорона довкілля при функціонуванні підприємства з виготовлення рекомбінантного інсуліну людини.....	170
Висновки.....	175
Перелік посилань.....	177
Додаток.....	181

## ВСТУП

Інсулін — гормон білкової природи, що виробляється Р-клітинами підшлункової залози для підтримки гомеостазу глюкози в крові. Нестача інсуліну в крові внаслідок придбаних або успадкованих факторів призводить до захворювання на цукровий діабет (ЦД). Це системне захворювання, наслідком якого є високий вміст глюкози в крові, воно викликає ураження багатьох внутрішніх органів і систем організму, що неминуче веде до погіршення якості життя, а без лікування — до смерті.

За даними ВООЗ, хвороба збільшує смертність в 2-3 рази і суттєво скорочує тривалість життя. При цьому кількість хворих щорічно збільшується у всіх країнах на 5-7%, а кожні 12-15 років подвоюється. У світі говорять про неінфекційну епідемію діабету. Фахівці передбачають, що при збереженні поточних трендів урбанізації і приросту населення чисельність людей з діабетом в 2025, 2030 і 2045 роках становитиме 438, 578 і 700 млн. відповідно[23].

В Україні на сьогоднішній день відсутні офіційні статистичні дані про захворюваність на цукровий діабет. За останніми офіційними даними МОЗ, за 2017 рік в Україні налічувалося 1,27 млн. хворих на цукровий діабет. Серед них майже 200 000 хворих потребують щоденного прийому інсуліну. Починаючи з 2010 року по 2017 р. загальне число хворих збільшилося на 4%, а показник на 100 тис. населення — на 12%. Питома вага випадків цукрового діабету серед усіх хвороб за цей період зріс на 0,3% (з 1,4% до 1,7%). За заявою Центру громадського здоров'я, в Україні майже у половини хворих цукровим діабет не діагностовано[24].

Інсулін відноситься до життєво важливих лікарських засобів, які Всесвітня організація охорони здоров'я рекомендує самостійно виробляти тим країнам, населення яких перевищує 50 млн. чоловік.

Вперше інсулін був виділений в чистому вигляді і застосований для лікування в 1921 р, а вже в 1923 р розпочато його масове виробництво.

					БЕ0101.МД.ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	ВСТУП	Стадія	Арк.	Аркушів
Розроб.		Коровка К. А.					8	181
Конс.						КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ		
Керів.		Зубченко Л. С.						
Затверд.								



Біотехнологічним методом інсулін виробляють використовуючи високопродуктивні генетично змінені мікроорганізми. Тому отримання інсуліну за допомогою високопродуктивних штамів рекомбінантних мікроорганізмів, що забезпечують стабільний рівень експресії вбудованого гена інсуліну людини, стає актуальним. Однак в мікроорганізмах інсулін синтезується у вигляді неактивного біотехнологічного попередника, гібридного білка (ГБ), тому отримання генно-інженерного інсуліну людини (ГІІЛ) є складним багатостадійним процесом, заснованим на декількох етапах трансформації і препаративного очищення проміжних продуктів і інсуліну. Це відбивається на виході і вартості генно-інженерного інсуліну. У зв'язку з цим значно зростає значення розробки оптимальної технологічної схеми, що забезпечує високий вихід і чистоту кінцевого продукту.

Основними напрямками з оптимізації технології виробництва є пошук легко вписуваних в існуючу технологію методів, що дають помітний вигравш за часом і зменшують собівартість, а також легко масштабованих рішень на основі існуючого обладнання.

Метою даного дипломного проєкту є вибір і обґрунтування обраної технології виробництва рекомбінантного препарату інсуліну людини з використанням *E.coli*.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

- розглянути і охарактеризувати *Escherichia coli* як біологічний агент
- проаналізувати методи отримання інсуліну на сучасному етапі розвитку виробництва та обґрунтувати вибір технології виробництва рекомбінантного препарату інсуліну людини;
- надати характеристику кінцевого продукту виробництва – препарату рекомбінантного інсуліну людини;
- запропонувати технологічну та апаратурну схему виробництва рекомбінантного інсуліну;
- провести розрахунок матеріального балансу стадій виробництва;
- обрати та розрахувати технологічні та конструктивні параметри ферментера для проведення процесу виробничого культивування;

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						9
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

- розробити схему автоматизації стадії виробничого культивування;
- розробити стартап-проект виробництва інсуліну людини з використанням рекомбінантної *E. coli*;
- навести заходи з охорони праці на виробництві та заходи, які потрібно приймати для захисту довкілля для попередження негативного впливу виробничого процесу.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						10
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

# 1. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

## 1.1. Обґрунтування вибору технології виробництва

За походженням розрізняють препарати інсуліну гетерологічні (тваринні – бичачий, свинячий) і гомологічні (людські – напівсинтетичні, біосинтетичні). У лікуванні хворих на цукровий діабет 1 типу рекомендовані препарати генноінженерних людських інсулінів, як найменш імуногенних і найбільш високоочищених інсулінів. Нині існують способи отримання інсуліну, який, за своєю хімічною структурою повністю ідентичний інсуліну, що виробляється організмом здорової людини. Інсулін людини можна виробляти чотирма способами:

1) повним хімічним синтезом (вважається неекономічним через недостатню розробленість);

2) екстракцією з підшлункових залоз людини (нестача сировини для масового виробництва обмежують застосування цього способу);

3) напівсинтетичним методом за допомогою ферментно-хімічної заміни в ланцюзі амінокислоти аланіну в свинячому інсуліні на треонін (напівсинтетичний інсулін). Недолік даного методу - постійна залежність виробництва від вихідної сировини (свиняча підшлункова залоза);

4) біосинтетичним способом за генно-інженерною технологією, згідно якої ген, відповідальний за синтез інсуліну, вбудовується в ДНК непатогенного мікроорганізму-продуценту. Отримані генно-модифіковані мікроорганізми синтезують проінсулін (неактивна форма), який після ферментативного відщеплення С-пептиду перетворюється в активний інсулін (біосинтетичний або рекомбінантний, або генно-інженерний). Також важливою перевагою біотехнологічного методу є простота масштабування процесу. Основною проблемою даного методу є необхідність повного очищення кінцевого продукту від

					БЕ0101.МД.ПЗ		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Коравка К. А.			ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЇ ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	Стадія	Арк.
Конс.							11
							181
Керів.		Зудченко Л. С.				КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ	
Затверд.							

продуктів життєдіяльності мікроорганізмів-продуцентів, що використовуються. З огляду на сучасні методи контролю якості, які застосовують в біофармації та фармацевтичній промисловості, гарантується висока якість біосинтетичних інсулінів людини [60].

З урахуванням основних досягнень сучасної діабетології і рекомендацій Всесвітньої організації охорони здоров'я європейські країни до 2001 року завершили перехід на використання людських інсулінів. У зв'язку з цим розробка способів отримання інсуліну з використанням методів ДНК-рекомбінантної технології є актуальним завданням. Отже, з урахуванням усього вищезазначеного, біосинтетичний спосіб є оптимальним для запровадження у виробництві.

Виходячи з того, що середня щоденна доза інсуліну в терапії цукрового діабету типу I лежить в межах 1.4 - 2.1 мг (40-60 ME). Легко підрахувати, що щорічна потреба в інсуліні становить ~ 11 тонн тільки для хворих на цукровий діабет I типу, і ця потреба щорічно збільшується на 3 - 4%. У зв'язку з цим проводяться інтенсивні дослідження, спрямовані на поліпшення методів виробництва інсуліну, отримання похідних з необхідними споживчими властивостями і вдосконалення засобів і способів його доставки.

Тривалий час (з моменту відкриття в 1920 році) інсулін отримували, в основному, екстракцією з підшлункової залоз тварин. Оскільки молекули інсуліну свиней і людини розрізняються лише одним амінокислотним залишком, був розроблений напівсинтетичний метод зміни послідовності свинячого інсуліну з використанням ферментативної реакції транспептидації.

Значний прогрес у виробництві інсуліну, як і інших терапевтичних білків, був досягнутий із застосуванням генно-інженерних методів для створення відповідних трансгенних мікроорганізмів.

Головний успіх генної інженерії полягає в розробці бактеріальних експресійних систем, зокрема на основі штам-продуцента *E.coli*, здатних виробляти великі кількості білка за допомогою технології рекомбінантних ДНК. Як правило, запас більшості білків, що мають потенційне клінічне або промислове значення,

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		12

обмежується їх малою природною доступністю. У світлі цього здається очевидним використання даної технології як гаранта необмеженого запасу рекомбінантних білків. Так, в 80-і роки ХХ століття американською компанією Genentech розроблена технологія виробництва генно-інженерного інсуліну людини (ГІЛ), яка згодом була комерціалізована корпорацією Eli Lilly [2]. До лідируючих виробників ГІЛ відносяться такі фірми, як Eli Lilly (США), Sanofi-Aventis (Німеччина-Франція), Novo Nordisk (Данія).

В даний час робляться спроби підвищити ефективність процесу отримання інсуліну за рахунок підвищення інтенсивності біосинтезу інсуліну, однак високий рівень біосинтезу рекомбінантного білка в *E.coli* призводить до утворення нерозчинних і неактивних агрегатів, званих тілами включення (inclusion bodies, ТВ), в склад яких входять не тільки цільові рекомбінантні білки (РБ), але і ряд бактеріальних («баластних») білків. Тому для отримання цільового компонента в нативному вигляді потрібно включати в технологічну схему виробництв додаткові стадії, метою яких є розчинення таких агрегатів, виділення з них білка і його ренатурація. Методи виділення інсуліну з тілець включення та його подальшого очищення багато в чому визначають специфіку всього виробництва біофармацевтичних білків і мають істотний вплив на виробничі витрати.

З урахуванням основних досягнень сучасної діабетології і рекомендацій Всесвітньої організації охорони здоров'я європейських країн до 2001 року завершили перехід на використання людських інсулінів. У зв'язку з цим розробка способів отримання інсуліну з використанням методів ДНК-рекомбінантної технології є актуальним завданням.

Відомий спосіб отримання генно-інженерного інсуліну людини, що полягає в культивуванні штаму-продуцента *E. coli*, яка продукує проінсулін, що містить послідовність двох синтетичних IgG, зв'язуючих домени стафілококового білка А [3]. Недоліками даного способу є висока собівартість продукту і використання при отриманні інсуліну детергента, який може бути присутнім в цільовому продукті.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						13
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Відомий спосіб отримання генно-інженерного інсуліну людини, що полягає в тому, що культивують клітини штаму-продуцента *E. coli* ДН5а / рVK100, руйнують бактеріальні клітини ультразвуковою дезінтеграцією, відокремлюють тільця включення, що містять гібридний білок, від водорозчинних домішок за допомогою центрифугування і розчиняють тільця включення в буфері. Нерозчинні домішки видаляють центрифугуванням, після чого збільшують концентрацію дитіотреїтолу і відновлюють дисульфідні зв'язки при 37°C протягом 1 години. Після цього розчин розбавляють холодною водою, доводять рН до 4,5 і витримують 2 години при 4°C для формування осаду. Осад, що містить гібридний білок, відокремлюють центрифугуванням і ренатурують, швидко розчиняють в холодній воді, після чого розводять гліциновим буфером з рН 10,8 і витримують при 4°C протягом ночі. Спочатку розчин піддають ультрафільтрації, після чого – гель-фільтрації на колонці з сефадексом G-50 і елюють гліциновим буфером. Збирають фракції, що містять гібридний білок, проводять ультрафільтрацію і ліофільно висушують. Отриманий гібридний білок розчиняють в 0,08 М трис-НСІ буфері і розщеплюють одночасно трипсином і карбоксипептидазою Б (при 37°C протягом 30 хвилин). Потім додають ізопропанол до 40%. Суміш піддають хроматографічній очистці на колонці з DEAE-сефадексом А-25 і елюють 0,05М трис-НСІ буфером. Після видалення ізопропанолу концентрацію хлористого натрію збільшують до 25%, доводять рН до 2,0 і збирають осад інсуліну [1]. До недоліків способу відноситься застосування гель-фільтрації на початкових стадіях, що вимагає значних обсягів сорбенту і великої кількості ферментів, які використовуються при розщепленні гібридного білка.

Відомий спосіб отримання генно-інженерного інсуліну людини, що включає культивування штаму-продуцента *Escherichia coli* JM109 / рPINS07, руйнування бактеріальних клітин дезінтеграцією, відділення тілець включення, що містять гібридний білок, їх розчинення в буфері, що містить сечовину і дитіотреїтолу, ренатурацію і очищення ренатурованого гібридного білка шляхом осадження домішкових сполук в 40%-ому ізопропанолі з наступною хроматографією на КМ-сефарозі, його послідовне розщеплення трипсином і карбоксипептидазою Б. При цьому продукти трипсинолізу хроматографують на СП-сефарозі, врівноваженою

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						14
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

0,03-0,1 М амоній-ацетатним буфером з елюцією білка лінійним градієнтом хлористого натрію від 0 до 0,5 М в стартовому буфері, а отриману після розщеплення карбоксипептидазою Б фракцію інсуліну очищають методом обернено-фазової вискоєфективної рідинної хроматографії (ОФ ВЕРХ) з подальшою гель-фільтрацією [9]. До недоліків способу слід віднести використання значних кількостей сечовини і органічних розчинників на стадії очищення гібридного білка.

Відомий спосіб отримання інсуліну людини, що включає культивування штаму-продуцента *Escherichia coli JM109/pPINS07*, руйнування бактеріальних клітин дезінтеграцією, відділення тілець включення, що містять гібридний білок, їх розчинення в буфері, що містить 8 М сечовину і дитіотреїтол в протязі 10-12 годин, ренатурацію, розведення в 5-10-кратному обсязі 0,1 М Na-гліциновим буфером при рН 9-11 і 10-14°C. Виділення білка проводять методом кислотного осадження з мікрофільтрацією. Для очищення білка використовують хроматографію на КМ-сефарозі, врівноважений 0,05 М трисовим буфером з рН 7,0-7,5 при цьому елюювання гібридного білка проводять вихідним буфером, що містить 0,25 М хлористий натрій і 1,5 М сечовину. Послідовне розщеплення гібридного білка здійснюють спочатку трипсином в співвідношенні трипсин:гібридний білок 1:(500-1000), а потім карбоксипептидазою Б в співвідношенні фермент : гібридний білок 1:(500-1000), при цьому проміжні продукти трипсинолізу хроматографують на СП-Сефарозі, врівноважений 0,03 М амоній-ацетатним буфером рН 5,0, що містить 3 М сечовину. Елюцію білка здійснюють лінійним градієнтом хлористого калію від 0 до 0,5 М в стартовому буфері. Отриманий після гідролізу інсулін очищають методом препаративної обернено-фазової вискоєфективної рідинної хроматографії. Фракції з чистотою інсуліну не менше 98% об'єднують, осаджують 10% оцтовокислим цинком при рН розчину 6,3-6,5. Осад центрифугують, розчиняють в 1 М розчині оцтової кислоти і піддають гель-фільтрації, а цільовий продукт кристалізують. До недоліків способу слід віднести багатостадійність процесу, пов'язану з роздільним гідролізом гібридного білка, використання великої кількості трипсину і

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		15

карбоксипептидази Б і значних кількостей сечовини і розчинника на стадіях очищення продукту.

Відомий спосіб отримання генно-інженерного інсуліну людини, що включає культивування штаму-продуцента *E. coli JM109 / pPINS07* до досягнення культурою оптичної густини 30 ОЕ, руйнування клітин дезінтеграцією, відділення тілець включення, що містять гібридний білок, попереднє відмивання тілець включення, одночасне розчинення білка і відновлення дисульфідних зв'язків в буфері з 5-10 мМ дітіотреїтолу і 1 мМ ЕДТА протягом 3-7 годин, очищення регенерованого гібридного білка в одну стадію іонообмінною хроматографією, розщеплення гібридного білка спільним гідролізом трипсином і карбоксипептидазою Б при масовому співвідношенні гібридного білка, трипсину і карбоксипептидази Б 4000:(1-2):1, очищення інсуліну гідрофобною хроматографією з подальшою гель-фільтрацією і виділення інсуліну кристалізацією в присутності солей цинку [17]. До недоліків способу слід віднести низький вихід цільового продукту і велику тривалість процесу.

В 2006 р. запропоновано технологію [11], вирішує завдання підвищення виходу інсуліну і скорочення тривалості процесу. Поставлене завдання вирішується за рахунок того, що в способі отримання генно-інженерного інсуліну людини, що включає ферментацію штаму-продуцента гібридного білка, що синтезує проінсулін людини, руйнування клітин дезінтеграцією, відділення тілець включення, в яких міститься гібридний білок, попереднє відмивання тілець включення, одночасне розчинення білка і відновлення дисульфідних зв'язків в буфері з 5-10 мМ дітіотреїтолу і 1 мМ ЕДТА, ренатурацію і очищення ренатурованого гібридного білка іонообмінною хроматографією, розщеплення гібридного білка спільним гідролізом трипсином і карбоксипептидазою Б, очищення інсуліну гідрофобною хроматографією або обернено-фазовою високоефективною рідинною хроматографією з подальшою гель-фільтрацією і виділення інсуліну кристалізацією в присутності солей цинку. Як штам-продуцент використовують штам бактерій *Escherichia coli BL21/pPINS07 (BL07)* або *Escherichia coli JM109/pPINS07*, ферментацію проводять до досягнення культурою оптичної густини 15 ОЕ,

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		16



ренатурацію здійснюють протягом 48 годин, а розщеплення гібридного білка проводять спільним гідролізом трипсином і карбоксипептидазою Б при масовому співвідношенні гібридного білка, трипсину і карбоксипептидази Б 4000:0,6:0,9. Результатом впровадження цієї технології є підвищення виходу кінцевого продукту до 120-180 г фармакопейної субстанції інсуліну людини з 1000 дм<sup>3</sup> культуральної рідини в порівнянні з 50 г з 1000 дм<sup>3</sup> і скорочення часу проведення процесу на 24 години.

Також слід зазначити, що існує безліч нових патентних розробок і досліджень препарату інсуліну людини і його аналогів. Патенти GB694530A [7] і GB729670A [8] описують кристалізацію інсуліну в присутності хінолінових або акридиноподібних речовин і речовин фенольної природи, відповідно, також у присутності цинку.

Патент США US5504188 [16] описує одержання кристалів аналога інсуліну (*LysPro*) при pH 5,5-6,5 в присутності (серед інших) іонів цинку.

У WO9834953 [20] описана кристалізація білка з бічним ланцюгом лізину, що несе ліпофільний замісник (інсулін детемір), в розчині, що містить іони цинку, причому кристалізація здійснюється шляхом регулювання pH розчину від кислого до pH 7-10.

Патент США US3907676 [14] описує процес зниження антигенності інсуліну, виділеного з підшлункової залози домашніх ссавців, зокрема свинячої і бичачої підшлункової залози, і в якому антигенні інсуліноподібні речовини з молекулярною масою близько 6000 разом з деякими антигенними білками панкреатичного походження з молекулярною масою вище 6000. Зниження антигенності досягають, піддаючи інсулін хроматографії на колонці на аніонообміннику, який найчастіше є сільноосновним, при використанні в якості елюента водного розчину одноатомного аліфатичного спирту і збираючи фракції елюата, які містять інсулін, вільний або практично вільний від домішок.

Патент США US3649456 [5] в основному описує буферний обмін поліпептиду на RPC-подібній стаціонарній фазі з водного розчину в розчин, що містить органічний розчинник, в присутності різних солей, включаючи хлорид кальцію.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						17
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Патент США US5633350A [17] описує відділення К-вітамін-залежних білків від не К-вітамін-залежних білків в присутності іонів кальцію на іонообмінних смолах.

В GB2173503A [6] описаний спосіб очищення інсуліну з використанням слабокислотного катіоніту, переважно з гідрофобною матрицею. Фракціонування інсуліну отримують шляхом поетапної або безперервної зміни концентрації розчинника в діапазоні кислотних рН.

Патент США В US4129560 [15] описує спосіб очищення високомолекулярних пептидів, які мають тенденцію зв'язуватися, за допомогою іонообмінної хроматографії в водних буферних розчинниках на кислотних або основних іонообмінниках, який включає розчинення неіонних детергентів в буферних розчинниках.

US2005080000A [12] розкриває спосіб хроматографічного очищення препроінсуліну, в якому речовини з більш високою молекулярною масою видаляють з водного розчину препроінсуліну за допомогою першої хроматографії на аніоніті в режимі проточного потоку і подальшої другої хроматографії на катіоніторі в режимі адсорбції, а також спосіб приготування інсулінів, який включає в себе спосіб отримання препроінсуліну.

US2006167221A [13] розкриває екстракцію і виділення інсулінів з клітин рекомбінантних організмів, особливо тих, які експресуються і секретуються дріжджами. Для екстракції пов'язаних з поверхнею клітин продуцента форм інсулінового пептиду були використані органічні розчинники. Крім того, описано процедури об'єднання стадій освітлення середовища, екстракції розчинником і хроматографії з метою одночасного виділення і очищення розчинних і мембранозв'язаних форм інсуліну.

В патенті США US5278284A [18] описаний спосіб видалення цільового інсуліну зі складного розчину і виділення його в очищеної формі, що полягає в додаванні сорбенту з силікагелю, що має розмір пор, приблизно рівний молекулярному розміру білка, до розчину, який містить білок, що дозволяє відокремити сорбент від розчину і потім виділити білок з сорбенту.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						18
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Патент США US6451987A [19] описує спосіб іонообмінної хроматографії для очищення пептиду від суміші, що містить пептид і пов'язані з ним домішки і промисловий спосіб очищення пептидів, що включає такий процес іонообмінної хроматографії. Деякі (часто пов'язані) домішки часто важко видалити або зменшити через форми піку, наприклад, домішки, елюються на фронті піка або на задній кромці. Таким чином, може отриманий білок може мати недостатню чистоту.

Таким чином, розробка конкурентоспроможної високоефективної технології отримання фармацевтичних препаратів інсуліну рекомбінантного та його аналогів, які відповідають сучасним стандартам якості, прийнятим як в нашій країні, так і за кордоном, є одним з вкрай важливих напрямків сучасної біотехнології.

З урахуванням усіх вищезазначених технологічних розробок для виробництва обрано генноінженерну технологію з використанням штаму *E. coli BL21/PIK8-proins*. Нижче наведена блок-схема виробництва за обраною технологією порошку рекомбінантного інсуліну людини, яка може вважатися оптимальною для впровадження в умовах реального виробництва.

#### Блок-схема виробництва





## 1.2. Характеристика рекомбінантного штаму *Escherichia coli* як продуцента інсуліну людини

Продуцентами генно-інженерного інсуліну можуть виступати як прокаріотичні клітини (рекомбінантний штам *E. coli*, *Bacillus subtilis*) так і еукаріотичні (дріжджі *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*)[4]. В даний час гормон інсулін отримують, в основному, біотехнологічним методом. В якості продуцента рекомбінантного інсуліну, як правило, використовують бактерії *E. coli*, в геном яких включена послідовність ДНК інсуліну людини.

Широке використання *E. coli* в генетичній інженерії пояснюється детальним вивченням даного мікроорганізму на молекулярному рівні. Але відомо, що грамнегативна бактерія *E. coli*, як продуцент біологічно-активних, речовин має ряд суттєвих недоліків. Так, в зовнішній оболонці клітин *E. coli* містяться токсичні

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						20
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ліпополісахариди. Тому обов'язковим є ретельне очищення препаратів, отриманих за допомогою кишкової палички, що значно збільшує вартість таких біопродуктів. Також *E. coli* не виділяє білки в зовнішнє середовище, що ускладнює технологію їх отримання в промислових умовах. Крім того *E. coli*, як прокаріотичний мікроорганізм, не здатна проводити характерні для еукаріотичних клітин процеси сплайсингу і посттрансляційної модифікації білків.

Незважаючи на вищеописані недоліки, в теперішній час широке застосування знаходить виробництво інсуліну біотехнологічним способом з використанням штамів *Escherichia coli*, тобто значна частина штучного інсуліну виробляється за допомогою генетично-модифікованих мікроорганізмів.

До основних переваг *E.coli* належать:

- висока продуктивність – 10 грамів інсуліну на літр суспензії культури;
- потенційно дуже високі рівні експресії;
- низька вартість;
- простота умов культивування;
- швидкий ріст;
- просте перетворення протоколів;
- можливість зміни багатьох параметрів з метою оптимізації експресії;
- відсутність ендотоксинів.

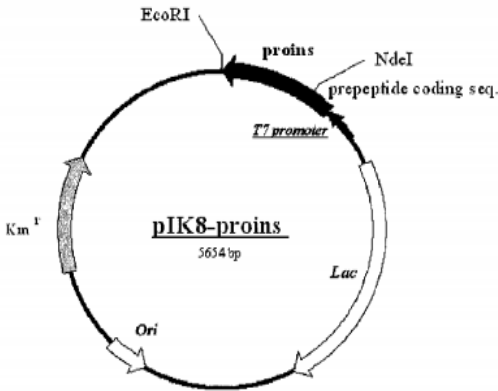
Хоча в той же час дана система експресії має і ряд недоліків:

- неефективне формування дисульфідних зв'язків;
- можливість порушення формування білків в цитоплазмі, включаючи порушення конформації;
- неефективність рефолдингу в умовах *in vitro*;
- відмінність кодонів від відповідних еукаріотичних;
- мінімальні посттрансляційні модифікації.

Отже, незважаючи на всі недоліки та альтернативи, в даний час при виробництві препаратів рекомбінантних інсулінів економічно ефективною і найбільш поширеною серед бактеріальних систем експресії є *E.coli*.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		21

Для виробництва використовують робочий банк штаму мікроорганізму *E. coli* BL21/PIK8-proins. Схематична будова плазміді pIK8-proins, що використовується для трансформації клітин *E.coli* з метою отримання штамів-продуцентів інсуліну людини рекомбінантного наведена на рис.1.



1	ATGGGCAGCAGCATCATCATCATCATCACAGCAGCGGCTGGTGCCGCGGCAGCCAT
1	M G S S H H H H H S S G L V P R G S H
61	ATGCGCTTTGTGAACCAACCTGTGCGGCTCACACCTGGTGAAGCTCTCTACCTAGTG
21	M R F V N Q H L C G S H L V E A L Y L V
121	TGCGGGGAACGAGGCTTCTTCTACACACCCAGACCCGCGGAGGCAGAGGACCTGCAG
41	C G E R G F F Y T P K T R R E A E D L Q
181	GTGGGGCAGGTGGAGCTGGGCGGGGCOCTGGTGAGGCAGCCTGCAGCCCTTGSCCCTG
61	V G Q V E L G G G P G A G S L Q P L A L
241	GAGGGGTCCCTGCAGAGCGTGGCATTGTGGAACAATGCTGTACCAGCATCTGCTCCCTC
81	E G S L Q K R G I V E Q C C T S I C S L
301	TACCAGCTGGAGAAGTACTGCACTAG
101	Y Q L E N Y C N *

Рисунок 1.1 – Будова плазміді pIK8-proins, що використовується для трансформації клітин *E. coli* [4]

Морфофізіологічна характеристика *E. coli* BL21/PIK8-proins: грам-негативні неспороутворюючі палички розміром менше 1 мкм, що утворюють на агаризованому середовищі однотипні округлі напівпрозорі колонії білого кольору.

Морфокультуральна характеристика: резистентність до антибіотику канаміцину: здатні утворювати характерні однотипні колонії на поживному середовищі, що містить канаміцину 30 мкг/см<sup>3</sup>. Здатність до індукованої експресії рекомбінантного білка: індукування синтезу поліпептиду приблизно 12 кДа. Наявність рекомбінантних поліпептидів: характерний набір ДНК фрагментів (2767

п.н., 1728 п.н., 999 п.н., 93 п.н). Первинна нуклеотидна послідовність ДНК: вставки (послідовна та ідентична до ДНК проінсуліну людини).

Кишкова паличка може жити на різних субстратах. В анаеробних умовах *E. coli* утворює як продукт життєдіяльності лактат, сукцинат, етанол, ацетат і вуглекислий газ. Часто при цьому утворюється молекулярний водень, який перешкоджає утворенню зазначених вище метаболітів, тому *E. coli* часто співіснує з мікроорганізмами, що споживають водень – наприклад, з метаногенами або бактеріями, що відновлюють сульфат.

Оптимум росту досягається культурами *E. coli* при температурі 37 °С. Ріст може стимулюватися аеробним або анаеробним диханням, різними парами окисників і відновників, в тому числі, окисненням пірувату, форміату, водню, амінокислот, а також відновленням кисню, нітрату, диметилсульфоксиду. *E.coli* виконує корисну функцію в організмі, пригнічуючи ріст шкідливих видів бактерій і синтезуючи значну кількість вітамінів. Це важливий компонент біосфери. Цей вид бактерій колонізує нижню частину кишечника тварин і виживає при виділенні в природне середовище, що дозволяє широко розповсюджувати його серед нових господарів.

Такі характеристики, як дефіцит протеази, низька інтенсивність синтезу ацетату при високому рівні глюкози і підвищена проникність, роблять *E.coli* бажаним господарем для виробництва генно-інженерних білків. BL21 дуже широко використовується для експресії рекомбінантних білків. Спостерігається відсутність генів джгутикового компонента, ДНК-цитозин-метилаза *dcm* і *ompT* в BL21. BL21 також несе DE3-рекомбінантний фаг, що несе ген РНК-полімерази T7, який може направляти експресію генів під контролем промотора T7.

Отже, незважаючи на всі недоліки та альтернативи, в даний час при виробництві препаратів рекомбінантних інсулінів економічно ефективною і найбільш поширеною серед бактеріальних систем експресії є *E.coli* [61].

Згідно регламенту рецептура рідкого поживного середовища LB для колб наступна (%): пептону - 20 г, дріжджового екстракту сухого - 10 г, натрію хлориду - 20 г, воли очищеної - 1,95 л, розчину канаміцину сульфату - 10 см<sup>3</sup>.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						23
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Склад концентрату поживного середовища для апарату посівного відрізняється від складу поживного середовища для колб і включає такі компоненти: пептону сухого ферментативного - 120 г, дріжджового екстракту сухого - 120 г, глюкози моногідрату - 80 г, натрію хлориду - 40 г, діамонію гідрофосфату - 80 г, дикалію гідрофосфату - 80 г, води очищеної 8,0 дм<sup>3</sup>, пропінолу Б 400 - 25 см<sup>3</sup>, розчин канаміцину сульфату - 20 см<sup>3</sup>, розчин магнію сульфату – 25 см<sup>3</sup>, розчин мікроелементів - 25 см<sup>3</sup>, натрію гідроксиду - 30 см<sup>3</sup>.

Концентрат поживного середовища для ферментеру включає такі речовини: води очищеної - 40 дм<sup>3</sup>, пептон - 1050 г, дріжджовий екстракт сухий - 1050 г, глюкози моногідрат - 700 г, натрію хлорид - 350 г, діамонію гідрофосфат - 700 г, дикалію гідрофосфат - 700 г, амонію хлорид - 350 г, пропінол Б 400 - 350 см<sup>3</sup>, канаміцину сульфат - 100 см<sup>3</sup>, розчин тіаміну гідрохлорид - 100 см<sup>3</sup>, розчин магнію сульфату - 500 см<sup>3</sup>, розчин мікроелементів - 500 см<sup>3</sup>, розчин натрію гідроксиду - 2,2 дм<sup>3</sup>, аміаку розчин концентрований - 8,0 дм<sup>3</sup>, пропінол Б - 500 см<sup>3</sup>, глюкоза з масовою часткою 50 % - 80 дм<sup>3</sup>, магнію сульфату в розчині кислоти лимонної - 1,475 дм<sup>3</sup>.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						24
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		



## 2. БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

### 2.1. Схема перебігу процесів при біосинтезі інсуліну людини

Інсулін – невеликий глобулярний білок, що містить 51 амінокислотний залишок і складається з двох поліпептидних ланцюгів, пов'язаних між собою двома дисульфідними містками (рис. 2.1). Механізм синтезу інсуліну за своєю суттю такий самий, як будь-якого іншого білка прокаріотичною клітиною. На рибосомах шорсткої ендоплазматичної сітки синтезується пептид-попередник – т. зв. препроінсулін. Він являє собою поліпептидний ланцюг, побудований з 110 амінокислотних залишків і включає в себе розташовані послідовно включаючи сигнальний пептид (помаранчевий), ланцюг В (синій), сполучний пептид (С-пептид, жовтий) і ланцюг А (червоний) [28].

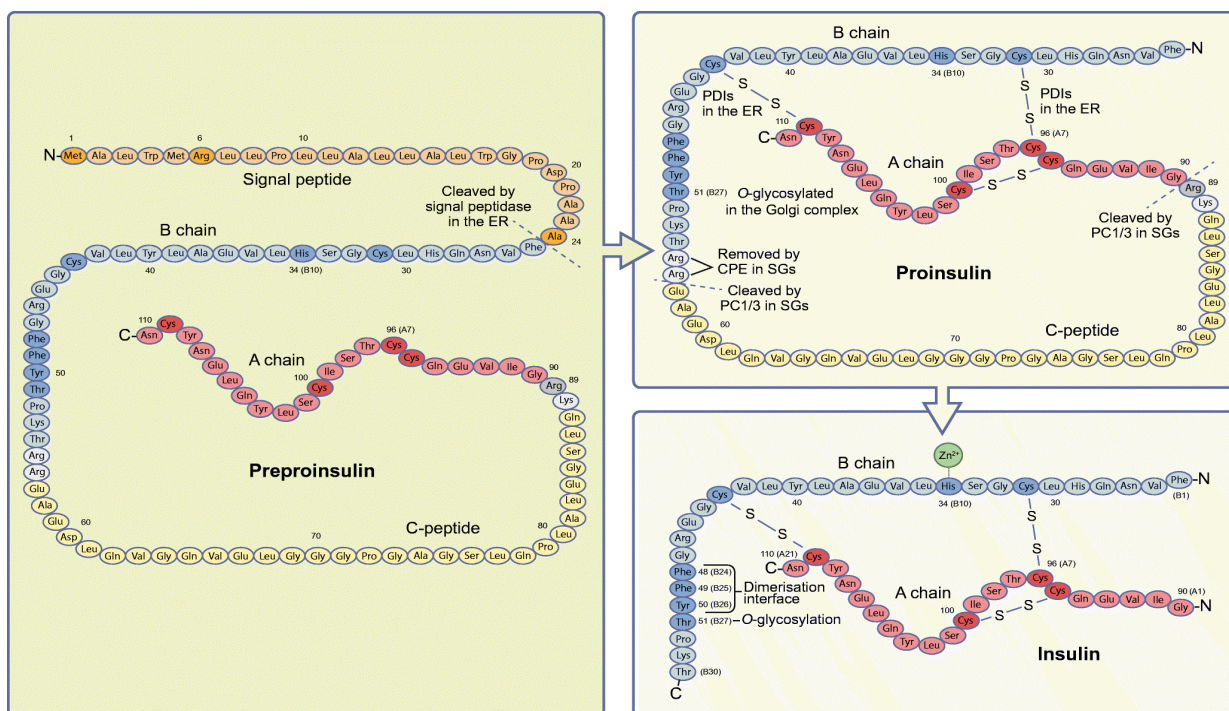


Рис. 2.1. – Структура молекул препроінсуліну, проінсуліну та інсуліну [25]

Сигнальний пептид з N-кінцевою гідрофобною ділянкою спрямує препроінсулін до ендоплазматичного ретикулуму (ER), де він розщеплюється

					БЕ0101.МД.ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ	Стадія	Арк.	Акруші
Розроб.	Коравка К. А.						26	181
Конс.								
Керів.	Зубченко Л. С.						КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ	
Затверд.								

сигнальною пептидазою і перетворюється на проінсулін. У ER за допомогою PDI утворюються три дисульфідні зв'язки між залишками цистеїну. Проінсулін транспортується з ER через мережу Гольджі та транс-Гольджі до секреторних гранул (SG), де PC1/3 і CPE переробляють двоосновні залишки (сірі) для утворення зрілого інсуліну.  $Zn^{2+}$  нековалентно зв'язується з HisB10, утворюючи гексамер інсуліну. Амінокислоти, згадані в тексті, показані темнішим кольором[57].

При видаленні кінцевого сигнального пептидів (23 амінокислотних залишку) пептидаз в клітині утворюється проінсулін з 86 амінокислотних залишків, в якому А і В-ланцюги інсуліну з'єднані С-пептидом (35 амінокислотних залишків), що забезпечує їм необхідну орієнтацію при замиканні дисульфідних зв'язків. Проінсулін позбавлений біологічної, тобто гормональної, активності. Місцем синтезу проінсуліну вважається мікросомальна фракція. Після протеолітичного відщеплення С-пептиду утворюється інсулін. При виробленні проінсуліну, попередника інсуліну, деякий захист від протеаз забезпечується тим, що поліпептид, секретується в периплазмі біля клітинної стінки *E.coli*. На N-кінці молекули проінсуліну знаходиться послідовність гідрофобних амінокислот, за допомогою якої (з одночасним її відщепленням) здійснюється транспорт цієї молекули [10].

мРНК препроінсуліну стабілізується шляхом її зв'язування з різними hnRNP в цитозолі. Трансляція препроінсуліну та його транслокація в ER починається після утворення та активації рибосомного комплексу. Після згортання проінсуліну в ER та видалення С-пептиду зрілий інсулін утворюється в секреторних гранулах (SG). Зміни навколишнього середовища, такі як метаболічний стрес або запалення, які можуть перешкоджати цьому високорегульованому процесу, показані червоним кольором для діабету 2 типу (T2D) і оранжевим для діабету 1 типу (T1D); генетичні зміни, що призводять до різних типів діабету, позначені синім (СД2 та гестаційний цукровий діабет [ГСД]) і зеленим (цукровий діабет новонароджених). ATF6, активуючий фактор транскрипції 6; мікроРНК, мікроРНК; SRP, частинка розпізнавання сигналу; TGN, мережа транс-Гольджі[8]. Узагальнена схема синтезу та секреції інсуліну зображена на рис 2.2.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		27

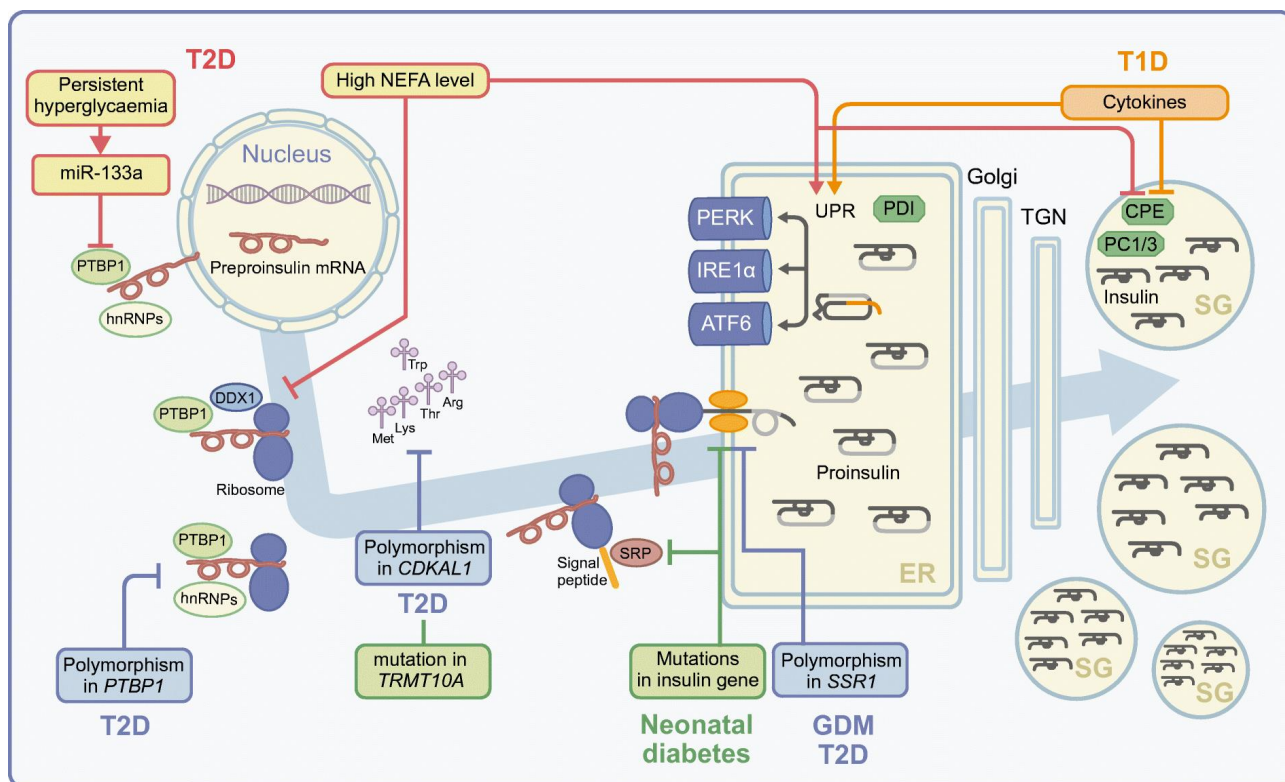


Рис. 2.2. – Схема виробництва та секреції інсуліну від мРНК до зрілого гормону. [25]

## 2.2. Характеристика кінцевого продукту

Insulin Human (інсулін людини), дрібнокристалічний порошок (нестерильна субстанція) білого або майже білого кольору, який виробляється шляхом мікробіологічного синтезу з використанням модифікованого за г-ДНК-технологією штаму-продуценту *Escherichia coli* і додатково очищується методом іонообмінної хроматографії та застосовується для виробництва високоочищеної субстанції інсуліну людини рекомбінантного для виробництва готових стерильних лікарських форм[51].

В ході виробництва порошку інсуліну людини проходять стадії виробничого біосинтезу, деінтеграції біомаси, відмивання тілець включення, рефолдингу, тобто відновлення нативної структури білка, катіоннообмінної та аніонообмінної хроматографічних очисток, гідролізу, іонообмінної хроматографічної очистки «сирого» інсуліну з наступною кристалізацією, фільтрацією і висушуванням кристалів інсуліну людини, в результаті чого отримують нестерильну субстанцію, порошок інсуліну людини.

									Арк.
									28
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата					

БЕ0101.МД.ПЗ

В таблиці 2.1 наведені основні показники та їх значення.

Таблиця 2.1. – Основні показники препарату інсуліну людини

Показники	Значення
Емпірична формула (рис. 3)	$C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$
Відносна молекулярна маса	5808
Втрата в масі при висушуванні	не більше 10 %
Питомий показник поглинання	від 9,6 до 11,2
Кількісне визначення	субстанція містить не менше 85,0 % інсуліну людини, у перерахунку на суху речовину

Виробництво інсуліну людини, порошку (нестерильної субстанції) здійснюється у відповідності до технологічного промислового регламенту. За якістю препарат повинен відповідати вимогам аналітичної нормативної документації (АНД) та реєстраційного посвідчення, затвердженого наказом МОЗ України.

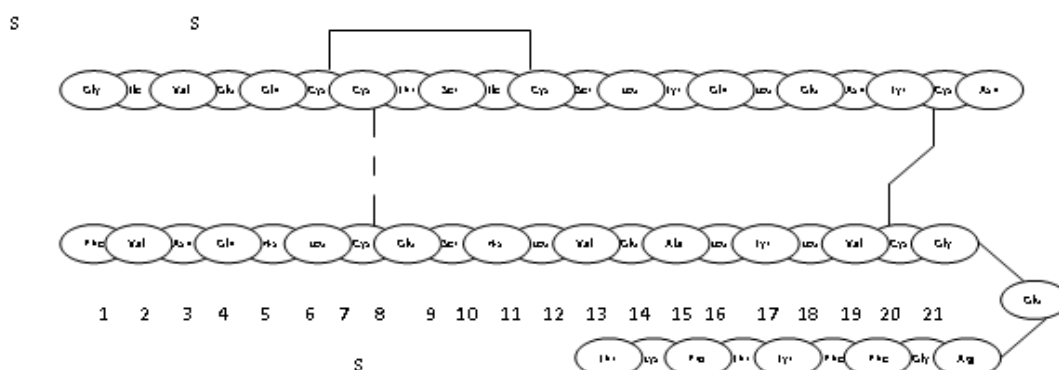


Рис. 3. Структурна формула молекули інсуліну

Пакування: по 0,5 – 3,0 кг у герметично закриті ємкості з поліетилену високої щільності або нержавіючої сталі, які зберігаються при температурі - 20 °С.

Маркування: на етикетці зазначають назву виробника, Україна, товарний знак, адресу, назву препарату на англійській і українській або російській мовах, масу препарату, умови зберігання, реєстраційний номер, номер серії, термін придатності.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						29
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Транспортне маркування відповідно за ГОСТ 14192-96, з нанесенням маніпуляційного знака „Обмеження температури”.

Транспортування: відповідно за ГОСТ 17768-90.

Зберігання: при температурі  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Термін придатності: 2 роки.

Фармакотерапевтична група: гіпоглікемічний засіб [51].

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						30
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

### 3. ТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА РЕКОМБІНАНТНОГО ІНСУЛІНУ ЛЮДИНИ

#### 3.1.Характеристика сировини, матеріалів і напівпродуктів

В таблиці 1 наведені всі необхідні речовини і матеріали, що використовуються в ході виробництва.

Таблиця 3.1 — Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів

Найменування	Категорія і номер НТД, відповідно до якої перевіряють необхідні показники	Показники НТД, обов'язкові для перевірки	Примітки
1	2	3	4
1. Основна сировина			
Аміак розчин концентрований (чда)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС АК 01	Опис: прозора, безбарвна рідина з характерним різким запахом. Ідентифікація (реакція розчину): сильно лужна рН > 10. Кількісне визначення: 25,0 - 30,0 %, у перерахунку на NH <sub>3</sub> . Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Рідина для коректування значення рН
Амонію ацетат (хч, чда)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС АА 02	Опис: безбарвні гігроскопічні кристали. Ідентифікація : - тест на солі амонію: забарвлення вологого червоного лакмусового паперу в синій колір; - тест на ацетати: поява червоно-бурого забарвлення. Кількісне визначення: ≥ 98,0 %. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для приготування буферного розчину
Амонію сульфат (хч, чда)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС АС 05	Опис: безкольорові кристали або білі гранулі, що розпливаються у повітрі або розкладаються під дією води. Ідентифікація: - тест на солі амонію: при нагріванні виділяються пари аміаку, які визначають по запаху і лужній реакції; - тест на сульфати: білий осад з розчином барію хлориду. рН 5 % розчину: від 4,5 до 6,0. Втрата в масі при висушуванні: ≤ 1,0 %. Кількісне визначення: ≥ 99,0 %, у перерахунку на суху речовину. Мікробіологічна чистота: загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10 <sup>3</sup> КУО бактерій і не більше 10 <sup>2</sup> КУО грибів в 1г; відсутність бактерій родини <i>Enterobacteriaceae</i> в 1 г, відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г, відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту

					БЕ0101.МД.ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	ТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА РЕКОМБІНАНТНОГО ІНСУЛІНУ ЛЮДИНИ	Стадія	Арк.	Акрушів
Разроб.		Коравка К. А.					30	181
Конс.						КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ		
Керів.		Зубченко Л. С.						
Затверд.								

## Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
Амонію хлорид (ч, хч)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС АХ 06	Опис: кристалічний порошок білого кольору або безбарвні кристали. Ідентифікація: - тест на хлориди: характерна реакція (b) фіолетово-червоне забарвлення з дифенілкарбазидом; - тест на солі амонію - жовтий осад з натрію гексакобальтонітридом. Втрата в масі при висушуванні: $\leq 1,0$ %. Кількісне визначення: 99,0 - 105,0 %, у перерахунку на суху речовину. Мікробіологічна чистота: загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше $10^3$ КУО бактерій і не більше $10^2$ КУО грибів в 1 г; відсутність бактерій родини <i>Enterobacteriaceae</i> в 1 г, відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г, відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування..	Речовина для вирощування культури клітин штаму-проду-центу, для приготування буферного розчину
Бензамідину гідрохлорид (для синтезу)	ОКК ДОК СТ 0007 Специфікація ОКК ВИР ТС БГ 08	Опис: білі або жовто-білі кристали. Ідентифікація: ІЧ-спектр бензамідину гідрохлориду повинен співпадати з ІЧ-спектром ФСЗ бензамідину гідрохлориду. Вода по К.Ф.: $\leq 15,0$ %. Кількісне визначення: 95,0 - 105 %, в перерахунку на суху речовину. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для ферментативної конверсії рефолдованого гібридного білка
Вода очищена „in bulk”	ОКК ДОК СТ 0006 специфікація ОКК ВОД ТС ВО 02	Опис: прозора, безбарвна рідина без смаку і запаху. рН: 5,0 - 7,0. Нітрати: не більше 0,00002 % (0,2 ppm). Речовини, що можуть окислюватися: ледве рожеве забарвлення з калієм перманганатом. Важкі метали: не більше 0,00001 % (0,1 ppm). Питома електропровідність: не більше 4,3 мкСм $\cdot$ см <sup>-1</sup> при 20 °С. Мікробіологічна чистота: не більше 10 КУО/100 см <sup>3</sup> * не більше 100 КУО/см <sup>3</sup> . Бактерійні ендотоксини*: не більше 0,25 МО/см <sup>3</sup>	Рідина для одержання субстанції
	ОКК ДОК СТ 0006 специфікація ОКК ВОД ТС ВП 04	Опис: прозора, безбарвна рідина без смаку і запаху. рН: 5,0 - 7,0. Питома електропровідність: не більше 4,3 мкСм $\cdot$ см <sup>-1</sup> при 20 °С. Мікробіологічна чистота: не більше 100 КУО/см <sup>3</sup> . Специфічні мікроорганізми: відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 10 см <sup>3</sup>	Рідина для одержання субстанції



## Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
Гліцерин (фарм.)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ГЛ 09	Опис: сиропоподібна, масляниста на дотик, безбарвна, або майже безбарвна, прозора рідина, дуже гігроскопічна. Ідентифікація: ІЧ-спектр гліцерину повинен співпадати з ІЧ-спектром ФСЗ гліцерину; - показник заломлення: 1,470 - 1,475. Вода по К.Ф.: не більше 2,0 %. Кількісне визначення: 98,0 - 101,0 %, у перерахунку на безводну речовину. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту, для одержання субстанції
Гліцин (Ph. Eur.; BP, USP)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ГЦ 10	Опис: кристалічний порошок білого кольору. Ідентифікація: ІЧ-спектр гліцину повинен співпадати з ІЧ-спектром ФСЗ гліцину. Втрата в масі при висушуванні: $\leq 0,5\%$ . Кількісне визначення: 98,5 - 101,0 % в перерахунку на суху речовину. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для рефолдингу гібридного білка
Глюкоза моногідрат (фарм.)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ГК 11	Опис: білий, кристалічний порошок, солодкий на смак, без запаху, легко розчинний в воді, помірно розчинний у спирті. Ідентифікація: тест з реактивом Фелінга - червоний осад (глюкоза) в умовах тесту. Вода по К.Ф.: 7,0 % - 9,5 %. Питоме оптичне обертання: від $+ 52,5^0$ до $+ 53,3^0$ , в перерахунку на суху речовину. Мікробіологічна чистота: Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше $10^3$ КУО бактерій і не більше $10^2$ КУО грибів в 1 г; відсутність бактерій родини <i>Enterobacteriaceae</i> в 1 г, відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г, відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту
Диамонію гідрофосфат (ч, хч)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ДФ 13	Опис: білі кристали або гранули, гігроскопічний. Ідентифікація: в умовах тесту при нагріванні виділяється аміак, характерна лужна реакція; - тест на фосфати: характерна реакція (b) - жовте забарвлення з молібденованадієвим реагентом в умовах тесту. рН розчину: 7,6 - 8,2. Кількісне визначення: 96,0 - 102,0 %. Мікробіологічна чистота: Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше $10^3$ КУО бактерій і не більше $10^2$ КУО грибів в 1 г; відсутність бактерій родини <i>Enterobacteriaceae</i> в 1 г, відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г, відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		32



## Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
Дикалію фосфат (чда)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ДК 14	Опис: кристалічний порошок білого кольору або безбарвні кристали, дуже гігроскопічний. Ідентифікація: слабколужна реакція, рН 8,0 - 10,0; - тест на фосфати: характерна реакція (b) - жовте забарвлення з молібденованадієвим реагентом в умовах тесту; - тест на калій: характерна реакція (a) - білий кристалічний осад з кислотою винною в умовах тесту. рН розчину: 8,0 - 10,0. Втрата в масі при висушуванні: $\leq 2,0\%$ . Кількісне визначення: 98,0 - 101,0 %, у перерахунку на суху речовину. Мікробіологічна чистота: Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше $10^3$ КУО бактерій і не більше $10^2$ КУО грибів в 1 г; відсутність бактерій родини <i>Enterobacteriaceae</i> в 1 г, відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г, відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту
Дезоксирибонуклеаза (ДНКаза)	ОКК ВИР СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ДЗ 54	Опис: кристалічний порошок білого кольору. Білок загальний (за біуретом): не менше 85 %. Активність: 400 -800 ОД Куниця/мг білка. Протеолітична активність: $\leq 0,075$ ОО Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для відмивання тілець включення
Дріжджовий екстракт сухий (для лабораторного застосування)	ОКК ВИР СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ДЖ 16	Опис: коричнюватого-жовтий, однорідний, легко плинний порошок, гігроскопічний, с характерним запахом, але без гнилісного. рН розчину: 5,5 - 7,0. Загальний азот: 7,2 - 9,5 %. Втрата в масі при висушуванні: $\leq 5,0\%$ . Мікробіологічна чистота: Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше $10^3$ КУО бактерій і не більше $10^2$ КУО грибів в 1 г; відсутність бактерій родини <i>Enterobacteriaceae</i> в 1 г, відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г, відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г. Мікробіологічний контроль якості: здатність підтримувати рост <i>E. coli</i> . Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для приготування поживного середовища
Заліза (II) сульфат гептагідрат (чда)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ЖС 19	Опис: кристалічний порошок світло-зеленуватого кольору або блакитнуватого-зелені кристали, розпливається на повітрі. Ідентифікація:- тест на сульфати: характерна реакція (a) - білий осад з розчином барію хлориду в умовах тесту; - тест на $Fe^{2+}$ : характерна реакція (a) - синій осад з розчином калію феріціаніду в умовах тесту. рН розчину: 3,0 - 4,0. Кількісне визначення: 98,0 - 105,0 %, у перерахунку на $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ . Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту

## Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
Ізопропанол (ч)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ИП 17	Опис: безбарвна прозора рідина. Ідентифікація (ГХ): на хроматограмі досліджуваного зразка час утримання піку ізопропанолу повинен співпадати з часом утримання піку ізопропанолу на хроматограмі розчину порівняння. Відносна густина: 0,785 - 0,789 г/см <sup>3</sup> . Вода по К.Ф.: ≤ 0,5 %. Абсорбція (λ= 276 нм): ≤ 0,05. Кількісне визначення: ≥ 98 %. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Рідина для одержання субстанції
Ізопропіл □-D-1-тіогалактопіранозид (IPTG) (для молекулярної біології)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ИГ 18	Опис: білий, аморфний порошок. Ідентифікація: див. тест „Питоме оптичне обертання” Вода по К.Ф.: ≤ 5,0 %. Питоме оптичне обертання 1 % розчину [□□ <sub>D</sub> <sup>20</sup> : від - 28,5 <sup>0</sup> до -29,5 <sup>0</sup> , у перерахунку на безводну речовину. Кількісне визначення: ≥ 99,0 %, у перерахунку на безводну речовину. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для індукції синтезу рекомбінантного білка
Кальцію ацетат гідратований (ч, чда)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС КА 21	Опис: безбарвні голчасті кристали. рН розчину: 7,2 - 7,8. Вода по К.Ф.: ≤ 7,0 %. Кількісне визначення: 98,0 - 102,0 %, в перерахунку на безводну речовину. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для ферментативної конверсії рефолдованого гібридного білка
Кальцію хлорид дигідрат (Ph. Eur.; BP, USP)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС КХ 22	Опис: кристалічний порошок білого кольору, гігроскопічний. Ідентифікація: - тест на хлориди: характерна реакція (а) - білий осад з срібла нітратом в умовах тесту; - тест на іони кальцію: реакція (с) - білий осад з амонієм оксалатом в умовах тесту. Кількісне визначення: 97,0 - 103,0 %, у перерахунку на CaCl <sub>2</sub> * 2H <sub>2</sub> O. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту
Канаміцину сульфат (Ph. Eur.; BP, USP)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС КН 24	Опис: кристалічний порошок білого, або майже білого кольору. Ідентифікація: - тест на сульфати - білий осад з барію хлоридом в умовах тесту; - з нінгідрином фіолетове забарвлення. Втрата в масі при висушуванні: ≤ 1,5%. Кількісне визначення: антимікробна активність не менше 670 ОД/1 мг, у перерахунку на суху речовину. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		34

## Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
Карбоксипептидаза В (очищена)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС КВ 25	Опис: прозора, безбарвна рідина. Кількісне визначення: - активність: $\geq 2000$ ОД/см <sup>3</sup> . - питома активність: $\geq 100$ ОД/мг білка. Відсутність свинячих вірусів. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Рідина для ферментативного гідролізу рефолдованого гібридного білка
Кислота лимонна моногідрат (харчова, фарм.)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікації ОКК ВИР ТС ЛМ 26	Опис: кристалічний порошок білого кольору або безбарвні кристали або гранули, вивітрюються на повітрі. Ідентифікація: сильноокисла реакція по конго червоному індикаторному папері перехід у зелений або блакитний pH < 4; - ІЧ-спектр кислоти лимонної моногідрату повинен співпадати з ІЧ-спектром ФСЗ кислоти лимонної моногідрату; Вміст води по К.Ф.: 7,5 - 9,0 %. Кількісне визначення: 99,5 - 101,0 %, у перерахунку на безводну речовину. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту, одержання субстанції
Кислота оцтова льодяна (хч)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС КУ 28	Опис: кристалічна маса або прозора, безбарвна рідина. Ідентифікація: тест на ацетати характерна реакція (b) утворення блакитного осаду або темно-синього забарвлення. Сухий залишок: $\leq 0,01$ %. Кількісне визначення: 99,0 - 100,5 %. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Рідина для одержання субстанції.
Кислота фосфорна концентрована (хч)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС КФ 29	Опис: прозора, безбарвна сиропоподібна їдка рідина. Ідентифікація : - розчин у воді дає сильноокислу реакцію; - тест на фосфати: характерна реакція (b) на фосфати - жовте забарвлення з молібденованадієвим реагентом; Кількісне визначення: від 84,0% до 90,0% Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Рідина для одержання субстанції
Кислота хлористоводнева концентрована (хч)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ХК 27	Опис: прозора, безбарвна рідина, димляча з характерним їдким запахом, змішується з водою. Ідентифікація: тест на хлориди: характерна реакція (b) фіолетово-червоне забарвлення з дифенілкарбазидом. Кількісне визначення: 35,0 - 39,0 %. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Рідина для одержання субстанції
Лізоцим з білка курячих яєць	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ЛЦ 55	Опис: порошок білого кольору Ферментативна активність: 50000 – 100000 ОД/мг Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для відмивання тілець включення

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		35

## Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
Магнію сульфат гептагідрат (хч, фарм.)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС МГ 30	Опис: кристалічний порошок білого кольору або блискучі безбарвні кристали, легко розчинні у воді. Ідентифікація: - тест на сульфати: характерна реакція (а) утворення білого осаду з розчином барію хлориду в умовах тесту; - тест на магній: характерна реакція утворення білого кристалічного осаду з розчином динатрію гідрофосфату в умовах тесту. Втрата в масі при висушуванні: 48,0 - 52,0 %. Кількісне визначення: 99,0 - 100,5 %, у перерахунку на суху речовину. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту
Магнію хлорид гексагідрат (ч, хч)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ХМ 56	Опис: безбарвні кристали. Гігроскопічний. Ідентифікація: - має витримувати випробування «Вода» - тест на хлориди: характерна реакція (а) утворення білого сирнистий осаду з розчином срібла нітрату, який швидко розчиняється при додаванні розчину аміаку - тест на магній: характерна реакція утворення білого кристалічного осаду з розчином динатрію гідрофосфату в умовах тесту. Кількісне визначення: не менше 98,0 % і не більше 101,0 %, у перерахунку на $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ . Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для відмивання тілець включення
Марганцю (II) хлорид тетрагідрат (extra pure)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС МХ 31	Опис: рожеві кристали, розпливаються на повітрі. Ідентифікація: - тест на хлориди: характерна реакція (а) утворення білого осаду з розчином срібла нітрату в умовах тесту; - тест на марганець: характерна реакція (а) - рожевий осад з розчином натрію сульфіді в умовах тесту. рН розчину: 3,5 - 6,0. Втрата в масі при висушуванні: 36,0 - 38,5 %. Кількісне визначення: 98,0 - 101,0 %, у перерахунку на суху речовину. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту
Міді сульфат пентагідрат (хч)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС МС 32	Опис: кристалічний порошок синього кольору або прозорі сині кристали, легко розчинні в воді. Ідентифікація: - тест на сульфати: характерна реакція (а) - білий осад з розчином барію хлориду в умовах тесту; - з декількома краплями розчину аміаку розведеним - синій осад; - див. тест «Втрата в масі при висушуванні». Втрата в масі при висушуванні: 35,0 - 36,5 %. Кількісне визначення: 99,0 - 101,0 %, у перерахунку на суху речовину. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		36

## Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
□-Меркаптоетанол (хч)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС МЭ 33	Опис: світло-жовта або безбарвна рідина з різким характерним запахом. Ідентифікація: ІЧ-спектр □-Меркаптоетанолу повинен співпадати з ІЧ-спектром ФСЗ □-Меркаптоетанолу. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Рідина для відновлення гібридного білка
Натрію ацетат тригідрат	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС НА 35	Опис: безбарвні кристали, дуже легко розчинні у воді, легко розчинні у 96 % спирті. Ідентифікація : - тест на ацетати: характерна реакція (b) на ацетати; - тест на натрій: характерна реакція (a) на натрій; рН 10% розчину: від 7,5 до 9,0; Втрата в масі при висушуванні: від 39,0 % до 40,5 %; Кількісне визначення: від 99,0 % до 101,0 % у перерахунку на суху речовину Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Приготування буферних розчинів
Натрію гідроксид (хч, чда)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС НГ 36	Опис: біла кристалічна маса в формі гранул, паличок або пластинок, які розпливаються на повітрі, швидко поглинає СО <sub>2</sub> повітря. Ідентифікація: - рН розчину: > 11,0; - тест на натрій: характерна реакція (a) білий осад з калієм піроантимонатом. Кількісне визначення: 97,0 - 100,5 %. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для одержання субстанції
Натрію молібдат дигідрат	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС НМ 37	Опис: кристалічний порошок білого кольору або безбарвні кристали. Ідентифікація: - тест на натрій: характерна реакція (a) білий осад з калієм піроантимонатом; - тест на молібден: жовтий осад з динатрієм гідрогенфосфатом; Втрата в масі при висушуванні: від 14,0% до 16,0 %; Кількісне визначення: від 98,0 % до 100,5 %.	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту
Натрію тетраборат декагідрат (ч)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС НТ 38	Опис: білий кристалічний порошок або безбарвні кристали, або кристалічна маса, розпливається на повітрі. Ідентифікація: при додаванні кислоти сірчаної та метанолу - полум'я з зеленою окантовкою; - з фенолфталеїном - червоне забарвлення; - тест на натрій: характерна реакція (b) - білий кристалічний осад з метоксіфенілоцтовокислотним реагентом в умовах тесту. рН розчину: 9,0 - 9,6. Кількісне визначення: 99,0 - 103,0 %, у перерахунку на Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> *10H <sub>2</sub> O. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						37
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
Натрію хлорид (Extra pure, фарм.)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС НХ 39	Опис: білий кристалічний порошок або безбарвні кристали. Ідентифікація: - тест на натрій: характерна реакція (а) - білий осад з калієм піроантимонатом; - тест на хлориди: характерна реакція (а) - білий осад з срібла нітратом. Втрата в масі при висушуванні: $\leq 0,5$ %. Кількісне визначення: 99,0 - 100,5 %, у перерахунку на суху речовину. Мікробіологічна чистота: Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше $10^3$ КУО бактерій і не більше $10^2$ КУО грибів в 1 г; відсутність бактерій родини <i>Enterobacteriaceae</i> в 1 г, відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г, відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту, іонообмінної хроматографічної очистки гібридного білка, інсуліну
Неіонний детергент Triton X-100 (GR)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ТР 49	Опис: прозора, безбарвна рідина, масляниста на дотик. Ідентифікація: - див. тест „Відносна густина” Відносна густина: 1,064 – 1,070 г/см <sup>3</sup> . рН розчину: 6,0 – 8,0. Вода по К.Ф.: $\leq 0,6$ %. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Рідина для отримання тілець включення
Пропінол Б 400 (хч)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ПР 42	Опис: рідина від безбарвного до світло-жовтого кольору. Кінематична в'язкість: від 400 до 600 Сст Коефіцієнт заломлення: 1,4318. Вміст води (К.Ф.): $\leq 0,8$ %. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для пінагасіння середовища культивування
Рибонуклеаза I Тип А (РНКаза)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС РН 57	Опис: білий кристалічний порошок Активність: $\geq 40$ ОД Куниця/мг білка. Протеолітична активність: $\leq 0,075$ ОО Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для відмивання тілець включення
Робочий банк штаму мікроорганізму <i>E. coli</i> BL21/ РІК8-proins у пробірках	ОКК ДОК СТ 0007 специфікації ОКК ВИР ТС РБ 43	Морфологічна однорідність: грам негативні палички розміром менше 1 мкм, що утворюють на агаризованому середовищі однотипні округлі напівпрозорі колонії білого кольору. Резистентність до антибіотиків: здатність утворювати характерні однотипні колонії на поживному середовищі, що містить канаміцин в концентрації 30 мкг/см <sup>3</sup> . Здатність до індукованої експресії рекомбінантного білка: індукування синтезу поліпептиду приблизно 12 кДа. Наявність рекомбінантної поліпептиди: характерний набір ДНК фрагментів: 2767 п.н.; 1728 п.н., 999 п.н.; 93 п.н. Первинна нуклеотидна послідовність ДНК – вставки: послідовна та ідентична до ДНК проінсуліну людини. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Основна сировина

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		38

## Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
Сечовина (хч)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікації ОКК ВИР ТС МЧ 34	Опис: кристалічний порошок білого кольору або безбарвні кристали, мало гігроскопічні. Ідентифікація: - утворення білого кристалічного осаду з азотною кислотою в умовах тесту; - червоно-фіолетове забарвлення з розчином міді (II) сульфату в лужному середовищі в умовах тесту. Втрата в масі при висушуванні: $\leq 1,0$ %. Кількісне визначення: 99,0 - 101,0 %, у перерахунку на суху речовину. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для одержання гібридного білка, іонообмінної хроматографічної очистки білка
Тіаміну гідрохлорид (фарм.)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ТИ 45	Опис: кристалічний порошок білого або майже білого кольору або безбарвні кристали. Ідентифікація: - ІЧ-спектр тіаміну гідрохлориду повинен співпадати з ІЧ-спектром ФСЗ тіаміну гідрохлориду; - тест на хлорид: характерна реакція (а) - білий осад з срібла нітратом в умовах тесту. Вода по К.Ф.: $\leq 5,0$ %. Кількісне визначення: 98,5 - 101,5 %, у перерахунку на безводну речовину. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту, індукції синтезу рекомбінантного білка
Трилон Б (ч, чда)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ТБ 46	Опис: кристалічний порошок білого кольору. Ідентифікація: ІЧ-спектр трилону Б повинен співпадати з ІЧ-спектром ФСЗ трилону Б; рН розчину: 4,0 – 5,5. Кількісне визначення: 98,5 - 101,0 %, у перерахунку на $\text{Na}_2\text{ЭДТА} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для отримання тілець включення, одержання гібридного білка, субстанції
Трипсин «для біохімії»	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВСО ТС ТП 47	Опис: білий або майже білий кристалічний або аморфний порошок, аморфна форма гігроскопічна. Активність: $\geq 40,0$ ОД. акт./мг. Хімотрипсин: $\leq 0,002$ ОД. акт./мг. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для ферментативного гідролізу рефолдованого гібридного білка
Пептон сухий ферментативний (для бактеріологічної мети)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ПФ 41	Опис: однорідний аморфний порошок від білого до жовтого кольору, з характерним запахом, без гнилісного. рН розчину: 6,5 - 7,0. Втрата в масі при висушуванні: $\leq 7,0$ %. Загальний азот: $\leq 14,0$ %. Вільний білок $\lambda = 630$ нм: $\leq 0,25$ . Мікробіологічна чистота: Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше $10^3$ КУО бактерій і не більше $10^2$ КУО грибів в 1 г; відсутність бактерій родини <i>Enterobacteriaceae</i> в 1 г, відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г, відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г. Мікробіологічний контроль якості: здатність підтримувати рост <i>E. coli</i> . Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для приготування поживного середовища

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

БЕ0101.МД.ПЗ

Арк.

39

## Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
Трометамол 2-Аміно-2 (гідроксиметил)-1,3 -пропандіол [Трис (оксиметил) аміноме-тан] (extra pure)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ТМ 50	Опис: білий кристалічний порошок або безбарвні кристали. Ідентифікація: ІЧ-спектр трометамолу повинен співпадати з ІЧ-спектром ФСЗ трометамолу. Втрата в масі при висушуванні: $\leq 0,5\%$ . Кількісне визначення: 99,5 - 100,5 % у перерахунку на суху речовину. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для отримання тілець включення, одержання гібридного білка, одержання субстанції
Цинку сульфат гептагідрат (хч, чда)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ЦС 51	Опис: кристалічний порошок білого кольору або безбарвні прозорі кристали, що розпливаються на повітрі. Ідентифікація: - тест на сульфати: характерна реакція (а) - білий осад з розчином барію хлориду в умовах тесту; - тест на цинк: характерна реакція (а) з розчином натрію сульфідіду - білий пластинчастий осад, в умовах тесту; - див. тест „Кількісне визначення”. рН розчину: 4,4 - 5,6. Кількісне визначення: 99,0 - 104,0 %, у перерахунку на $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ . Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для вирощування культури клітин штаму-продуценту
Цинку хлорид безводний (чистий для ААС)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ЦХ 52	Опис: кристалічний порошок білого кольору або литі білі палички, що розпливаються на повітрі. Ідентифікація: - тест на цинк: характерна реакція (а) утворення білого пластинчастого осаду з розчином натрію сульфідіду, в умовах тесту; - тест на хлориди: характерна реакція (а) утворення білого сироподібного осаду з срібла нітратом, що розчиняється в аміаку в умовах тесту. рН розчину: 4,6 - 5,5. Кількісне визначення: 95,0 - 100,5 %. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для одержання субстанції
Цистин (ч)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ЦН 53	Опис: білий кристалічний порошок. Ідентифікація: див. тест „питоме оптичне обертання”; Питоме оптичне обертання: від - 215 <sup>0</sup> до - 225 <sup>0</sup> , у перерахунку на суху речовину. Втрата в масі при висушуванні: $\leq 0,2\%$ . Кількісне визначення: 97,0 - 103,0 %, у перерахунку на суху речовину. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Речовина для рефолдингу гібридного білка

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						40
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		



## Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
<b>2. Матеріали:</b>			
Етикетки із паперу етикеткового за ГОСТ 7625-86 або за ГОСТ 18510-87Е	Затвердженого зразка до АНД до Р.П № UA/3863/01/01, затвердженого наказом МОЗ України № 589 від 09.11.2005 р	Зовнішній вигляд. Текст. Якість поліграфічного виконання. Матеріал. Маса паперу площею 1м <sup>2</sup> . Розмір. Пакування. Маркування згідно затвердженого зразку. Транспортування. Умови зберігання. Термін придатності.	Для маркування готової продукції
Комплекти спецодягу чоловічі та жіночі для чистих приміщень	ОКК ДОК СК 0005	Зовнішній вигляд. Упаковка, маркування.	Одяг персоналу
Пакети з плівки поліетиленової	ОКК ДОК СК 0007	Зовнішній вигляд. Упаковка. Маркування. Термін придатності	Для фасування напівпродуктів
Папір етикетковий або для письма	ОКК ДОК СК 0007 ГОСТ 7625-86Е ГОСТ 18510-87Е	Зовнішній вигляд. Направленість волокон. Матеріал. Розміри. Пакування. Маркування. Транспортування. Умови зберігання. Термін придатності.	Для маркування готової продукції
Пробірки одноразові стерильні з кришками (місткістю 50 см <sup>3</sup> )	ОКК ДОК СП 0007, сертифікат якості виробника	Зовнішній вигляд. Упаковка, маркування, цілісність упаковки. Термін придатності	Для відбору проб посівної культури клітин
Рукавички одноразові нестерильні	ОКК ДОК СК 0005, гігієнічний висновок, сертифікат якості виробника	Зовнішній вигляд.. Упаковка, маркування. Термін придатності.	Захисний засіб для персоналу
Рукавички хірургічні одноразові стерильні	ОКК ДОК СК 0005, гігієнічний висновок, сертифікат якості виробника	Зовнішній вигляд. Упаковка, маркування, цілісність упаковки. Термін придатності.	Захисний засіб для персоналу
Рукавички хімічно-стійкі ("Латекс")	ОКК ДОК СК 0005, гігієнічний висновок, сертифікат якості виробника	Зовнішній вигляд. Термін придатності. Упаковка, маркування.	Захисний засіб для персоналу
Серветки безворсові антистатичні	ОКК ДОК СК 0007, сертифікат якості виробника	Зовнішній вигляд. Упаковка, маркування. Термін придатності.	Дезінфікуюча обробка обладнання
Сорбенти:  Toyoperl MegaCap II SP-550EC	ОКК ДОК СК 0007 сертифікат якості виробників: "TOSOH", Японія	Зовнішній вигляд. Упаковка, маркування. Термін придатності  Розмір часток 100 - 300 мкм. Розмір пор 500 Å.. рН стабільність 2,0 - 13,0. Тиск ≤ 3,0 bar	Для концентрування рефолдованого гібридного білка
Q SEPHAROSE FAST FLOW	„GE”, США	Розмір часток 45 - 165 мкм. рН стабільність 2,0 - 12,0. Тиск ≤ 3,0 bar	
Toyoperl SP-650S	"TOSOH", Японія	Розмір часток 20 - 40 мкм. Розмір пор 1000 Å. рН стабільність 2,0 - 13,0. Тиск ≤ 3,0 bar	Для хроматографічної очистки інсуліну
Одноразові стерильні фільтри:  „Millex”SLGV033 RS (RB, RK)	ОКК ДОК СК 0007 Сертифікат якості виробників: Millipore	Зовнішній вигляд. Упаковка, маркування. Термін придатності Syringe Filter, Durapore Sterilizung Grade, утримуюча здатність 0,22 мкм, діаметр 33 мм	Стерилізуюча фільтрація розчинів

БЕ0101.МД.ПЗ

Арк.

41

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

## Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
Фільтрувальні елементи:	ОКК ДОК СК 0007 Сертифікат якості виробників: Millipore	Зовнішній вигляд. Упаковка, маркування. Термін придатності.  Картридж Polygard CN, утримуюча здатність 30,0 мкм, висота картриджа 30", code 7	
CN3H73E06 Polygard-CN			
CN1271E06 Polygard-CN або CN2571E06 Polygard-CN	Millipore  Millipore	Картридж Polygard CN, утримуюча здатність 1,2 мкм, висота картриджа 10", code 7  Картридж Polygard CN, утримуюча здатність 2,5 мкм, висота картриджа 10", code 7	
CRA571006 Polygard-CR	Millipore	Картридж Polygard CR, утримуюча здатність 0,5 мкм, висота картриджа 10", code 7	
CGEP71TP3 Полисульфон	Millipore	Картридж SHF Express Polysulphon, утримуюча здатність 0,22 мкм, висота картриджа 10", code 7	
ULTIPOR® N66, SLK7002NFP	Pall	Абсолютна утримуюча здатність 0,2 мкм	Стерилізуюча фільтрація розчинів
LAGR04TP6 Aervent (PTFE)	Millipore	Картридж Optiseal Aervent, PTFE, абсолютна утримуюча здатність 0,22 мкм, висота картриджа 4"	Стерилізуюча фільтрація стислого повітря
CTGX71TP3 Aerex-2 (PTFE)	Millipore	Картридж Aerex-2, PTFE. Абсолютна утримуюча здатність 0,22 мкм, висота картриджа 10", code 7	Для пакування деталей перед стерилізацією
Фольга алюмінієва ALU – LaborFolie,	ОКК ДОК СК 0007 гігієнічний висновок, сертифікат якості виробника	Зовнішній вигляд. Упаковка, маркування. Розміри: 0,030×500 мм, 100 м в рулоні	
3. Допоміжна сировина:			
Азот рідкий підвищеної чистоти	ГОСТ 9293-74 сертифікат якості виробника	Вміст: об'ємна частка азоту – 99,97 %, об'ємна частка кисню – 0,03 %. Вміст масла: відсутність. Вміст механічних домішок і вологи: відсутність.	Для зберігання пробірок з робочим банком культури клітин штаму-продуценту
Ацетонітрил (extra pure)	специфікація Merck, 1.15500.1000	Вміст (ГХ): ≥ 99,0% Відносна густина (20°C): 0,782 - 0,783 г/см <sup>3</sup> Вода (К.Ф.): ≤ 0,5 % Упаковка. Маркування. Умови зберігання. Термін придатності.	Для проведення аналізів методом ВЕРХ
Бациллоцид® расант	ОКК ДОК СК 0006, сертифікат якості виробника, свідоцтво про державну реєстрацію дезінфекційного засобу № 0036 від 14.05.2004 "Bode Chemie GmbH & Co", Германия	Зовнішній вигляд. Упаковка, маркування. Термін придатності.	Дезінфікуючий засіб для обробки обладнання
Вода очищена „in bulk”	ОКК ДОК СТ 0006 специфікація ОКК ВОД ТС ВО 02	Опис: прозора, безбарвна рідина без смаку і запаху. pH: 5,0 - 7,0. Сухий залишок: не більше 0,001 %. Нітрати: не більше 0,00002 % (0,2 ppm). Речовини, що можуть окислюватися: ледве рожеве забарвлення з калієм перманганатом. Важкі метали: не більше 0,00001 % (0,1 ppm). Питома електропровідність: не більше 4,3 мкСм · см <sup>-1</sup> при 20 °C. Мікробіологічна чистота: не більше 100 КУО/ см <sup>3</sup> .	Розчинник для приготування дез. розчинів, санітарної підготовки виробництва

БЕ0101.МД.ПЗ

Арк.

42

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

## Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
Водню перекис (чда)	ОКК ДОК СК 0006, сертифікат якості виробника	Опис: безбарвна прозора сироподібна рідина. Кількісне визначення: 30,0 - 40,0 %. Фосфати (PO <sub>4</sub> ): ≤ 0,6 г/л. Пакування, цілісність упаковки. Маркування. Умови зберігання. Транспортування. Термін придатності.	Дезінфікуючий засіб для обробки обладнання
Гембар <sup>™</sup>	ОКК ДОК СК 0006 сертифікат якості виробника, свідоцтво про державну реєстрацію дезінфекційного засобу № 0198 від 04.09.2006 ТОВ „Науково-виробниче підприємство „Біоцид”, Україна	Зовнішній вигляд. Упаковка, маркування. Термін придатності.	Дезінфікуючий засіб для обробки приміщень, обладнання
Дисмозон <sup>®</sup> пур	ОКК ДОК СК 0006 сертифікат якості виробника, свідоцтво про державну реєстрацію дезінфекційного засобу № 0035 від 14.05.2004 “Bode Chemie GmbH & Co”, Германия	Зовнішній вигляд. Упаковка, маркування. Термін придатності.	Дезінфікуючий засіб для обробки стін і підлог
ТЕА-АБСК	ОКК ДОК СК 0006 сертифікат якості виробника	Зовнішній вигляд: в'язка рідина світло-коричневого кольору. Відсутність біодобавок. Пакування, цілісність упаковки. Маркування. Транспортування. Умови зберігання. Термін придатності. Виробник по узгодженому списку	Рідина для обробки обладнання, приміщень
Ізопропанол (ч)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС ИП 17	Опис: безбарвна прозора рідина. Ідентифікація (ГХ): на хроматограмі досліджуваного зразку час утримання піка ізопропанолу повинен співпадати з часом утримання піка ізопропанолу на хроматограмі розчину порівняння. Густина: 785,0 – 789,0 г/см <sup>3</sup> . Вміст води по К.Ф.: ≤ 0,5 %. УФ-спектр (λ= 276 нм): ≤ 0,05. Кількісне визначення: > 98 %. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування	Для упаковки хроматографічних колон сорбентом
Кислота оцтова льодяна (хч)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВСО ТС КУ 28	Опис: кристалічна маса або прозора, безбарвна рідина. Ідентифікація: тест на ацетати характерная реакція (b) утворення блакитного осаду або темно-синього забарвлення. Сухий залишок: ≤ 0,01 %. Кількісне визначення: 99,0 - 100,5 %. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Підготовка обладнання.
Мило туалетне	ОКК ДОК СК 0007, сертифікат якості виробника	Зовнішній вигляд. Без запаху. Пакування, цілісність упаковки. Маркування	Для миття шкіри рук

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						43
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
Натрію гідроксид (хч, чда)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС НГ 34	Опис: біла кристалічна маса в формі гранул, паличок або пластинок, які розпливаються на повітрі, швидко поглинає CO <sub>2</sub> повітря. Ідентифікація: - рН розчину: > 11,0; - тест на натрій: характерна реакція (а) білий осад з калієм піроантимонатом. Кількісне визначення: 97,0 - 100,5 %. Термін зберігання. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки. Маркування.	Підготовка обладнання.
Порошок пральний „Лотос”	ОКК ДОК СК 0007, сертифікат якості виробника	Зовнішній вигляд. Без запаху. Упаковка, маркування.	Прання спецодягу
Спирт етиловий (ректифікат)	ОКК ДОК СТ 0007 специфікація ОКК ВИР ТС СЭ 42	Опис: прозора, безбарвна, легкозаймиста (ЛЗР) рідина Ідентифікація (ГХ): на хроматограмі досліджуваного зразку час утримання піка спирту етилового повинен співпадати з часом утримання піка спирту етилового на хроматограмі розчину порівняння. Відносна густина: 0,805 - 0,812 г/см <sup>3</sup> . Супутні домішки (ГХ): метанол: ≤ 0,02 % (200 ppm) Кількісне визначення: 95,1 - 96,9 об. %, 92,6 - 95,2 вагових %. Умови зберігання. Фасування. Пакування, цілісність упаковки.. Маркування.	Дезінфікуючий засіб для обробки рук, обладнання, роботи під факелом
Стериліум®	ОКК ДОК СК 0006 сертифікат якості ви- робника, свідоцтво про державну реєстрацію Реєстраційне посвідче- ння №UA/5846/ 01/01 від 30.01.2007 р. ТОВ „НВП „Вілан”, Україна	Зовнішній вигляд. Упаковка, маркування. Термін придатності.	Дезінфікуючий засіб для обробки рук
Хлорантоін®	ОКК ДОК СК 0006 сертифікат якості виробника, свідоцтво пр державну реєстрацію дезінфекційного засобу № 0036 від 14.05.2004 р. НВ ТОВ „Фармакос”, Україна	Зовнішній вигляд. Упаковка, маркування, цілісність упаковки. Термін придатності.	Дезінфікуючий засіб для обробки стін і підлог
4. Напівпродукти:			
Клітинна культура штаму-продуценту (бактеріальна маса)	ФРМ КПП СТ 0001 специфікація ФРМ КПП ТС КЛ 01	Молекулярна маса гібридного білка (метод ПААГ електрофорезу) Кількість бактерій в культуральному середовищі	Напівпродукт із стадії ТП7
Осад відмитих тілець включення	ФРМ КПП СТ 0001 специфікація ФРМ КПП ТС ТВ 02	Вміст гібридного білка (метод Бредфорда). Молекулярна маса гібридного білка (метод ПААГ електрофорезу)	Напівпродукт із стадії ТП8
Розчин відновленого гібридного білка	ФРМ КПП СТ 0001 специфікація ФРМ КПП ТС ГБ 03	Вміст основної речовини в розчині	Напівпродукт із стадії ТП9.1

БЕ0101.МД.ПЗ

Арк.

44

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

## Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
Розчин рефолдованого гібридного білка	ФРМ КПП СТ 0001 специфікація ФРМ КПП ТС РБ 04	Вміст рефолдованого гібридного білка в розчині (метод ВЕРХ) Вміст гібридного білка (метод Бредфорда)	Напівпродукт із стадій: ТП9.2, ТП10.2, ТП11.2 ТП12
Вологий осад інсуліну „сирого”	ФРМ КПП СТ 0001 специфікація ФРМ КПП ТС ОІ 05	Вміст основної речовини в осаді	Напівпродукт із стадії ТП14
Розчин інсуліну людини (цільова фракція)	ФРМ КПП СТ 0001 специфікація ФРМ КПП ТС ЦІ 06	Вміст інсуліну людини в розчині Вміст дезамідоінсуліну Вміст супутніх домішок	Напівпродукт із стадії ТП15
Інсулін людини, порошок (нестерильну субстанцію)	ФРМ КПП СТ 0001 специфікація ФРМ КПП ТС ІЛ 06	Втрата в масі при висушуванні	Напівпродукт із стадії ТП16.3

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						45
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

### 3.2. Опис технологічного процесу виробництва рекомбінантного інсуліну людини

Перед тим, як приступити до роботи обслуговуючий персонал повинен провести санітарну підготовку приміщень, устаткування, обладнання і пройшовши санітарно-гігієнічну підготовку.

#### Допоміжні роботи 1 - Підготовка виробництва.

Підготовка виробництва, приготування дезінфікуючих розчинів проводиться згідно досьє виробничої дільниці - цеху №1з виробництва субстанцій ДВД 64-21680915-047-2008 і включає у себе наступні стадії:

**ДР1.1. Приготування дезрозчинів** - Приготування і застосування миючих та дезінфікуючих розчинів проводиться згідно СОПів: ООК ДОК СП 0006 „Санитарная подготовка производства", ПХО САН ПГ 0001 «Программа по санитарии цеха №1», ФРМ САН ПГ 0001 «Программа по санитарии участка ферментации».

*Приготування розчину миючого засобу.* Як дезінфікуючі миючі засоби використовують “Біолот” та “Еколаб”. Готують водні розчини цих препаратів з концентраціями 2 і 3 г/ дм<sup>3</sup> відповідно.

*Приготування розчину Хлораміну Б.* Для обробки боксів, прилеглих приміщень, виробничих приміщень та місць в технологічних приміщеннях, куди потрапляють компоненти поживного середовища чи культуральна рідина використовують водний розчин хлораміну Б з концентрацією 0,3-3%. Хлорамін Б – бензосульфохлорамід натрію – білий кристалічний порошок, який готують розведенням: 1 дм<sup>3</sup> хлораміну до 20 дм<sup>3</sup> води. Містить 25-29% активного хлору.

*Приготування розчину етилового спирту 76%.* Щоб приготувати 1 дм<sup>3</sup> спирту 76%, потрібно 800 см<sup>3</sup> етилового спирту 96% і 221 дм<sup>3</sup> води очищеної. Після розведення розчин обов’язково фільтрують.

**ДР1.2. Підготовка приміщень** - згідно СОПів: ООК ДОК СП 0006 «Санитарная подготовка производства», ПХО САН ПГ 0001 «Программа по санитарии цеха №1», ФРМ САН ПГ 0001 «Программа по санитарии участка ферментации», ПХО ОБЩ ИН 0002 «Порядок проведения уборки и дезинфекции

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						46
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

помещений цеха №1», ФРМ ОБЩ ИН 0004 «Проведение уборки и дезинфекции в помещениях участка ферментации». Якість санітарної підготовки виробництва фіксують у виробничому протоколі.

У виробничих приміщеннях регулярно проводять щоденне та генеральне прибирання. Під час прибирання та дезінфекції виробничих приміщень працівники повинні використовувати засоби індивідуального захисту (гумові рукавички, чоботи та гумові фартухи, якщо треба ще використовують респіратор). Щоденне вологе прибирання включає миття стін та дверей засобом «Хлорамін», розчин якого готують на ДР1.1. Ним же миють підлогу. Бокс обробляють 76% етиловим спиртом, залишок якого видаляють через 30-40 хв стерильною тканиною. Щоп'ять днів проводять генеральне прибирання. Між прибираннями для підтримання асептичних умов періодично вмикають бактерицидні лампи.

**ДР1.3. Підготовка вентиляційного повітря** - згідно досьє виробничої дільниці ДВД 64-21680915-047-2008 та СОПів: СГЄ ТЕХ ИН 0019 «Учет эксплуатации систем кондиционирования и вентиляции по производству субстанций цеха №1», СГЄ ТЕХ ИН 0020 «Учет эксплуатации систем кондиционирования и вентиляции по производству субстанций цеха №1».

Технологічне аераційне повітря є джерелом лімітуючого субстрату – кисню і є джерелом енергії при перемішуванні культуральної рідини. Забір повітря проводиться з атмосфери за допомогою трубчастих конструкцій висотою 8-10 м. Висота труби – 10 м, діаметр труби 300 мм. Повітря проходить крізь решітку встановлену у повітропроводі для видалення крупних механічних часток – листя гілки та ін. Шляхом інерційного осадження очищають повітря від великих часток розміром більше 5 мкм. Фільтр має 10-15 шарів сітки або перфорованих листів з металу або вініласту. Ефективність очищення повітря в таких фільтрах становить 70-85%, пилоємність 200-400 г/м<sup>2</sup>, продуктивність 0,43-0,610 м<sup>3</sup>/с.

**ДР1.4 Підготовка води очищеної „in bulk”** - виготовляється методом зворотного осмосу за ООК ДОК СП 0008 «Руководство по эксплуатации системы водоподготовки (ПО21)». Воду очищену отримують шляхом додаткового очищення водопровідної води шляхом іонного обміну.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						47
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

При очищенні води і її зберіганні здійснюють контроль титру аеробних мікроорганізмів: норма по вмісту аеробних мікроорганізмів для води очищеної – 100 життєздатних аеробних мікроорганізмів на 1 см<sup>3</sup> води; для води для ін'єкцій і високо очищеної – 10 життєздатних аеробних мікроорганізмів на 100 см<sup>3</sup>.

Вода очищена „in bulk” та вода пермеат контролюються за Тестом ОКК ДОК СТ 0006 «Спецификации и контрольные тесты. Входной контроль воды артезианской и вспомогательных веществ. Вода очищенная. Вода для инъекций.» на відповідність вимогам ДФУ, вид.1, доп. 1, код специфікації на воду очищену „in bulk” ОКК ВОД ТС ВО 02, код специфікації на воду пермеат ОКК ВОД ТС ВП 04.

**ДР1.5. Підготовка технологічного одягу** - згідно Сопів: АБК САН ИН 0002 “Підготовка спеціального одягу”, ООК ДОК СП 0006 «Санитарная подготовка производства», ПХО ПРО ИН 0009 «Стерилизация инструментов, емкостей, технологической одежды и материалов в шлюзовом паровом стерилизаторе А1105».

При визначенні способу очищення спецодягу слід враховувати особливості його експлуатації. Прання здійснюють в спеціальних приміщеннях, в залежності від виду забруднення рекомендована температура – 30-60°C. Сушка спеціального одягу проводиться за допомогою сушарок, які мають безперервну дію протягом 120 хв при температурі 90 °С. Кожний комплект спецодягу прасують з двох сторін, упаковують в одноразові пакети і передають на стерилізацію. Спецодяг стерилізують в автоклаві при температурі 120 °С, тиск 0,11 МПа протягом 30-45 хвилин. На пакетах з одягом вказують дату стерилізації і передають в передбокс. Простерилізований одяг може зберігатися 2 доби.

**ДР1.6. Підготовка персоналу** - згідно СОПів: ООК ДОК СП 0005 “Гигиена персонала», ПХО ПЕР ПГ 0001 «Программы обучения персонала цеха №1», ПХО ОБЩ ИН 0001 «Порядок прохождения персонала и транспортировки материалов и оборудования в помещения цеха №1», ПХО ПРО ИН 0006 „Основные правила работы в зоне чистых помещений”.

Персонал повинен дотримуватися санітарних норм і не мати шкідливих звичок. Чітко контролюється вхід та вихід у виробничі приміщення. Коли персонал допускається на виробництво, має пройти інструктаж з охорони праці, техніки

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		48



безпеки, ознайомитися ж пожежною та електробезпекою. Необхідно регулярно проводити навчання персоналу силами кваліфікованих спеціалістів з відділу охорони праці. Потрібно вести протоколи інструктажів. Раз в рік проводяться повторні інструктажі.

**ДР1.7. Підготовка обладнання.** Перед роботою обладнання перевіряється на дефекти. Обладнання промивають водою з миючими та дезінфікуючими засобами, які готують на ДР1.1. Якщо обладнання має значні забруднення, проводять миття розчином кислоти 1% при 20°C. Ополіскування проводять “очищеною” – демінералізованою або пом’якшеною водою. Для стерилізації використовують обробку гострою парою, при температурі 110°C, тиск 0,2 МПа упродовж 1,5 години з подальшим охолодженням упродовж 3,5 год. Якість відмивки обладнання від залишкових кількостей миючих засобів контролюють згідно методик 8.1- 8.3 міжопераційного контролю, розділ 3.1 (К1.6.1-К1.6.4). Якість підготовки обладнання фіксується у виробничому протоколі

Контроль мікробіологічної чистоти здійснюється згідно ООК МПГ ПГ 0001 „Программа мониторинга чистых помещений” та Планів проведення моніторингу приміщень відповідних дільниць по показниках і відповідності вимогам наступних документів:

- Визначення числа мікроорганізмів на поверхнях виробничих приміщень (К1.1): згідно ЛМБ МПГ ИН 0007 „Контроль окружающей среды и персональной гигиены - Определение числа микроорганизмов на поверхностях”.

- Визначення числа мікроорганізмів на поверхнях обладнання, апаратури та інвентарю у виробничих приміщеннях (К1.2): згідно ЛМБ МПГ ИН 0007 "Контроль окружающей среды и персональной гигиены - Определение числа микроорганизмов на поверхностях”.

- Визначення числа мікроорганізмів у повітрі виробничих приміщень (К1.3): згідно ЛМБ МПГ ИН 0004 «Контроль окружающей среды и персональной гигиены

- Определение числа микроорганизмов в воздухе» та ЛМБ МПГ ИН 0010 «Определение количества механических частиц в воздухе прибором Met One, модель 227А».

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						49
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

- Визначення числа мікроорганізмів на поверхнях рук виробничого персоналу, що зайнятий в приміщеннях класу В (К1.4) згідно ЛМБ МПГ ИН 0007 «Контроль окружающей среды и персональной гигиены - Определение числа микроорганизмов на поверхностях».

- Визначення числа мікроорганізмів в дезрозчинах в робочих концентраціях, що використовуються в приміщеннях класів чистоти В, С, D згідно ЛМБ МКК ИН 0003 «Микробиологический контроль - Дезинфицирующие средства» (К1.5).

**Допоміжні роботи 2 - Підготовка сировини.** Одержання із загально-заводського складу сировини і матеріалів, звільнення їх від вторинної упаковки, зважування та видача на виробництво за необхідністю.

Вхідні основна, допоміжна сировина і матеріали, які використовуються в виробництві інсуліну людини, порошку (нестерильної субстанції) проходять вхідний контроль у лабораторіях ОКК згідно з СОПів: ОКК ДОК СП 0002 «Порядок проведения входного контроля качества сырья и вспомогательных материалов - отбор проб, документирование», переліку ОКК ДОК ПЕ 0002 «Перечень субстанций, сырья, вспомогательных веществ и материалов, подлежащих входному контролю» згідно спецификациям и контрольным тестам ОКК ДОК СТ 0007 "Спецификации и контрольные тесты. Вспомогательные вещества для производства инсулина человека, порошка (нестерильная субстанция)», ОКК ДОК СП 0019 «Управление главным и рабочими банками культур штаммов-продуцентов», ОКК ДОК СП 0017 «Порядок обращения с прекурсорами», ОКК ДОК СК 0006 «Дезинфекционные и антисептические средства, используемые для санитарной подготовки производства», ОКК ДОК СК 0007 «Вспомогательные материалы и вещества, используемые при подготовке к производству», також на них видається дозвіл Уповноваженої особи на використання (К2.1).

Умови зберігання сировини і матеріалів на центральному складі заводу а також процес видачі сировини і матеріалів регулюються згідно ОКК ДОК ИН 0011 «Порядок приемки, хранения и выдачи сырья, вспомогательных материалов с центрального склада». Одержати із загально-заводського складу основну,

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						50
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

допоміжну сировину і матеріали, подати у проміжні склади. Умови зберігання сировини і матеріалів, а також процес звільнення від вторинної упаковки, зважування та видачі їх на виробництво здійснюється згідно ПХО СКЛ ИН 0001 «Порядок приёма, хранения и движения сырья и материалов в цехе №1».

**Допоміжні роботи 3 - Підготовка стисненого повітря.** Стиснене повітря отримують на пневматичній установці стисненого повітря ПО-32 фірми „Atlas Copco”. Установка складається з компресора з додатковим охолодженням, фільтрів для уловлювання частинок пилу, запахів, аерозолів вода/олія, осушувача стислого повітря, ресивера, водоолійного сепаратора та працює в автоматичному режимі. Стиснене повітря, яке необхідне і у апаратах посівних та ферментерах, додатково фільтрується через фільтри для стерилізуючої фільтрації з абсолютною утримуючою здатністю 0,22 мкм фірми Millipore.

Атмосферне повітря попередньо очищене від механічних часток пилу, стискають і направляють у систему повітропостачання. Компресор здійснює адіабатне стискання повітря до тиску 0,2 МПа, в наслідок чого повітря може розігріватися більше ніж до 100-120°C. Для охолодження повітря при виході з компресора необхідно ставити теплообмінник, так як процес ферментації допускає подачу повітря з температурою не більше 40°C. Для основного етапу очищення (на головних фільтрах) використовують глибинні набивні фільтри зі скловолокна діаметром 7-21 мкм періодичної дії. Даний фільтр стерилізують гострою та глухою парою протягом 4 годин при тиску 0,12-0,15 кПа. Ефективність очистки – 90-99%.

Фільтри тонкої очистки практично забезпечують 100%-ву очистку і стерилізацію повітря. Вони стерилізуються гострою парою в технологічній обв'язці з ферментом без видалення фільтруючих елементів з корпуса фільтра.

#### **ДР4. Приготування розчинів.**

##### **ДР4.1 Приготування і стерилізація допоміжних розчинів та компонентів ПС**

Розчини готують безпосередньо перед проведенням технологічного процесу. Дана стадія включає наступні етапи:

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						51
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

- приготування розчину канаміцину сульфату з масовою концентрацією 6,0 г/дм<sup>3</sup>;
- приготування рідкого поживного середовища LB для колб;
- приготування 0,75 М розчину трилону Б (рН 8,0 - 8,2);
- приготування магнію сульфату в розчині кислоти лимонної;
- приготування розчину мікроелементів;
- приготування розчину амонію хлориду з масовою часткою 25 %;
- приготування розчину амонію сульфату з масовою часткою 25 %;
- приготування розчину дикалію гідрофосфату з масовою часткою 17,5%;
- приготування розчину глюкози з масовою часткою 50 %;
- приготування розчину IPTG з масовою концентрацією 160 г/ дм<sup>3</sup>.

#### **ДР4.2. Приготування буферного розчину для рефолдингу.**

Для проведення рефолдингу відновленого гібридного білка необхідно приготувати 3638 дм<sup>3</sup> буферного розчину, з розрахунку 1 дм<sup>3</sup> буферного розчину на 1,2 г відновленого гібридного білка. Буферний розчин для рефолдингу готують в реакторах. Довести рН буферного розчину для рефолдингу в реакторі до значення 11,0 - 11,2. Охолодити буферний розчин для рефолдингу до температури 10 + 2 °С шляхом подачі етиленгліколю в сорочку реактору.

#### **ДР4.3. Приготування розчинів для катіонообмінної хроматографічної очистки рефолдованого гібридного білка (IOX1).**

Готують буферні розчини для катіонообмінної хроматографічної очистки рефолдованого гібридного білка (IOX1), а саме:

- буферний розчин IOX1-A (для врівноваження сорбента і промивки сорбента після вводу розчину рефолдованого гібридного білка на колону);
- буферний розчин IOX1-B (для елюції домішкових білків);
- буферний розчин IOX1-C (для елюції рефолдованого гібридного білка);
- буферний розчин IOX1-D (для промивки сорбента);
- розчину натрію гідроксиду з молярною концентрацією 0,5 моль/дм<sup>3</sup> (для регенерації сорбенту);

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						52
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

- розчину хлориду цинку 10%.

#### **ДР4.4. Приготування розчинів для аніонообмінної хроматографічної очистки рефолдованого гібридного білка (IOX2)**

Готують буферні розчини для іонообмінної хроматографічної очистки рефолдованого гібридного білка (IOX2):

- буферний розчину IOX2-E використовується для промивки і врівноваження сорбенту і витіснення рефолдованого гібридного білка з сорбенту;
- буферний розчину IOX2-F (використовується для промивки сорбенту);
- розчин натрію гідроксиду з молярною концентрацією 1,0 моль/дм<sup>3</sup> (для регенерації сорбенту);
- розчин натрію хлориду з молярною концентрацією 4,0 моль/дм<sup>3</sup>.

#### **ДР4.5. Приготування розчинів для іонообмінної хроматографічної очистки інсуліну „сирого” (IOX3)**

Готують буферні розчини для іонообмінної хроматографічної очистки інсуліну „сирого” (IOX3), серед яких:

- буферний розчин IOX3-G (використовується для промивки і врівноваження сорбента і елюції інсуліну людини);
- буферний розчин IOX3-H (використовується для промивки і врівноваження сорбента і елюції інсуліну людини);
- розчин натрію гідроксиду з молярною концентрацією 0,5 моль/дм<sup>3</sup> (для регенерації сорбенту).

Буферний розчин IOX3-G після фільтрації приєднати до розчину інсуліну людини „сирого” в технологічній ємності загальний об'єм розчину інсуліну людини „сирого” 55 дм<sup>3</sup>.

#### **ДР5. Підготовка поживних середовищ**

##### **ДР5.1. Приготування і стерилізація поживного середовища в посівному апараті.**

Перед використанням візуально контролюється очищення обладнання, проводиться стерилізацію апарату посівного. Приготування середовища

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						53
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

проводиться в підготовленому, простерилізованому і охолодженому апараті посівному. Приєднати до апарату посівного датчики вимірювання значень розчиненого кисню, рН. Залити в апарат посівний воду очищену 30 дм<sup>3</sup>. Ввімкнути мішалку. Частота обертання мішалки 45 об/хв. Приготувати концентрат поживного середовища для апарату посівного. Перелити концентрат поживного середовища в апарат посівний. Додати пропінолу Б 400 - 25 см<sup>3</sup>.

Апарат посівний приєднати до мережі пари і відводу конденсату. Провести стерилізацію приготованого поживного середовища культивування в апараті посівному. Після закінчення стерилізації апарат посівний охолодити до температури 37±1°C. Приєднати апарат посівний до мережі стислого повітря.

В охолоджене після стерилізації поживне середовище приготувати і внести простерилізовані розчини:

- 1) канаміцину сульфату з масовою концентрацією 60г/ дм<sup>3</sup> - 20 см<sup>3</sup>;
- 2) розчин магнію сульфату в розчині кислоти лимонної - 25 см<sup>3</sup>;
- 3) розчин мікроелементів - 25 см<sup>3</sup>.

Підключити датчики вимірювання значень рН і розчиненого кисню до контролеру. Довести рН поживного середовища до значення 6,8-7,2 додаванням 80 см<sup>3</sup> розчину натрію гідроксиду з масовою часткою 20%. Загальний об'єм приготованого поживного середовища культивування в апараті посівному має бути приблизно 39 дм<sup>3</sup>, рН середовища 6,8-7,2, температура середовища 37°C. Тривалість стадії 4,0 год.

## **ДР5.2 Приготування і стерилізація поживного середовища для ферментеру**

Перед використанням апаратник візуально контролює очищення ферментеру, проводить стерилізацію. Приготування поживного середовища проводять в підготовленому, простерилізованому і охолодженому ферментері. Приєднати до ферментеру підготовлені до роботи датчики вимірювання значень розчиненого кисню, рН. Залити води очищеної 200 дм<sup>3</sup>. Ввімкнути мішалку ферментера. Частота обертання мішалки 45 об/хв. Приготувати концентрат поживного

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		54

середовища для ферментеру. Передати приготований 40 дм<sup>3</sup> концентрату поживного середовища з ємності в ферментер. Додати пропінолу Б 400 - 350 см<sup>3</sup>.

Приєднати до ферментеру простерилізовані пробовідбірник і знімні штуцери для подачі рідин до вільних патрубків на кришці ферментеру. Ферментер приєднати до мережі пари і відводу конденсату. Провести стерилізацію приготованого поживного середовища культивування в ферментері, охолодити до 37 °С. Приєднати ферментер до мережі стисненого повітря. Приєднати під полум'ям факела продуктові фільтри.

В поживне середовище культивування через продуктовий штуцер внести розчини:

- 1) канаміцину сульфату з масовою концентрацією 100 г/ дм<sup>3</sup> - 100 см<sup>3</sup>;
- 2) розчин тіаміну гідрохлориду з масовою концентрацією 20 г/дм<sup>3</sup> - 50 см<sup>3</sup>;
- 3) розчин магнію сульфату в розчині кислоти лимонної - 500 см<sup>3</sup>;
- 4) розчин мікроелементів - 500 см<sup>3</sup>.

Підключити датчики вимірювання значень рН і розчиненого кисню до контролеру. Довести рН поживного середовища до значення 6,8-7,2. Загальний об'єм приготованого поживного середовища культивування в ферментері має бути від 240 до 250 дм<sup>3</sup>. Температура поживного середовища 37±1 °С.

#### **ТП6. Одержання біомаси культури рекомбінантного штаму *E. coli***

Видаються пробірки з РБК в кількості, необхідній для забезпечення безперервного технологічного процесу культивування культури клітин штаму-продуценту у ферментерах згідно виробничого плану. Передача пробірок з РБК здійснюється в ємності Дюара. Для проведення процесу культивування беруть з ємності Дюара одну пробірку з РБК.

##### **ТП6.1. Культивування посівної культури клітин штаму-продуценту в інокуляторах**

Розморозити робочу посівну культуру клітин на водяній бані при кімнатній температурі. В колбу із 2,0 дм<sup>3</sup> стерильного рідкого поживного середовища LB внести з пробірки 1,6 см<sup>3</sup> розмороженої робочої посівної культуру штаму-продуценту. Вирощувати посівну клітинну культуру штаму-продуценту в

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		55

термошейкері при частоті струшування 150-200 об/хв, температурі  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ , протягом не менше 10 год. Після отримання позитивних результатів аналізу на мікробіологічну чистоту та досягнення оптичної щільності 1,5–2,0 ОО колбу з посівною культурою клітин штаму-продуценту передати на стадію ТП6.2.

#### **ТП6.2. Культивування посівної культури клітин штаму-продуценту в апараті посівному.**

Провести засів апарату посівного інокулятом посівної культури клітин штаму-продуценту під полум'ям факелу, переливши  $2,0\text{ дм}^3$  посівної культури з колби в апарат посівний. Процес культивування здійснюється безперервно при постійному перемішуванні та безперервній подачі стерильного стислого повітря. Тиск в апараті посівному 0,01-0,05 МПа.

В процесі культивування підтримувати значення: рН середовища культивування 6,8-7,2, концентрацію розчиненого кисню 30-50%, температуру культуральної рідини  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Час вирощування культури клітин штаму-продуценту в апараті посівному 6 год. При досягненні клітинною культурою оптичної щільності 2,0 - 4,0 ОО інокулят посівної культури клітин штаму-продуценту в апараті посівному передати на засів ферментеру. Розрахунковий об'єм інокуляту посівної ї культури клітин штаму-продуценту в апараті посівному має бути 39 - 42  $\text{дм}^3$ .

#### **ТП7. Виробничий біосинтез**

Провести засів поживного середовища ферментеру інокулятом з апарату посівного, передавши 39 - 42  $\text{дм}^3$  інокуляту посівної культури клітин штаму-продуценту з апарату посівного у ферментер за допомогою стислого повітря тиск 0,05 МПа.

Технологічний процес здійснюється безперервно. Ввімкнути мішалку у ферментері. Частота обертання мішалки 180 об/хв. Процес культивування проводять при безперервній подачі стерильного стислого повітря тиск у ферментері 0,01-0,05 МПа. В процесі культивування підтримувати значення: рН середовища культивування 6,8-7,2, концентрацію розчиненого кисню в середовищі культивування 30 - 70 %, температуру культуральної рідини  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ .

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						56
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		



В процесі культивування у міру утворення піни в середовище культивування необхідно вносити за допомогою мірної колби, під полум'ям факелу стерильного пропінолу Б 500 см<sup>3</sup>. При досягненні клітинною культурою оптичної щільності 2,5 - 3,500 в середовище культивування необхідно вносити 80 дм<sup>3</sup> розчину глюкози з масовою часткою 50%. При досягненні культурою клітин оптичної щільності 9,0-11,0 00 в середовище культивування через продуктивний фільтр додатково внести розчини:

- 1) магнію сульфату в розчині кислоти лимонної 500 см<sup>3</sup>;
- 2) мікроелементів 500 см<sup>3</sup>;
- 3) дикалію гідрофосфату з масовою часткою 17,5 % 1,0 дм<sup>3</sup>;
- 4) амонію хлориду з масовою часткою 25 % 500 см<sup>3</sup>;
- 5) амонію сульфату з масовою часткою 25 % 500 см<sup>3</sup>.

При досягненні культурою клітин оптичної щільності 19,0-21,0 00 в середовище культивування через продуктивний фільтр додатково внести розчини:

- 1)магнію сульфату в розчині кислоти лимонної 500 см<sup>3</sup>;
- 2)мікроелементів 500 см<sup>3</sup>;
- 3)дикалію гідрофосфату з масовою часткою 17,5 % 1,0 см<sup>3</sup>;
- 4)амонію хлориду з масовою часткою 25 % 500 см<sup>3</sup>;
- 5)амонію сульфату з масовою часткою 25 % 500 см<sup>3</sup>

При досягненні культурою оптичної щільності 29,0-31,0 00 провести індукцію синтезу рекомбінантного білка.В середовище культивування через продуктивний фільтр додатково внести розчини:

- 1) магнію сульфату в розчині кислоти лимонної 475 см<sup>3</sup>;
- 2) мікроелементів 475 см<sup>3</sup>;
- 3) дикалію гідрофосфат з масовою часткою 17,5 % -2,0 дм<sup>3</sup>;
- 4) амонію хлориду з масовою часткою 25 % 1,0 дм<sup>3</sup>;
- 5) амонію сульфату з масовою часткою 25 % 1,0 дм<sup>3</sup>;
- 6) тіаміну гідрохлорид з масовою концентрацією 20 г/дм<sup>3</sup> - 50 см<sup>3</sup>;
- 7) IPTG з масовою концентрацією 160 г/дм<sup>3</sup> 500 см<sup>3</sup>.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						57
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Індукцію здійснювати протягом 6 год. Об'єм культуральної рідини у ферментері має бути від 360 до 400 дм<sup>3</sup>. Час вирощування культури клітин у ферментері 14 - 20 год.

### **ТП8. Концентрування бактеріальної маси**

Зібрати систему: ферментер, центрифуга, реактор збирання відпрацьованого середовища. З'єднування устаткування провести через передавальні шланги. Запустити центрифугу, встановити на центрифугі швидкість подачі культуральної рідини 200 дм<sup>3</sup>/год, почати дробне центрифугування культуральної рідини. Відпрацьована надосадова рідина збирається у реакторі збирання відпрацьованого середовища, де проводять його дезактивацію стерилізацією. Після дезактивації рідину злити у каналізацію. Дробне центрифугування культуральної рідини продовжують до повного звільнення ферментеру. В процесі центрифугування у ферментері контролювати: значення рН культуральної рідини 6,8-7,2, концентрацію розчиненого кисню у культуральній рідині 30 - 70 %. Загальна маса сконцентрованої бактеріальної маси 18-22 кг.

### **ТП9. Отримання тілець включення**

#### **ТП9.1. Дезінтеграція клітин та відмивання тілець включення**

Безпосередньо перед проведенням стадії готують 1 М розчин трометамолу (рН 8,0 - 8,2), 0,75 М розчин трилону Б (рН 8,0 - 8,2).

Для руйнування бактерійних клітин використовують дезінтегратор. Тиск в мережі стисненого повітря 3,0 МПа. Робочий тиск усередині камери руйнування 17000 psi. В апарат 53 до сконцентрованої бактеріальної маси додати води очищеної до об'єму 75 дм<sup>3</sup>. Під'єднати апарат 53 до системи охолодження, охолодити суспензію сконцентрованої бактеріальної маси до температури 10 + 5°C шляхом подачі охолодженої води в змійовик апарату. Додати 750 см<sup>3</sup> 1 М розчину трометамолу з рН 8,0. Додати 100 см<sup>3</sup> 0,75 М розчину трилону Б з рН 8,0. Ввімкнути мішалку апарату 53. Частота обертання мішалки 45 об/хв. Вміст апарату 53 перемішати до отримання однорідної суспензії бактерійної маси. Включити систему охолодження дезінтегратора. Відкрити вентиль подачі стисненого повітря на генератор високого тиску дезінтегратору - робочий тиск 17 000 psi.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						58
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Включити насос дезінтегратора та подати суспензію бактерійної маси (клітинної суспензії) з апарату 53 на дезінтегратор бактерійних клітин. Швидкість потоку суспензії бактерійної маси (клітинної суспензії)  $3,0 \pm 0,5$   $\text{дм}^3/\text{хв}$ . Зруйновану бактерійну масу збирати в апарат 55 з системою охолодження. Об'єм суспензії зруйнованих бактеріальних клітин  $75 \text{ дм}^3$ . В процесі руйнування бактеріальних клітин в апаратах 53, 55 необхідно підтримувати температуру вмісту  $10 \pm 5^\circ\text{C}$  за допомогою подачі охолодженої води в змішувач апаратів. Після того, як вся клітинна суспензія з апарату 53 буде пропущена через дезінтегратор, перший цикл руйнування вважається закінченим. Процес руйнування клітинної суспензії необхідно проводити двічі. Суспензію зруйнованих бактерійних клітин передати на відмивання тілець включення від клітинних білків, нуклеїнових кислот і фрагментів клітинних мембран.

Відмивання тілець включення проводять на центрифугі тричі по замкнутому технологічному циклу. Зібрати систему для відмивання телець включення: апарат 1 із зруйнованими бактерійними клітинами, центрифуга, реактор збирання відпрацьованого середовища за допомогою передавальних шлангів. Зупинити охолодження вмісту апарату 53. Ввімкнути мішалки апаратів 53, 55. Частота обертання мішалки  $45 \text{ об/хв}$ . В апарат 53 до суспензії зруйнованих бактеріальних клітин додати  $750 \text{ см}^3$  розчину неіонного детергенту Triton X-100. Вміст апарату 53 перемішати до отримання однорідної суспензії зруйнованих бактеріальних клітин протягом  $30 \text{ хв}$ . Запустити центрифугу, встановити на центрифугі швидкість подачі суспензії зруйнованих клітин  $100 \text{ дм}^3/\text{год}$ , почати центрифугування суспензії зруйнованих клітин з апарату 53. Відпрацьований бактеріальний матеріал збирається у реакторі збирання відпрацьованого середовища, де проводять його дезактивацію стерилізацією. Центрифугу зупинити після того, як вся рідина з апарату 53 буде подана на центрифугу, перший цикл відмивання телець включення завершився.

Передати тільця включення в апарат 55. Ввімкнути мішалку апарату 55. Частота обертання мішалки  $45 \text{ об/хв}$ . До суспензії тілець включення додати води очищеної до об'єму  $75 \text{ дм}^3$ . Перемішати вміст ємності до утворення гомогенної

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						59
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

консистенції. Додати до гомогенату: 1) 1 М розчин трометамолу з рН 8,0 750 см<sup>3</sup>; 2) 0,75 М розчин трилону Б з рН 8,0 100 см<sup>3</sup>; 3) розчин неіонного детергенту Triton X-100 750 см<sup>3</sup>. Гомогенат тілець включення перемішувати протягом 30 хв і повторити процес центрифугування. Запустити центрифугу, встановити на центрифугі швидкість подачі суспензії зруйнованих клітин 100 дм<sup>3</sup>/год, почати центрифугування суспензії зруйнованих клітин з апарату 55. Центрифугу зупинити після того, як вся рідина з апарату 55 буде подана на центрифугу, завершився другий цикл відмивання тілець включення.

Передати тілця включення в апарат 53. До суспензії тілець включення додати води очищеної до об'єму 75 см<sup>3</sup>. Перемішати вміст ємності до утворення гомогенної консистенції. Додати до гомогенату: 1) 1 М розчин трометамолу з рН 8,0 750 см<sup>3</sup>; 2) 0,75 М розчин трилону Б з рН 8,0 100 см<sup>3</sup>; 3) розчин неіонного детергенту Triton X-100 750 см<sup>3</sup>. Ввімкнути мішалку апарату 53. Частота обертання мішалки 45 об/хв. Гомогенат тілець включення перемішувати протягом 30 хв і повторити процес центрифугування, закінчився третій цикл відмивання тілець включення. Після закінчення останнього циклу центрифугування отриманий осад тілець включення зібрати у градуйовану технологічну ємність. Осад тілець включення з градуйованої технологічної ємності передати в апарат 53.

### ТП9.2 Обробка нуклеазами

В апарат 53 до осаду тілець включення додати води очищеної 18 дм<sup>3</sup>. Ввімкнути мішалку апарату 53. Частота обертання мішалки 45 об/хв.. Вміст апарату 53 перемішувати до отримання однорідної суспензії протягом 30 хв. Внести в апарат наважку трометамолу 48,5 г, наважку магнію хлориду гексагідрату 41,0 г. Вміст апарату 53 перемішати 10 - 15 хв. Довести рН розчину до значення 7,5. Нагріти суспензію тілець включення до температури 22 - 25°C за допомогою подачі горячої води в змішувик апарату. Розчини дезоксирибонуклеази (ДНКаз) і рибонуклеази (РНКаз) і лізоциму додати до суспензії тілець включення в апарат 53. Вміст апарату 53 перемішувати 2 год при температурі 22-25°C. В апарат 53 додати води очищеної 60 дм<sup>3</sup>. Вміст апарату 53 перемішати 5-10 хв. Вміст апарату

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						60
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

53 охолодити до температури 10 - 15°C за допомогою подачі охолодженої води в змійовик апарату.

Запустити центрифугу, встановити на центрифугу швидкість подачі суспензії тілець включення 100 дм<sup>3</sup>/год, почати центрифугування суспензії тілець включення з апарату 53. Центрифугу зупинити після того, як вся рідина з апарату 1 буде подана на центрифугу. Відпрацьований бактеріальний матеріал збирається у реакторі збирання відпрацьованого середовища, де проводять його дезактивацію стерилізацією. Після дезактивації рідину злити у каналізацію. Після повної зупинки центрифуги зібрати отриманий осад відмитих тілець включення в градуйовану технологічну ємність. Маса осаду тілець включення 5,0 кг. Загальний вміст гібридного білка у тільцях включення 3,559 кг.

#### **ТП10. Одержання відновленого гібридного білка**

##### **ТП10.1 Розчинення тілець включення і відновлення гібридного білка**

Для розчинення тілець включення внести осад відмитих тілець включення в реактор. Додати води очищеної 17,5 дм<sup>3</sup>. Ввімкнути мішалку в реакторі. Частота обертання мішалки 45 об/хв. Внести наважку сечовини 15,6 кг в реактор, перемішувати суспензію протягом 10 - 15 хв. Нагріти вміст реактора до температури 25 - 30°C шляхом подачі гарячої води в сорочку реактора. Внести наважку гліцину кристалічного 28 г в реактор, перемішувати суспензію протягом 10 - 15 хв. Внести в реактор 28 г трилону Б та перемішувати суспензію протягом 10 - 15 хв. Довести рН суспензії в реакторі до значення 10,2 - 10,5 додаванням 30 см<sup>3</sup> 20 %-го розчину натрію гідроксиду. Процес розчинення тілець включення проводять при температурі 25 - 30°C та безперервному перемішуванні розчину в реакторі протягом 4 год. Довести рН розчину в реакторі до значення 8,5 - 8,6 додаванням 30 см<sup>3</sup> розчину 6 М кислоти хлористоводневої. Завантажити 370 см<sup>3</sup> β-меркаптоетанолу в реактор. Розрахунковий об'єм розчину відновленого гібридного білка в реакторі 37 дм<sup>3</sup>. Перемішувати розчин відновленого гібридного білка протягом 6 год. Вміст відновленого гібридного білка в розчині – 3,559 кг.

##### **ТП10.2 Рефолдинг відновленого гібридного білка**

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		61

Подати 18,5 дм<sup>3</sup> розчину відновленого гібридного білка з реактора за допомогою стислого повітря в мірник, вміст відновленого гібридного білка в розчині – 1779,5 г. Подати розчин відновленого гібридного білка з мірнику самопливом в реактор з буферним розчином для рефолдингу.

Перемішувати розчин рефолдованого гібридного білка в реакторі протягом 4 – 6 год. Значення рН розчину рефолдованого гібридного білка має бути 11,0 - 11,2. Розрахунковий вміст рефолдованого гібридного білка в розчині в реакторах не менше 500,0 г. Розрахунковий загальний об'єм отриманого розчину рефолдованого гібридного білка в реакторах 1,2 – 3676 дм<sup>3</sup>. Тривалість стадії 6 год.

### **ТП10.3 Осадження рефолдованого гібридного білка**

Осадження гібридного білка проводять в реакторі 58. В реактор до розчину рефолдованого гібридного білка, отриманого після рефолдингу, додати 10 %-й розчин цинку хлориду. Увімкнути мішалку в реактор. Частота обертання мішалки 45 об/хв. Довести рН розчину рефолдованого гібридного білка в реакторі до значення  $6,2 \pm 0$ . Охолодити суспензію аморфного осаду рефолдованого гібридного білка до температури  $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$  шляхом подачі охолодженої води в сорочку реактору. Суспензію аморфного осаду рефолдованого гібридного білка перемішувати в реакторі протягом 30 хв. Після осадження рефолдованого гібридного білка осад відсепарувати на камерному сепараторі, частота обертання ротору сепаратора  $\geq 4000$  об/хв. Відсепарований аморфний осад рефолдованого гібридного білка зібрати у відтаровані технологічні ємності з нержавіючої сталі. Маса відсепарованого вологого аморфного осаду рефолдованого гібридного білка – 14,0 кг.

### **ТП11. Катіонообмінна хроматографічна очистка**

#### **ТП11.1. Катіонообмінна хроматографічна очистка рефолдованого гібридного білка (ІОХ1).**

Готують розчин рефолдованого гібридного білка для ІОХ. Внести в кристалізатор 110 дм<sup>3</sup> води очищеної, увімкнути мішалку в реакторі (45 об/хв.). Внести в кристалізатор 14,0 кг відсепарованого вологого аморфного осаду рефолдованого гібридного білка. Внести в кристалізатор наважку трилону Б,

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		62

сечовини, розчин натрію гідроксиду з масовою часткою 20 %. рН суспензії рефолдованого гібридного білка в кристалізаторі - 9,5-10,0. Після повного розчинення гібридного білка в кристалізатор додати розчин кислоти хлористоводневої 6 М. рН розчину рефолдованого гібридного білка 3,5 - 4,0. Додати в кристалізатор води очищеної до об'єму 180 дм<sup>3</sup>.

Колона упакована 80 дм<sup>3</sup> сорбенту та підготовлена до роботи: сорбент відрегенований і врівноважений буферним розчином ІОХ1-А. Розчин рефолдованого гібридного білка 180 дм<sup>3</sup> подати на колону. Відпрацьований розчин направляють в каналізацію. Після закінчення подачі розчину рефолдованого гібридного білка на колону сорбент промити буферним розчином ІОХ1-А. Для проведення елюції домішкових білків сорбент промити буферним розчином ІОХ1-В. Елюції рефолдованого гібридного білка проводити буферним розчином ІОХ1-С. Зібрати елюат, що містить гібридний білок в кристалізаторі. Під час елюції контролювати оптичну густину в елюаті  $\geq 0,5$  ОО. Загальний об'єм цільової фракції розчину рефолдованого гібридного білка в кристалізаторі 140 дм<sup>3</sup>. В цільовій фракції в кристалізаторі вміст гібридного білка - 1950 г, вміст рефолдованого гібридного білка - 527 г. Тривалість катіонообмінної хроматографічної очистки рефолдованого гібридного білка 9-10 год.

Після збору цільової фракції необхідно провести регенерацію та врівноваження сорбенту в хроматографічній колоні: його необхідно промити розчином натрію гідроксиду з молярною концентрацією 0,5 моль/дм<sup>3</sup>, водою очищеною, потім буферним розчином ІОХ1-Д і буферним розчином ІОХ1- А в зворотному потоці. Після закінчення промивки сорбенту водою очищеною перевірити значення рН промивної води на виході з колони  $\leq 10,0$ . Після закінчення промивки сорбенту водою очищеною провести промивку сорбенту буферним розчином ІОХ1-Д. Після закінчення промивки сорбенту буферним розчином ІОХ1-Д провести врівноваження сорбенту, для цього подати буферний розчин ІОХ1-А на колону. Контроль за врівноваженням сорбенту вести на виході з колони позначенню рН розчину 4,1, значенню електропровідності розчину  $\leq 0,5$  мС/см. Досягши цих значень сорбент вважається урівноваженим.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						63
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## ТП11.2. Осадження рефолдованого гібридного білка в ізоточці

Розчин рефолдованого гібридного білка з кристалізатору передати у вільний реактор 66 за допомогою вакууму. Ввімкнути мішалку в реакторі, частота обертання мішалки 45 об/хв. В реакторі до розчину рефолдованого гібридного білка додати воду очищену: об'єм елюату цільової фракції 140 дм<sup>3</sup>, об'єм води очищеної 700 дм<sup>3</sup>, загальний об'єм розчину 840 дм<sup>3</sup>. Додати розчин цинку хлориду з масовою часткою 10 %. Довести рН розчину рефолдованого гібридного білка в реакторі до значення 6,2. Охолодити суспензію рефолдованого гібридного білка в реакторі до температури 10-15 °С шляхом подачі охолодженої води в сорочку реактору. Перемішувати суспензію рефолдованого гібридного білка 30 хв. Відсепарувати суспензію рефолдованого гібридного білка на камерному сепараторі. Відсепарований вологий осад рефолдованого гібридного білка зібрати у відтаровані технологічні ємності з нержавіючої сталі на 5 дм<sup>3</sup>. Загальна маса вологого саду рефолдованого гібридного білка 7,4 кг.

## ТП12. Аніонообмінна хроматографічна очистка

### ТП12.1 Аніонообмінна хроматографічна очистка рефолдованого гібридного білка (ІОХ2)

На першому етапі готують розчин рефолдованого гібридного білка для ІОХ2. Для приготування розчину рефолдованого гібридного білка для ІОХ2 беруть осад гібридного білка від двох катіонообмінних хроматографічних очисток рефолдованого гібридного білка (ІОХ1), отриманий після осадження. Внести в кристалізатор 105 дм<sup>3</sup> води очищеної, ввімкнути мішалку в кристалізатор (45 об/хв). Внести в кристалізатор відсепарований вологий осад рефолдованого гібридного білка 14,8 кг та суспендувати в воді очищеної. Внести в кристалізатор наважку трилону Б 0,818 г, додати 0,62 дм<sup>3</sup> 20 %-го розчину натрію гідроксиду. рН суспензії в кристалізаторі: 9,5-10,0. Після повного розчинення гібридного білка в кристалізатор додати 70 см<sup>3</sup> розчину кислоти хлористоводневої 6 М до значення рН розчину 9,0 - 9,5. В кристалізатор додати 55,5 дм<sup>3</sup> ізопропанолу, води очищеної до об'єму 180 дм<sup>3</sup>, 5 дм<sup>3</sup> розчину натрію хлориду 4М. Перемішувати розчин рефолдованого гібридного білка в кристалізаторі 30 хв. Вимкнути мішалку.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						64
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		



Аніонообмінну хроматографічну очистку рефолдованого гібридного білка (IOX2) проводять наступним чином: розчин рефолдованого гібридного білка 185 дм<sup>3</sup> подати на колону крізь фільтрувальну систему з утримуючою здатністю 0,5 мкм. Двічі стінки кристалізатора ополоснути буферним розчином по 5 дм<sup>3</sup> з технологічної ємності та подати на колону крізь фільтрувальну систему з утримуючою здатністю 0,5 мкм. Після сорбент промити буферним розчином IOX2-E. Зібрати елюат, що містить гібридний білок в реактор. Під час елюції контролювати оптичну густину в елюаті  $\geq 0,5$  ОО. Загальний об'єм цільової фракції розчину рефолдованого гібридного білка в реакторі 290 дм<sup>3</sup>. Гібридного білка в розчині білка - 1640 г, рефолдованого гібридного білка в розчині - 902 г.

Після збору цільової фракції необхідно провести регенерацію та врівноваження сорбенту в хроматографічній колоні: його необхідно промити розчином натрію гідроксиду з молярною концентрацією 1,0 моль/ дм<sup>3</sup>, водою очищеною, потім буферними розчинами IOX2-E і IOX2-F в зворотному потоці. Після закінчення промивки сорбенту буферним розчином IOX2-F провести врівноваження сорбенту, для цього: подати буферний розчин IOX2-E на колону через фільтр з утримуючою здатністю 0,5 мкм: об'єм буферного розчину IOX2-E 300 дм<sup>3</sup>, швидкість потоку 1,1 – 1,2 дм<sup>3</sup>/хв. Контроль за врівноваженням сорбенту вести на виході з колони по значенню рН розчину 8,1, значенню електропровідності розчину  $\leq 2,0$  мС/см . Досягши цих значень сорбент в колоні вважається урівноваженим. Тривалість стадії 20-21 год

#### **ТП12.2 Осадження рефолдованого гібридного білка в ізоточці**

Розчин рефолдованого гібридного білка в реакторі розбавити водою очищеною в 3 рази: об'єм цільової фракції 290 дм<sup>3</sup>, об'єм води очищеної 580 дм<sup>3</sup>, загальний об'єм розчину 870 дм<sup>3</sup>. Ввімкнути мішалку в реакторі, частота обертання мішалки 45 об/хв. Додати 1,64 розчину цинку хлориду з масовою часткою 10 %.

Довести рН розчину рефолдованого гібридного білка в реакторі до значення 6,2 за допомогою 1,5 дм<sup>3</sup> розчину кислоти хлористоводневої 6 М. Охолодити суспензію рефолдованого гібридного білка в реакторі до температури 10-15°C шляхом подачі охолодженої води в сорочку кристалізатора. Перемішувати

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						65
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

суспензію рефолдованого гібридного білка протягом 30 хв та відсепарувати на камерному сепараторі. Відсепарований осад рефолдованого гібридного білка зібрати у відтаровану технологічну ємність з нержавіючої сталі. Маса відсепарованого вологого осаду рефолдованого гібридного білка – 6,2 кг.

### **ТП13. Ферментативний гідроліз гібридного білка.**

В реактор внести 180 дм<sup>3</sup> води очищеної, ввімкнути мішалку, частота обертання мішалки 45 об/хв.. Внести відсепарований вологий осад рефолдованого гібридного білка після осадження - 12,4 кг в реактор та суспендувати в воді очищеній. Додати в реактор 0,67 дм<sup>3</sup> розчину кислоти хлористоводневої 6 М. Вміст гібридного білка в розчині – 3120 г, вмісту рефолдованого гібридного білка в розчині - 1714 г. Внести в реактор наважки трилону Б, трометамолу, кальцію ацетату гідратованого. Розчинити рефолдований гібридний білок. Після розчинення рефолдованого гібридного білка провести коректування значення рН розчину 8,1. Додати в реактор води очищеної до об'єму 200 дм<sup>3</sup>. Охолодити реакційну суміш в реакторі до температури 10 – 12°C.

Внести в реактор карбоксипептидазу В і трипсин. Провести процес ферментативного гідролізу при перемішуванні реакційної суміші в реакторі протягом 16 год при температурі 10 – 12 °С. При досягненні концентрації інсуліну людини „сирого” в розчині - 3,15 мг/см<sup>3</sup>, процес ферментативного гідролізу припинити. Внести наважки бензамідину гідрохлориду, трилону Б в реактор. Тривалість процесу ферментативного гідролізу гібридного білка 18 год.

### **ТП14. Кристалізація інсуліну людини „сирого”**

Нагріти суспензію в реакторі до температури 22–25°C шляхом подачі горячої води в сорочку реактору. Довести рН суспензії інсуліну людини „сирого” в реакторі до значення 8,5 - 8,6 додаванням 20 %-го розчину натрію гідроксиду. Внести наважку натрію хлориду в реактор. Після повного розчинення натрію хлориду провести коректування значення рН розчину 8,6 додаванням 20 %-го розчину натрію гідроксиду. Проводити кристалізацію інсуліну людини „сирого” при перемішуванні реакційної суміші в реакторі: тривалість процесу кристалізації 12-16 год, температура при кристалізації 20-25 °С.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		66

### ТП15. Сепарація суспензії інсуліну людини „сирого”

Відсепарувати суспензію інсуліну людини „сирого” на камерному сепараторі. Відсепарований осад інсуліну людини „сирого” (кристали) зібрати у відтаровану технологічну ємність з нержавіючої сталі. Маса відсепарованого вологого осаду рефолдованого гібридного білка – 3,35 кг. Вміст інсуліну людини „сирого” – 837 г, вміст інсуліну людини з чистотою 74 % – 619 г. Тривалість кристалізацію інсуліну „сирого” 18 год.

### ТП16. Іонообмінна хроматографічна очистка інсуліну людини „сирого” (ІОХЗ)

Готують розчину інсуліну „сирого” для ІОХЗ. В бак залити 30 дм<sup>3</sup> води очищеної та ввімкнути мішалку, частота обертання мішалки 45 об/хв. Додати вологий осад інсуліну людини „сирого”. Перемішати вміст баку до отримання однорідної суспензії інсуліну людини „сирого”. В бак додати 150 см<sup>3</sup> кислоти оцтової льодяної, ізопропанолу 15 дм<sup>3</sup>. Довести рН розчину в бак до значення 3,5 за допомогою розчину кислоти хлористоводневої 6 М або кислоти оцтової льодяної. Додати в бак води очищеної до об’єму 50 дм<sup>3</sup>, перемішувати розчин протягом 10 хв. Вимкнути мішалку. Розчин інсуліну людини „сирого” з баку профільтрувати, крізь фільтрувальну систему з утримуючою здатністю 0,2 мкм. Після фільтрації розчину інсуліну людини „сирого” фільтрувальну систему двічі промити буферним розчином ІОХЗ-Г.

Колона упакована іонообмінним сорбентом 50 дм<sup>3</sup> та підготовлена до роботи. Розчин інсуліну людини „сирого” подати на колону. Швидкість потоку 0,8-1,0 дм<sup>3</sup>/хв. Після закінчення подачі на колону розчину інсуліну людини „сирого”, сорбент промити буферним розчином ІОХЗ-Г 245 дм<sup>3</sup>. Елюцію інсуліну людини проводити в лінійному градієнті концентрації натрію хлориду, для чого змішують буферні розчини ІОХЗ-Г та ІОХЗ-Н. Контроль за процесом ведуть за допомогою проточного ультрафіолетового детектора. При оптичній густині  $\geq 0,5$  ОО почати збирати фракції розчину інсуліну людини в відтаровані технологічні ємності. Об’єм головної фракції – 50 дм<sup>3</sup>. Вміст інсуліну людини в розчині – 495 г, вміст інсуліну з домішками в розчині – 582 г.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		67

Після збору цільової фракції необхідно провести регенерацію та врівноваження сорбенту в хроматографічній колоні: його необхідно промити розчином натрію гідроксиду з молярною концентрацією  $0,5 \text{ моль/дм}^3$ , водою очищеною, потім буферним розчином ІОХ3-Г в зворотному потоці (для врівноваження сорбенту). Після закінчення промивки сорбенту водою очищеною перевірити значення рН промивної води на виході з колони  $\leq 10,0$ . Контроль за врівноваженням сорбенту вести на виході з колони по значенню рН розчину  $3,5$ , значенню електропровідності розчину  $\leq 2,0 \text{ мС/см}$ . По досягненню цих значень сорбент в колоні вважається урівноваженим.

## **ТП17. Одержання інсуліну людини, порошку (нестерильної субстанції)**

### **ТП17.1. Кристалізація інсуліну людини**

Розчин інсуліну людини (цільова фракція) в кристалізаторі розбавити водою очищеною в 3 рази: об'єм цільової фракції  $50 \text{ дм}^3$ , об'єм води очищеної  $100 \text{ дм}^3$ , загальний об'єм розчину інсуліну  $150 \text{ дм}^3$ . Ввімкнути мішалку в кристалізаторі, частота обертання мішалки  $45 \text{ об/хв}$ . Внести наважку кислоти лимонної моногідрату і  $10\%$ -й розчин цинку в кристалізатор, перемішувати  $3-5 \text{ хв}$ . Довести рН кристалізаційної маси в кристалізаторі до значення  $8,5$  додаванням  $20\%$ -го розчину натрію гідроксиду. Витримати кристалізаційну масу  $2-3 \text{ хв}$ . Довести рН розчину в кристалізаторі до значення  $6,2 - 6,3$  за допомогою розчину кислоти хлористоводневої  $6 \text{ М}$  або за допомогою кислоти оцтової льодяної. Перемішувати кристалізаційну масу протягом  $2 \text{ год}$ . Візуально контролювати утворення кристалів інсуліну людини - помутніння кристалізаційної маси. Довести рН розчину в кристалізаторі до значення  $6,0 - 6,1$  за допомогою розчину кислоти хлористоводневої  $6 \text{ М}$  або за допомогою кислоти оцтової льодяної. Перемішувати кристалізаційну масу протягом  $2 \text{ год}$ . Довести рН розчину в кристалізаторі до значення  $5,8 - 5,9$  за допомогою розчину кислоти хлористоводневої  $6 \text{ М}$  або за допомогою кислоти оцтової льодяної.

Загальний час перемішування кристалізаційної маси  $12 \text{ год}$ . Після закінчення часу перемішування вимкнути мішалку в кристалізаторі. Час витримки кристалізаційної маси без перемішування для осадження кристалів інсуліну

					<b>БЕ0101.МД.ПЗ</b>	Арк.
						68
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

людини 8 год. Кристалізацію та осадження кристалів інсуліну людини проводять при температурі 15-20°C. Загальний час кристалізації 12- 20 год .

#### **ТП17.2. Фільтрація кристалів інсуліну людини**

Після осадження кристалів інсуліну маточну (надосадову) рідину з кристалізатору декантувати. Кристали інсуліну відділити від маточної рідини, за допомогою фільтра Шотта. Кристали інсуліну на фільтрі Шотта промити 5 дм<sup>3</sup> ізопропанолу. Вологі кристали інсуліну людини зібрати у відтаровану переносну технологічну ємність. Зважити вологі кристали інсуліну людини на вагах: маса вологих кристалів інсуліну людини по технічній масі– 1142 г.

#### **ТП17.3 Висушування кристалів інсуліну людини**

Виготовити піддон з поліетиленової плівки. Вологі кристали інсуліну перенести з технологічної ємності шпателем на піддон та рівномірно розкласти. Заповнений піддон розмістити у камері сублімаційної сушки. Керування процесом ліофільного висушування інсуліну здійснюють за допомогою комп'ютерної програми LPC-16. Контрольні параметри процесу сушки: температура заморожування -30°C, тиск у камері 1,03 мбар , тривалість заморожування 4 год, тривалість висушування 12 год, температура закінчення сушки 10°C. Вимкнути сушку. Вивантажити висушений інсулін людини у відтаровану ємність з нержавіючої сталі або поліетилену.

#### **ПМВ18. Гомогенізація, пакування та маркування інсуліну людини, порошку (нестерильної субстанції)**

Маса інсуліну людини, порошку (нестерильної субстанції) від трьох операцій висушування не менше 1,863 кг. Не допускаючи утворення пилу порошку, перевантажити інсулін людини, порошок (нестерильну субстанцію) з ємностей з нержавіючої сталі або поліетилену у відтаровану ємність для гомогенізації з нержавіючої сталі або поліетилену відповідної місткості. Ємність для гомогенізації з інсуліном людини, порошком (нестерильною субстанцією) закрити кришкою, встановити і зафіксувати на змішувачі та гомогенізувати протягом не менше 60хв. Розрахункова маса серії інсуліну людини, порошку (нестерильної субстанції), яка складається з трьох операцій висушування не менше 1,863 кг. Субстанцію

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						69
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

контролюють на відповідність вимог АНД до реєстраційного посвідчення, затвердженого наказом МОЗ України. Продукція зберігається в цеху до подальшого використана у виробництві високоочищеної субстанції інсуліну людини рекомбінантного.

### 3.3 Контроль виробництва

На підприємстві в ході виробничого процесу забезпечують моніторинговий (постійний та постадійний) контроль процесу та готової продукції. У процесі виробництва контролюють відповідність сировини, допоміжних матеріалів, напівпродуктів вимогам нормативно-технічної документації, контролюють санітарний стан цехів та робочих місць, виконання регламентованих технологічних операцій та технологічних режимів роботи. Передбачені різні види контролю: хімічний контроль включає, технологічний контроль, мікробіологічний контроль. Точки контролю подані в таблиці.

Таблиця 3.2 – Контрольні точки процесу виробництва інсуліну людини

Но- мер К/Т	Об'єкт контролю та показник, що визначається	Метод контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проби	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
<b>ДР1 Підготовка виробництва</b>				
К1.1	Поверхні виробничого приміщення класу В. Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний. Метод змивів тампонами або метод відбитків	Щоразу під час виробничого процесу в приміщенні класу В	Допускається не більше 20 мікроорганізмів на 100 см <sup>2</sup> площі поверхні виробничих приміщень.
	Поверхні виробничого приміщення класу С. Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний. Метод змивів тампонами або метод відбитків	Не рідше 2 разів на тиждень під час виробничого процесу в приміщенні класу С	Допускається не більше 100 мікроорганізмів на 100 см <sup>2</sup> площі поверхні виробничих приміщень.
	Поверхні виробничого приміщення класу D. Мікробіологічна чистота		Не рідше 1 разу на тиждень під час виробничого процесу в приміщеннях класу D	Допускається не більше 200 мікроорганізмів на 100 см <sup>2</sup> площі поверхні виробничих приміщень.
	Поверхні виробничих приміщень контрольованої зони. Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний. Метод змивів тампонами	Не рідше 1 разу на місяць після проведення дезобробки. Не рідше 1 разу на тиждень під час виробничого процесу в приміщеннях контрольованої зони	Після проведення дезобробки не повинні бути виявлені життєздатні м/о. Під час виробничого процесу допускається не більше 200 КУО на 100 см <sup>2</sup> площі поверхні; не допускається наявність <i>E. coli</i> .
К1.2	Обладнання, апаратура та інвентар у виробничім приміщенні класу В. Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний. Метод змивів тампонами або метод відбитків	Щоразу під час виробничого процесу в приміщенні класу В	Допускається не більше 20 мікроорганізмів на 100см <sup>2</sup> площі поверхні виробничих приміщень.
	Обладнання, апаратура та інвентар у виробничім приміщенні класу С. Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний. Метод змивів тампонами або метод відбитків	Не рідше 2 разів на тиждень під час виробничого процесу в приміщенні класу С	Допускається не більше 100 мікроорганізмів на 100см <sup>2</sup> площі поверхні виробничих приміщень.

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
	Обладнання, апаратура та інвентар у виробничім приміщенні класу D. Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний. Метод змивів тампонами або метод відбитків	Не рідше 1 разу на тиждень під час виробничого процесу в приміщеннях класу D	Допускається не більше 200 мікроорганізмів на 100см <sup>2</sup> площі поверхні виробничих приміщень.
	Обладнання, апаратура та інвентар у виробничих приміщеннях контрольованої зони	Мікробіологічний. Метод змивів тампонами	Не рідше 1 разу на місяць після проведення дезобробки. Не рідше 1 разу на тиждень під час виробничого процесу в приміщеннях контрольованої зони	Після проведення дезобробки не повинні бути виявлені життєздатні м/о. Під час виробничого процесу допускається не більше 200 КУО на 100 см <sup>2</sup> площі поверхні; не допускається наявність <i>E. coli</i> .
K1.3	Повітря виробничого приміщення класу B. Мікробіологічна чистота	Аспіраційний метод	Щоразу під час виробничого процесу в приміщенні класу B	Максимально припустима кількість життєздатних м/о - 10 КУО/м <sup>3</sup> .
	Повітря виробничих приміщень класу C. Мікробіологічна чистота	Аспіраційний метод	Не рідше 2х разів/тиждень під час виробничого процесу в приміщеннях кл. C	Максимально припустима кількість життєздатних м/о - 100 КУО/м <sup>3</sup> .
	Повітря виробничих приміщень класу D. Мікробіологічна чистота	Аспіраційний метод	Не рідше 1 разу/тиждень під час виробничого процесу в приміщеннях кл. D	Максимально припустима кількість життєздатних м/о - 200 КУО/м <sup>3</sup> .
	Повітря виробничих приміщень контрольованої зони.	Аспіраційний метод	Не рідше одного разу на тиждень під час виробничого процесу в приміщеннях контрольованої зони	Максимально припустима кількість життєздатних м/о у повітрі приміщень контрольованої зони - 200 КУО/м <sup>3</sup> .
	Повітря виробничих приміщень класу B. Вміст часток	Оптичний лічник часток	Не рідше одного разу на тиждень під час виробничого процесу в приміщенні класу B	Частки розміром від 0,5 мкм не більше 350000 в 1м <sup>3</sup> , розміром від 5,0мкм не більше 2000 в 1м <sup>3</sup>
	Повітря виробничих приміщень класу C. Вміст часток	Оптичний лічник часток	Не рідше одного разу на тиждень під час виробничого процесу в приміщенні класу C	Частки розміром від 0,5 мкм не більше 3500000 в 1м <sup>3</sup> , розміром від 5,0мкм не більше 20000 в 1 м <sup>3</sup>
K1.4	Руки виробничого персоналу, що зайнятий в приміщеннях класу B. Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний. Метод змивів тампонами або метод відбитків.	Контроль мікробіологічної чистоти рук щоразу під час виробничого процесу вибірково в декількох працівників	У змивах з рук, взятих під час виробничого процесу з 25 см <sup>2</sup> , допускається наявність не більше 5 м/о
K1.5	Дезрозчини в робочих концентраціях (в приміщеннях класів чистоти B,C,D)	Мікробіологічний Метод мембранної фільтрації	Не рідше 1 разу на місяць для розчинів, підготовлених для використання	Не більше 10 <sup>2</sup> КУО на 100 см <sup>3</sup> дезрозчину
K1.6.1	Обладнання, апаратура. Повно-та видалення залишків білкових забруднень	Метод змивів тампонами методики 8.1 міжопераційного контролю, метод Бредфорда ,методика 3 міжопераційного контролю	Після кожного очищення	У змивах з площі поверхні виробничих приміщень 100 см <sup>2</sup> не більше 1мкг білка
K1.6.2	Обладнання, апаратура. Повнота видалення залишків мийних засобів	Згідно методики 8.2 міжопераційного контролю, розділ 3.1	Після кожного очищення	Якість відмивки обладнання від залишкових кількостей мийних засобів
K1.6.3	Обладнання, апаратура. Повнота видалення залишків перекиси водню	Згідно методики 8.3 міжопераційного контролю, розділ 3.1	Після кожного очищення	Якість відмивки обладнання від залишкових кількостей мийних засобів

БЕ0101.МД.ПЗ

Арк.

72

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата



## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
<b>ДР2 Підготовка сировини</b>				
K2.1	Партія основної і допоміжної сировини та матеріалів, що надійшла. Вхідний контроль сировини, матеріалів на відповідність якості вимогам НТД	СОП ОКК ДОК СП 0002 „Порядок проведення входного контролю качества сырья и вспомогательных материалов - отбор проб, документирование”, згідно переліків ОКК ДОК ПЕ 0002, ОКК ДОК ПЕ 0006. Методи аналізу відповідно НТД	Кожну партію	Повна відповідність якості основної і допоміжної сировини та матеріалів вимогам НТД

**Стадія ДР4 . Приготування розчинів.****Стадія ДР4.1. Приготування і стерилізація допоміжних розчинів та компонентів ПС**

K4.1.1	Технологічний лабораторний посуд. Маса канаміцину сульфату	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	60 мг
K4.1.3	Маса пептону сухого ферментативного	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	20 г
K4.1.4	Маса дріжджового екстракту сухого	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	10 г
K4.1.5	Маса натрію хлориду	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	20 г
K4.1.2	Мірний циліндр. Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	10 см <sup>3</sup>
K4.1.6	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	до 2,0 л
K4.1.7	Стерилізатор паровий A1720/1,2	Програмне забезпечення, реєстрація на комп'ютері	Кожне завантаження	121 ± 1 °C
K4.1.8	Температура стерилізації	Термометричний: датчик температури	Кожне завантаження	0,11 МПа
K4.1.9	Надмірний тиск	Манометричний: манометр	Кожне завантаження	30 хв
K4.1.10	Час стерилізації	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	10 см <sup>3</sup>
K4.1.10	Технологічний посуд. Об'єм розчину канаміцину сульфату з масовою концентрацією 6,0 г/л	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	
K4.1.11	Технологічний лабораторний посуд. Маса пептону сухого ферментативного	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	120 г
K4.1.12	Маса дріжджового екстракту сухого	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	120 г
K4.1.13	Маса глюкози моногідрату	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	80 г
K4.1.14	Маса натрію хлориду	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	40 г
K4.1.15	Маса діамонію гідрофосфату	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	80 г
K4.1.16	Маса дикалію гідрофосфату	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	80 г
K4.1.17	Технологічна ємність. Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	8,0 л
K4.1.18	Технологічний лабораторний посуд. Маса канаміцину сульфату	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	1,2 г
K4.1.19	Технологічний посуд. Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	20 см <sup>3</sup>

					<b>БЕ0101.МД.ПЗ</b>	Арк.
						73
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K4.1.20	Технологічний лабораторний посуд. Маса магнію сульфату гептагідрату	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	200 г
K4.1.21	Технологічний посуд. Маса кислоти лимонної моногідрату	Ваговий, ваги A1701	Кожне завантаження	600 г
K4.1.22	Технологічний посуд. Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	до 2,0 л
K4.1.23	Технологічний лабораторний посуд. Маса заліза (II) сульфату гептагідрату	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	20 г
K4.1.24	Маса цинку сульфату гептагідрату	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	4,5 г
K4.1.25	Маса міді сульфату пентагідрату	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	2,0 г
K4.1.26	Маса мангану (II) хлориду тетрагідрату	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	0,5 г
K4.1.27	Маса кальцію хлориду дигідрату	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	4,0 г
K4.1.28	Маса кислоти лимонної моногідрату	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	120,0 г
K4.1.29	Градуїрована технологічна ємність. Об'єм розчину кислоти хлористоводневої 1 М	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	800 см <sup>3</sup>
K4.1.30	Об'єм р-ну натрію гідроксиду з масовою часткою 20%	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	800 см <sup>3</sup>
K4.1.31	Технологічний лабораторний посуд. Маса натрію тетраборату декагідрату	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	0,5 г
K4.1.32	Маса натрію молібдату	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	0,2 г
K4.1.33	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	40 см <sup>3</sup>
K4.1.34	Маса трилону Б	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	56 г
K4.1.35	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	125 см <sup>3</sup>
K4.1.36	Значення рН розчину	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	8,0 - 8,2
K4.1.37	Градуїрована технологічна ємність. Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	до 200 см <sup>3</sup>
K4.1.38	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	до 2,0 л
K4.1.39	Ємність В1703. Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	40 л

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K4.1.40	Технологічний посуд. Маса пептону сухого ферментативного	Ваговий, ваги A1701	Кожне завантаження	1050 г
K4.1.41	Маса дріжджового екстрак- ту сухого	Ваговий, ваги A1701	Кожне завантаження	1050 г
K4.1.42	Маса глюкози моногідрату	Ваговий, ваги A1701	Кожне завантаження	700 г
K4.1.43	Маса натрію хлориду	Ваговий, ваги A1701	Кожне завантаження	350 г
K4.1.44	Маса діамонію гідрофосфа- ту	Ваговий, ваги A1701	Кожне завантаження	700 г
K4.1.45	Маса дікалію гідрофосфату	Ваговий, ваги A1701	Кожне завантаження	700 г
K4.1.46	Маса амонію хлориду	Ваговий, ваги A1701	Кожне завантаження	350 г
K4.1.47	Маса канаміцину сульфату	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	10 г
K4.1.48	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	до 100 см <sup>3</sup>
K4.1.49	Маса тіаміну гідрохлориду	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	2,0 г
K4.1.50	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	до 100 см <sup>3</sup>
K4.1.51	Маса амонію хлориду	Ваговий, ваги A1701	Кожне завантаження	500 г
K4.1.52	Градуїрована технологічна ємність Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	до 2,0 л
K4.1.53	Технологічний лабораторний посуд. Маса амонію сульфату	Ваговий, ваги A1701	Кожне завантаження	500 г
K4.1.54	Градуїрована технологічна ємність. Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	2,0 л
K4.1.55	Технологічний лабораторний посуд. Маса дікалію гідрофосфату	Ваговий, ваги A1701	Кожне завантаження	700 г
K4.1.56	Градуїрована технологічна ємність. Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	до 4,0 л
K4.1.57	Об'єм води очищеної	Мірний, витратомір	Кожне завантаження	5 л
K4.1.58	Технологічна ємність	Ваговий, ваги A1701	Кожне завантаження	8,0 кг
K4.1.59	Маса глюкози моногідрату	Мірний	Кожне завантаження	до 16 л
K4.1.60	Об'єм розчину глюкози	Мірний	Кожне завантаження	80 л
K4.1.61	Загальний об'єм розчину глюкози з масовою часткою 50 %	Ваговий, ваги A1702	Кожне завантаження	80,0 г
K4.1.62	Маса ізопропіл β-D-1-тіога- лактопіранозиду (IPTG)	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	до 500 см <sup>3</sup>
K4.1.63	Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	2,0 л
K4.1.64	Градуїрована технологіч- на ємність. Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	2,0 л
K4.1.65	Технологічна ємність	Ваговий, ваги A1701	Кожне завантаження	364 г
K4.1.66	Маса трометамолу	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	8,0 - 8,2
K4.1.67	Значення рН розчину	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	до 3 л
K4.1.68	Об'єм води очищеної	Ваговий, ваги A1701	Кожне завантаження	224 г
K4.1.69	Маса трилону Б	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	500 мл
K4.1.70	Об'єм води очищеної	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	8,0 - 8,2
K4.1.70	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	до 800 мл

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
<b>Стадія ДР4.2. Приготування буферного розчину для рефолдингу</b>				
K4.2.1	Реактор R1112. Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	1700 л
K4.2.2	Об'єм гліцерину	Об'ємний, мірні ємності	Кожне завантаження	91 л
K4.2.3	Технологічна ємність Маса гліцерину кристалічного	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	1,364 кг
K4.2.4	Маса цистину	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	873 г
K4.2.5	Маса трилону Б	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	691 г
K4.2.6	Реактор R1112 Значення pH розчину	Потенціометричний, pH-метр	Кожне завантаження	11,0 - 11,2
<b>Стадія ДР4.3 Приготування розчинів для катіонообмінної хроматографічної очистки рефолдованого гібридного білка (IOX1)</b>				
K4.3.1	Реактор R1103 Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний, витратомір	Кожне завантаження	210 л
K4.3.2	Маса натрію ацетату тригідрату	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	817 г
K4.3.3	Маса сечовини	Ваговий, ваги A1118	Кожне завантаження	108,2 кг
K4.3.4	Значення pH розчину	Потенціометричний, pH-метр	Кожне завантаження	4,1± 0,05
K4.3.5	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний, витратомір	Кожне завантаження	до 300 л
K4.3.6	Реактор R1102 Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний, витратомір	Кожне завантаження	80 л
K4.3.7	Маса натрію ацетату тригідрату	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	327 г
K4.3.8	Маса натрію хлориду	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	1062 г
K4.3.9	Маса сечовини	Ваговий, ваги A1118	Кожне завантаження	43,24 кг
K4.3.10	Значення pH розчину	Потенціометричний, pH-метр	Кожне завантаження	4,1± 0,05
K4.3.11	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний, витратомір	Кожне завантаження	до 120 л
K4.3.12	Реактор R1103 Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний, витратомір	Кожне завантаження	115 л
K4.3.13	Маса натрію ацетату тригідрату	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	463 г
K4.3.14	Маса натрію хлориду	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	4012 г
K4.3.15	Маса сечовини	Ваговий, ваги A1118	Кожне завантаження	61,3 кг
K4.3.16	Значення pH розчину	Потенціометричний, pH-метр	Кожне завантаження	4,1± 0,05
K4.3.17	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний, витратомір	Кожне завантаження	до 170 л
K7.3.18	Реактор R1102 Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний, витратомір	Кожне завантаження	170 л
K7.3.19	Маса натрію ацетату тригідрату	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	490 г
K4.3.20	Маса натрію хлориду	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	10,62 кг
K4.3.21	Час перемішування розчину	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	15 - 20 хв
K4.3.22	Значення pH розчину	Потенціометричний, pH-метр	Кожне завантаження	4,1± 0,05
K4.3.23	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний, витратомір	Кожне завантаження	170 л
K4.3.24	Маса натрію гідроксиду	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	3,6 кг
K4.3.25	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний, витратомір	Кожне завантаження	до 180 л

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

БЕ0101.МД.ПЗ

Арк.

76

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K4.3.26 K4.3.27	Кристалізатор R1107C Об'єм води очищеної Маса вологого аморфного осаду рефолдованого гібридного білка	Об'ємний, мірний, витратомір Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження Кожне завантаження	135 л 30,0 кг
K4.3.28 K4.3.29	Вміст гібридного білка Вміст рефолдованого гібридного білка	Розрахунковий Розрахунковий	Кожне завантаження	5,82 кг
K4.3.30	Час перемішування р-ну рефолдованого гібридного білка	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження Кожне завантаження	756,6 кг 40 хв
K4.3.31	Технологічна ємність. Маса сечовини	Ваговий, ваги A1118	Кожне завантаження	84 кг
K4.3.32	Кристалізатор R1107C Об'єм р-ну кислоти хлористоводневої 6М	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	0,972 л
K4.3.32	Температура розчину	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	18 -22°C
K4.3.33	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний, витратомір	Кожне завантаження	до 233 л
K4.3.35	Значення pH розчину	Потенціометричний, pH-метр	Кожне завантаження	3,5 - 4,1
K4.3.36	Значення електропровідності розчину рефолдованого гібридного білка	Кондуктометричний метод, кондуктометр	Кожне завантаження	не більше 4,0 mS/cm

**Стадія ДР4.4 Приготування розчинів для аніонообмінної хроматографічної очистки рефолдованого гібридного білка (IOX2)**

K4.4.1	Реактор R1114 Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	240 л
K4.4.2	Технологічна ємність			
K4.4.2	Маса натрію хлориду	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	0,502 кг
K4.4.3	Маса трометамолу	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	1,031 кг
K4.4.4	Маса сечовини	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	122,52 кг
K4.4.5	Реактор R1114 Значення pH розчину	Потенціометричний, pH-метр	Кожне завантаження	8,1 ± 0,1
K4.4.6	Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	до 340 л
K4.4.7	Значення вакууму при дегазації буферного р-ну IOX2-E	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	мінус 0,8 bar
K4.1.8	Реактор R1115 Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	100 л
K4.4.9	Технологічна ємність			
K4.4.9	Маса натрію хлориду	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	9,853 кг
K4.6.10	Маса трометамолу	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	0,506 кг
K4.6.11	Маса сечовини	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	60,2 кг
K4.4.12	Реактор R1115 Значення pH розчину	Потенціометричний, pH-метр	Кожне завантаження	8,1 ± 0,1
K4.4.13	Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	до 167 л
K4.4.14	Значення вакууму при дегазації буферного р-ну IOX2-E	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	мінус 0,8 bar
K4.4.15	Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	250 л
K4.4.16	Технологічна ємність Маса натрію гідроксиду	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	11,0 кг
K4.4.17	Реактор R1115 Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	до 275 л

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

БЕ0101.МД.ПЗ

Арк.

77

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K4.4.18 K4.4.19	Кристалізатор R1107B Об'єм води очищеної Маса вологого осаду ре- фолдованого гібридного білка 2х осаджень	Об'ємний, витратомір Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження Кожне завантаження	50 л не менше 10,0 кг
K4.4.20 K4.4.21	Технологічна ємність Маса сечовини Маса трометамолу	Ваговий, ваги A1102 Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження Кожне завантаження	31 кг 0,269 г
K4.4.22 K4.4.23	Кристалізатор R1107B Маса трилону Б Температура розчину	Ваговий, ваги A1102 Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження Кожне завантаження	0,476 г 18 -22°C
K4.4.24	Об'єм розчину рефолдо- ваного гібридного білка	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	86 л
K4.4.25 K4.4.26	Значення pH розчину Значення електропровід- ності р-ну рефолдовано- го гібридного білка	Потенціометричний, pH-метр Кондуктометричний метод, кондуктометр	Кожне завантаження Кожне завантаження	8,1 - 8,5 2,9 - 3,1 mS/cm
K4.4.27	Час перемішування	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	30 хв
K4.4.28	Фільтрувальна система F1102. Тиск стислого повітря	Манометричний, манометр	Кожна фільтрація	≤ 1,6 bar
K4.4.29	Технологічна ємність Об'єм буферного розчину IOX2-E для промивки фільтру	Об'ємний, мірний	Кожна фільтрація	10,0 л

**Стадія ДР4.5 Приготування розчинів для іонообмінної хроматографічної очистки рефолдованого гібридного білка (IOX3)**

K4.5.1 K4.5.3 K4.75.4	Реактор R1117 Об'єм води очищеної Об'єм ізопропанолу Об'єм розчину кислоти хлористоводневої 6 М	Об'ємний, витратомір Об'ємний, витратомір Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження Кожне завантаження Кожне завантаження	225 л 100,2 л 1,113 л
K4.5.2	Технологічна ємність Маса натрію ацетату тригідрату	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	0,909 кг
K4.5.5 K4.5.6	Реактор R1117 Об'єм води очищеної Значення pH розчину	Об'ємний, витратомір Потенціометричний, pH-метр	Кожне завантаження Кожне завантаження	до 334 л 3,8 - 4,2
K4.5.7	Фільтр F1113 Тиск стислого азоту	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	≤ 1,6 bar
K4.5.8	Реактор R1117 Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	90 л
K4.5.9 K4.5.10	Технологічна ємність Маса натрію хлориду Маса натрію ацетату тригідрату	Ваговий, ваги A1102 Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження Кожне завантаження	1,954 кг 392,0 г
K4.5.11 K4.5.12	Реактор R1117 Об'єм ізопропанолу Об'єм розчину кислоти хлористоводневої 6 М	Об'ємний, витратомір Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження Кожне завантаження	43,2 л 0,48 л
K4.5.13 K4.5.14	Об'єм води очищеної Значення pH розчину	Об'ємний, витратомір Потенціометричний, pH-метр	Кожне завантаження Кожне завантаження	до 144 л 3,8 - 4,2
K4.5.15	Фільтр F1114 Тиск стислого азоту	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	≤ 1,6 bar
K4.5.16	Реактор R1117 Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	45 л

Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K4.5.17 K4.5.18	Технологічна ємність Маса натрію хлориду Маса натрію ацетату тригідрату	Ваговий, ваги A1102 Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження Кожне завантаження	4,248 кг 392,0 г
K4.5.19 K4.5.20	Реактор R1117 Об'єм ізопропанолу Об'єм розчину кислоти хлористоводневої 6 М	Об'ємний, витратомір Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження Кожне завантаження	21,6 л 0,24 л
K4.5.21 K4.5.22	Об'єм води очищеної Значення pH розчину	Об'ємний, витратомір Потенціометричний, pH-метр	Кожне завантаження Кожне завантаження	до 72л 3,8 - 4,2
K4.5.23	Фільтр F1114 Тиск стислого азоту	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	≤ 1,6 bar
K4.5.24 K4.5.25 K4.5.26	Реактор R1118 Об'єм води очищеної Маса натрію гідроксиду Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір Ваговий, ваги A1102 Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження Кожне завантаження Кожне завантаження	150 л 3,6 кг до 180 л
K4.5.27	Кристалізатор R1108 Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	25 л
K4.5.28	Технологічна ємність Маса вологого осаду інсуліну людини „сирого”	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	не менше 2,5 кг
K4.5.29 K4.5.30	Кристалізатор R1107C Об'єм ізопропанолу Об'єм розчину кислоти хлористоводневої 6 М	Об'ємний, витратомір Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження Кожне завантаження	13,55 л 0,15 л
K4.5.31 K4.5.32	Бак R1108 Значення pH розчину Об'єм води очищеної	Потенціометричний, pH-метр Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження Кожне завантаження	3,0 ± 0,3 до 45 л
K4.5.33	Фільтрувальна система F1102 . Тиск стислого азоту	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	≤ 1,6 bar
K4.5.34	Технологічна ємність Об'єм буферного розчину IOX3-G	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	по 5,0 л
K4.5.35	Фільтрувальна система F1102 Тиск стислого азоту	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	≤ 1,6 bar
K4.5.36 K4.5.37	Реактор R1119 Загальний об'єм розчину інсуліну людини „сирого” Значення електропровідності розчину	Об'ємний, мірний Кондуктометричний метод, кондуктометр	Кожне завантаження Кожне завантаження	55 л не більше 4,0 mS/cm

Стадія ДР5. Підготовка поживних середовищ

Стадія ДР5.1 Приготування і стерилізація поживного середовища в посівному апараті

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

БЕ0101.МД.ПЗ

Арк.

79

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K5.1.1 K5.1.2	Апарат посівний R1705 Об'єм води очищеної Температура стерилізації	Об'ємний, витратомір Термометричний, датчик температури, контролер I1706, програмне забезпечення, реєстрація на комп'ютері	Кожне завантаження Кожне завантаження	$20 \pm 5$ л $126 \pm 1^\circ\text{C}$
K5.1.3	Надмірний тиск при стерилізації	Манометричний, манометр, контролер I1706, програмне забезпечення, реєстрація на комп'ютері	Кожне завантаження	0,15 МПа
K5.1.4	Час стерилізації	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	1 год
K5.1.5	Температура апарату посівного	Термометричний, термометр, контролер I1706, програмне забезпечення, реєстрація на комп'ютері	Кожне завантаження	$\leq 50^\circ\text{C}$
K5.1.6 K5.1.7	Об'єм води очищеної Об'єм концентрату поживного середовища	Об'ємний, витратомір Об'ємний, мірна ємність	Кожне завантаження Кожне завантаження	30 л 8 л
K5.1.8	Об'єм пропінолу Б 400	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	$20 - 25 \text{ см}^3$
K5.1.9	Стерилізатор паровий A1720/1,2 Температура стерилізації	Програмне забезпечення, реєстрація на комп'ютері Термометричний, датчик температури,	Кожне завантаження	$121 \pm 1^\circ\text{C}$
K5.1.10	Надмірний тиск при стерилізації	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	0,11 МПа
K5.1.11	Час стерилізації	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	45 хв
K5.1.12	Тиск при підсушуванні	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	-0,08 МПа
K5.1.13	Час підсушування	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	15 - 20 хв
K5.1.14	Температура охолодження	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	$\leq 40^\circ\text{C}$
K5.1.15	Апарат посівний R1705 Температура стерилізації поживного середовища	Програмне забезпечення, реєстрація на комп'ютері, контролер I1706 Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	$126 \pm 1^\circ\text{C}$
K5.1.16	Надмірний тиск при стерилізації	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	0,15 МПа
K5.1.17	Час стерилізації поживного середовища	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	1 год
K5.1.18	Температура поживного середовища культивування в апараті посівному	Термометричний: датчик температури	Кожне завантаження	$37 \pm 1^\circ\text{C}$
K5.1.19	Об'єм р-ну канаміцину сульфату з масовою концентрацією 60 г/л	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	$20 \text{ см}^3$
K5.1.20	Об'єм р-ну магнію сульфату в р-ні кислоти лимонної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	$25 \text{ см}^3$
K5.1.21	Об'єм розчину мікроелементів	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	$25 \text{ см}^3$
K5.1.22	Значення рН поживного середовища	Потенціометричний: датчик рН, перетворювач	Кожне завантаження	6,8 - 7,2
K5.1.23	Температура поживного середовища	Термометричний: датчик температури	Кожне завантаження	$37 \pm 1^\circ\text{C}$



## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
<b>Стадія ДР5.2 Приготування і стерилізація поживного середовища в ферментері</b>				
K5.2.1 K5.2.2	Ферментер R1706 Об'єм води очищеної Температура стерилізації	Програмне забезпечення, реєстрація на комп'ютері Об'ємний, витратомір Термометричний: датчик температури, контролер I1706	Кожне завантаження Кожне завантаження	$100 \pm 20$ л $126 \pm 1^\circ\text{C}$
K5.2.3	Надмірний тиск при стерилізації	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	0,15 МПа
K5.2.4 K5.2.5	Час стерилізації Температура ферментеру	Хронометричний, годинник Термометричний: датчик температури, контролер I1706	Кожне завантаження Кожне завантаження	1 год $\leq 50^\circ\text{C}$
K5.2.6 K5.2.7	Об'єм води очищеної Частота обертання мішалки	Об'ємний, витратомір Частотний перетворювач	Кожне завантаження Кожне завантаження	200 л 45 об/хв
K5.2.8	Об'єм концентрату поживного середовища	Об'ємний, мірна ємність	Кожне завантаження	40 л
K5.2.9	Об'єм пропінолу Б 400	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	$250 - 350 \text{ см}^3$
K5.2.10	Стерилізатор паровий A1720/1,2 Температура стерилізації	Програмне забезпечення, реєстрація на комп'ютері Термометричний: датчик температури	Кожне завантаження	$121 \pm 1^\circ\text{C}$
K5.2.11	Надмірний тиск при стерилізації	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	0,11 МПа
K5.2.12	Час стерилізації	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	45 хв
K5.2.13	Тиск при підсушуванні	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	мінус 0,08 МПа
K5.2.14	Час підсушування	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	15 - 20 хв
K5.2.15	Температура при охолодженні після стерилізації	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	$\leq 40^\circ\text{C}$
K5.2.16	Ферментер R1706 Температура стерилізації поживного середовища культивування	Програмне забезпечення, реєстрація на комп'ютері Термометричний, датчик температури, контролер I1706	Кожне завантаження	$126 \pm 1^\circ\text{C}$
K5.2.17	Надмірний тиск при стерилізації	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	0,15 МПа
K5.2.18 K5.2.19	Час стерилізації Температура поживного середовища культивування в ферментері при охолодженні після стерилізації	Хронометричний, годинник Термометричний: датчик температури програма №4 "охолодження" термометричний, контролер I1706	Кожне завантаження Кожне завантаження	1 год $\leq 50^\circ\text{C}$
K5.2.20	Об'єм р-ну канаміцину сульфату з масовою концентрацією 100 г/л	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	$100 \text{ см}^3$
K5.2.21	Об'єм розчину тіаміну гідрохлориду з масовою концентрацією 20 г/л	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	$50 \text{ см}^3$
K5.2.22	Об'єм води очищеної для промивки	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	$500 \text{ см}^3$
K5.2.23	Об'єм розчину магнію сульфату в розчині кислоти лимонної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	$500 \text{ см}^3$
K5.2.24	Об'єм розчину мікроелементів	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	$500 \text{ см}^3$

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K5.2.25	Фільтр №2 Об'єм води очищеної для промивки	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	500 см <sup>3</sup>
K5.2.26	Ферментер R1706 Значення рН поживного середовища	Програмне забезпечення, реєстрація на комп'ютері Потенціометричний: дат-чик рН, перетворювач, контролер I1706	Кожне завантаження	6,8 - 7,2
K5.2.27	Температура поживного середовища	Термометричний, датчик температури, програма № 1 "термостатування" тер-моємності T1706, контролер I1706	Кожне завантаження	37 ± 1 °C

Стадія ТП6. Одержання біомаси культури рекомбінантного штаму E. coli

Стадія ТП6.1 Культивування посівної культури продуценту в інокуляторах (колбах)

K6.1.1	Ємність Дюара Періодичність контролю рівня рідкого азоту в ємності Дюара	Хронометричний	Кожне завантаження	1 раз на тиждень
K6.1.2	Постійний об'єм рідкого азоту в ємності Дюара при зберіганні пробірок РБК	Об'ємний	Кожне завантаження	15 – 20 л
K6.1.3	Колба на 5 л Об'єм стерильного рідкого поживного середовища LB в колбі	Об'ємний	Кожне завантаження	2,0 л
K6.1.4	Пробірка з РБК Об'єм робочої посівної культури клітин штаму-продуценту	Об'ємний, мірна піпетка	Кожне завантаження	1,6 мл
K6.1.5	Колби на 2 л Об'єм стерильного рідкого поживного середовища LB у кожній колбі	Об'ємний	Кожне завантаження	500 мл
K6.1.6	Пробірка з РБК Об'єм робочої посівної культури клітин штаму-продуценту у колбі	Об'ємний, мірна піпетка	Кожне завантаження	0,4 см <sup>3</sup>
K6.1.7	Термошейкер ST1704 Частота струшування колб	Тахометричний, тахометр	Кожне завантаження	150 - 200 об/хв
K6.1.8	Температура вирощування посівної культури клітин штаму-продуценту	Термометричний, термометр	Кожне завантаження	37 + 1°C
K6.1.9	Час вирощування посівної культури клітин	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	не менше 10 год

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

БЕ0101.МД.ПЗ

Арк.

82

Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K6.1.10	Колба на 5 л. Чистота посівної культури клітин продуценту	Мікробіологічний	Кожне завантаження	Відсутність сторонньої мікрофлори
K6.1.11	Оптична щільність посівної культури клітин штаму-продуценту	Спектрофотометричний, методика 1 міжоперацій-ного контролю	Кожне завантаження	1,5 – 2,0 ОО
K6.1.12	Об'єм стерильного рідкого поживного середовища LB в колбі	Об'ємний	Кожне завантаження	2,0 л
K6.1.13	Об'єм робочої посівної культури клітин штаму-продуценту з колби на 5 л	Об'ємний, мірна піпетка	Кожне завантаження	1,6 см <sup>3</sup>
K6.1.14	Кількість пересівів з колби в колбу	Хронометричний	Кожний пересів	Не більше п'яти разів
K6.1.15	Термошейкер ST1704 Частота струшування колб	Тахометричний, тахометр	Кожне завантаження	150 - 200 об/хв
K6.1.16	Температура вирощування посівної культури клітин штаму-продуценту	Термометричний, термометр	Кожне завантаження	37 + 1°C
K6.1.17	Час вирощування посівної культури клітин	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	не менше 10 год
K6.1.18	Колба на 5 л. Чистота посівної культури клітин продуценту	Мікробіологічний	Кожне завантаження	Відсутність сторонньої мікрофлори
K6.1.19	Оптична щільність посівної культури клітин штаму-продуценту	Спектрофотометричний, методика 1 міжоперацій-ного контролю	Кожне завантаження	1,5 – 2,0 ОО

**Стадія ТП6.2 Культивування посівної культури клітин штаму- продуценту в апараті посівному.**

K6.2.1	Апарат посівний R1705 Тиск стислого повітря при культивуванні посівної культури клітин	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	0,01 - 0,05 МПа
K6.2.2	Значення рН середовища культивування	Потенціометричний: датчик рН, перетворювач, контролер ІІ706	Кожне завантаження	6,8 - 7,2
K6.2.3	Концентрація розчиненого кисню в середовищі культивування.	Потенціометричний: датчик вимірювання значень розчиненого кисню, перетворювач, контролер	Кожне завантаження	30 - 50 %
K6.2.4	Температура культуральної рідини	Термометричний, термометр, програма №1 "термостатування" термоємності, контролер ІІ706	Кожне завантаження	37 ± 1°C
K6.2.5	Періодичність відбору проби	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	1 раз на годину
K6.2.6	Оптична щільність культури клітин штаму-продуценту	Спектрофотометричний, методика 1 міжоперацій-ного контролю	Кожне завантаження	2,0 - 4,0 ОО
K6.2.7	Час вирощування культури клітин продуценту	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	5 - 6 год
K6.2.8	Перевірка чистоти посівної культури клітин в апараті посівному	Мікробіологічний	Кожне завантаження	Відсутність сторонньої мікрофлори

**Стадія ТП7 Виробничий біосинтез**

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						83
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K7.1	Ферментер R1706 Температура поживного середовища	Термометричний, датчик температури, програма №1 "термостатування" термоємності T1706, контролер I1706, програмне забезпечення, реєстрація на комп'ютері	Кожне завантаження	$37 \pm 1^{\circ}\text{C}$
K7.2	Апарат посівний R1705 Тиск стислого повітря	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	0,05 МПа
K7.3	Ферментер R1706 Частота обертання мішалки	Частотний перетворювач	Кожне завантаження	180 об/хв
K7.4	Тиск стислого повітря при культивуванні	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	0,01 - 0,05 МПа
K7.5	Значення рН середовища культивування	Потенціометричний: датчик рН, перетворювач, контролер I1706, програмне забезпечення, реєстрація на комп'ютері	Кожне завантаження	6,8 - 7,2
K7.6	Об'єм аміаку розчину концентрованого	Об'ємний, мірна ємність	Кожне завантаження	5,0 - 8,0 л
K7.7	Концентрацію розчиненого кисню в середовищі культивування.	Потенціометричний: датчик вимірювання значень розчиненого кисню, перетворювач, контролер I1706, програмне забезпечення	Кожне завантаження	30 - 70 %
K7.8	Частота обертання мішалки при культивуванні	Частотний перетворювач	Кожне завантаження	від 100 до 500 об/хв
K7.9	Температуру культуральної рідини	Термометричний: датчик температури, контролер I1706, програмне забезпечення, реєстрація на комп'ютері	Кожне завантаження	$37 \pm 1^{\circ}\text{C}$
K7.10	Об'єм пропіолу Б 400	Об'ємний, мірна колба	Кожне завантаження	400 - 500 см <sup>3</sup>
K7.11	Періодичність відбору проби	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	1 раз на годину
K7.12	Оптична щільність культури клітин	Спектрофотометричний, методика 1 міжопераційного контролю	Кожне завантаження	2,5 - 3,5 ОО
K7.13	Об'єм розчину глюкози з масовою часткою 50 %	Мірний, мірна ємність	Кожне завантаження	80 л
K7.14	Оптична щільність культури клітин	Спектрофотометричний, методика 1 міжопераційного контролю	Кожне завантаження	9,0 – 11,0 ОО
K7.15	Об'єм розчину магнію сульфату в розчині кислоти лимонної	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	500 см <sup>3</sup>
K7.16	Об'єм розчину мікроелементів	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	500 см <sup>3</sup>
K7.17	Об'єм розчину дикалію гідрофосфату з масовою часткою 17,5 %	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	1,0 л
K7.18	Об'єм розчину амонію хлориду з масовою часткою 25 %	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	500 см <sup>3</sup>
K7.19	Об'єм розчину амонію сульфату з масовою часткою 25 %	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	500 см <sup>3</sup>

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						84
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K7.20	Ферментер R1706 Оптична щільність культури клітин	Спектрофотометричний, методика 1 міжопераційного контролю	Кожне завантаження	19,0 – 21,0 ОО
K7.21	Об'єм розчину магнію сульфату в розчині кислоти лимонної	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	500 см <sup>3</sup>
K7.22	Об'єм розчину мікроелементів	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	500 см <sup>3</sup>
K7.23	Об'єм розчину дикалію гідрофосфату з масовою часткою 17,5 %	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	1,0 л
K7.24	Об'єм розчину амонію хлориду з масовою часткою 25 %	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	500 см <sup>3</sup>
K7.25	Об'єм розчину амонію сульфату з масовою часткою 25 %	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	500 см <sup>3</sup>
K7.26	Оптична щільність культури клітин	Спектрофотометричний, методика 1 міжопераційного контролю	Кожне завантаження	29,0 – 31,0 ОО
K7.27	Проби бактеріальної маси Визначення наявності гібридного білка в бактеріальної маси	Метод ПААГ електрофо- резу, методика 2 міжопе- раційного контролю	Кожне завантаження перед індукцією синтезу рекомбінантного білка	Відсутність гібридного білка
K7.28	Об'єм розчину магнію сульфату в розчині кислоти лимонної	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	475 см <sup>3</sup>
K7.29	Об'єм розчину мікроелементів	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	475 см <sup>3</sup>
K7.30	Об'єм розчину дикалію гідрофосфату з масовою часткою 17,5 %	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	2,0 л
K7.31	Об'єм розчину амонію хлориду з масовою часткою 25 %	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	1,0 л
K7.32	Об'єм розчину амонію сульфату з масовою часткою 25 %	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	1,0 л
K7.33	Об'єм розчину тіаміну гідрохлориду з масовою концентрацією 20 г/л	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	50 см <sup>3</sup>
K7.34	Об'єм р-ну IPTG з масо- вою конц-цією 160 г/л	Об'ємний, мірний циліндр, стакан	Кожне завантаження	500 см <sup>3</sup>
K7.35	Тривалість індукції	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	6 год
K7.36	Холодильник Температура заморожування проб бактеріальної маси	Термометричний, термометр	Кожне завантаження	мінус 20 °С
K7.37	Проби бактеріальної маси Визначення молекулярної маси гібридного білка	Метод ПААГ електрофоре- зу, методика 2, міжопераційного контролю, розділ 3.1	Кожне завантаження, в кінці процесу індукції	Відповідність розрахунковій молекулярній масі
K7.38	Ферментер R1706 Час вирощування культури клітин	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	14 - 20 год

БЕ0101.МД.ПЗ

Арк.

85

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
<b>Стадія ТП8 Концентрування бактеріальної маси</b>				
K8.1	Центрифуга S1709 Швидкість подачі культуральної рідини	Об'ємний, регулятор швидкості подачі на центрифузі	Кожне завантаження	200 л/год
K8.2	Ферментер R1706 Значення pH культуральної рідини	Потенціометричний, датчик pH, перетворювач, контролер I1706, програмне забезпечен- ня, реєстрація на комп'ютері	Кожне завантаження	6,8 - 7,2
K8.3	Ферментер R1706 Концентрація розчиненого кисню у культуральної рідини	Потенціометричний: датчик вимірювання значень розчи- неного кисню, перетворювач, контролер I1706, програмне забезпечення	Кожне завантаження	30 - 70 %
K8.4	Технологічні ємності Загальна маса зконцент- рованої бактерійної маси	Ваговий, ваги A1701	Кожне завантаження	18-22 кг
<b>Стадія ТП9 Отримання тілець включення і їх розчинення</b>				
<b>Стадія ТП9.1 Дезінтеграція клітин та відмивання тілець включення</b>				
K9.1.1	Тиск в мережі стислого повітря	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	3,0 МПа
K9.1.2	Дезінтегратор S1710 Робочий тиск у середині камери руйнування	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	17000 psi
K9.1.3	Апарат B1712/1,2 Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	20 л
K9.1.4	Дезінтегратор S1710 Робочий тиск усередині камери руйнування	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	17000 psi
K9.1.5	Апарат B1712/1,2 Об'єм води очищеної	Мірний, витратомір	Кожне завантаження	до 75 л
K9.1.6	Температура охолоджен- ня суспензії зконцентро- ваної бактерійної маси	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	$10 \pm 5^{\circ}\text{C}$
K9.1.7	Об'єм 1 М розчину триметамолу з pH 8,0	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	750 см <sup>3</sup>
K9.1.8	Об'єм 0,75 М розчину трилону Б з pH 8,0	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	100 см <sup>3</sup>
K9.1.9	Дезінтегратор S1710 Робочий тиск усередині камери руйнування	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	17000 psi
K9.1.10	Швидкість потоку суспензії бактеріальної маси (клітинної суспензії)	Об'ємний, витратомір, регулятор швидкості подачі на дезінтегратор	Кожне завантаження	$3,0 \pm 0,5$ л/хв
K9.1.11	Апарат B1712/1,2 Об'єм суспензії зруйно- ваних бактеріальних клітин	Мірний, апарат B1712/1,2	Кожне завантаження	$75 \pm 2$ л
K9.1.12	Температура суспензії бактеріальних клітин в процесі руйнування	Термометричний, термометр	Кожне завантаження	$10 \pm 5^{\circ}\text{C}$
<b>Стадія ТП9.2 Обробка нуклеазами</b>				

БЕ0101.МД.ПЗ

Арк.

86

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K9.2.1	Апарат В1712/1,2 Об'єм розчину неіонного детергенту Triton X-100	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	750 см <sup>3</sup>
K9.2.2	Час перемішування вмісту апарату	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	30 хв
K9.2.3	Швидкість подачі суспен- зії зруйнованих бактеріа- льних клітин на центри- фугу S1709	Об'ємний, регулятор швидкості подачі на центрифузі	Кожне завантаження	100 л/год
K9.2.4	Об'єм води очищеної	Мірний, витратомір	Кожне завантаження	до 75 л
K9.2.5	Об'єм 1 М розчину трометамолу з рН 8,0	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	750 см <sup>3</sup>
K9.2.6	Об'єм 0,75 М розчину трилону Б	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	100 см <sup>3</sup>
K9.2.7	Об'єм розчину неіонного детергенту Triton X-100	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	750 см <sup>3</sup>
K9.2.8	Час перемішування гомо- генату тілець включення	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	30 хв
K9.2.9	Швидкість подачі гомо- генату тілець включення на центрифугу S1709	Об'ємний, регулятор швидкості подачі на центрифузі	Кожне завантаження	100 л/год
K9.2.10	Об'єм води очищеної	Мірний, витратомір	Кожне завантаження	до 75 л
K9.2.11	Об'єм 1 М розчину трометамолу з рН 8,0	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	750 см <sup>3</sup>
K9.2.12	Об'єм 0,75 М розчину трилону Б	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	100 см <sup>3</sup>
K9.2.13	Об'єм розчину неіонного детергенту Triton X-100	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	750 см <sup>3</sup>
K9.2.14	Час перемішування гомо- генату тілець включення	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	30 хв
K9.2.15	Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	18 л
K9.2.16	Час перемішування сус- пензії тілець включення	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	30 хв
K9.2.17	Технологічний лабораторний посуд			
K9.2.18	Маса трометамолу	Ваговий, ваги А1702	Кожне завантаження	48,5 г
K9.2.18	Маса магнію хлориду гексагідрату	Ваговий, ваги А1702	Кожне завантаження	41,0 г
K9.2.19	Апарат В1712/1 Час перемішування сус- пензії тілець включення	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	10 - 15 хв
K9.2.20	Значення рН розчину	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	7,5 ± 0,1
K9.2.21	Температура суспензії тілець включення	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	22 – 25°C
K9.2.22	Технологічний лабораторний посуд Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	50 см <sup>3</sup>
K9.2.23	Технологічний лабораторний посуд Маса дезоксирибонукле- ази (ДНКазі)	Ваговий, ваги А1702	Кожне завантаження	36,3 мг
K9.2.24	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	50 см <sup>3</sup>
K9.2.25	Маса РНКазі	Ваговий, ваги А1702	Кожне завантаження	192,3 мг
K9.2.26	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	200 см <sup>3</sup>
K9.2.27	Маса лізоциму	Ваговий, ваги А1702	Кожне завантаження	192,3 мг

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K9.2.28	Апарат B1712/1 Час перемішування суспензії тілець включення	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	2 год
K9.2.29	Температура суспензії тілець включення	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	22 – 25°C
K9.2.30	Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	60 л
K9.2.31	Час перемішування суспензії тілець включення	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	5 - 10 хв
K9.2.32	Температура суспензії тілець включення	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	22 – 25°C
K9.2.33	Швидкість подачі гомогенату тілець включення на центрифугу S1709	Об'ємний, регулятор швидкості подачі на центрифугу	Кожне завантаження	100 л/год
K9.2.34	Градуйовані технологічні ємності Загальна маса осаду відмитих тілець включення	Ваговий, A1701	Кожне завантаження	3,5 - 6,5 кг
K9.2.35	Молекулярна маса гібридного білка	Метод ПААГ електрофору, методика 2, міжопераційного контролю	Кожне завантаження	Відповідність розрахунковій молекулярній масі
K9.2.36	Розрахунковий загальний вміст білка у тільцях включення	Метод Бредфорда, методика 3, міжопераційного контролю	Кожне завантаження	2,7 - 4,5 кг

**Стадія ТП10. Одержання рефолдованого гібридного білка****Стадія ТП10.1. Розчинення тілець включення і відновлення гібридного білка**

K10.1.1	Реактор R1111 Загальна маса осаду відмитих тілець включення	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	5 ± 0,5 кг
K10.1.2	Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	до 17,5 л
K10.1.3	Технологічна ємність Маса сечовини	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	15,6 кг
K10.1.4	Реактор R1111 Температура вмісту апарату	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	25 - 30°C
K10.1.5	Технологічний лабораторний посуд. Маса гліцина кристалічного	Ваговий, ваги A1117	Кожне завантаження	28 г
K10.1.6	Маса трилону Б	Ваговий, ваги A1117	Кожне завантаження	28 г
K10.1.7	Реактор R1111 Значення рН суспензії	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	10, 2 - 10,5
K10.1.8	Температура при розчиненні	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	25 - 30°C
K10.1.9	Час перемішування при розчиненні	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	3 - 4 год
K10.1.10	Значення рН розчину	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	8,5 - 8,6
K10.1.11	Об'єм β-меркапто-етанолу	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	370 см <sup>3</sup>
K10.1.12	Розрахунковий об'єм суспензії	Розрахунковий	Кожне завантаження	35 - 38 л
K10.1.13	Час перемішування р-ну відновленого гібридного білка	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	6 год
K10.1.14	Концентрація гібридного білка	Метод Бредфорда, розділ 3.1 міжопераційного контролю	Кожне завантаження	78 - 118 г/л

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						88
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		



## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
<b>Стадія ТП10.2. Рефолдинг відновленого гібридного білка.</b>				
K109.2.1	Реактор R1112 Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	до 1819 л
K10.2.2	Температура буферного розчину	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	$10 \pm 2^{\circ}\text{C}$
K10.2.3	Мірник B1109 Об'єм розчину відновленого гібридного білка	Об'ємний, мірний, градування на стінці мірника	Кожне завантаження	18,5 л
K10.2.4	Час перемішування р-ну рефолдованого гібридного білка	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	4 - 6 год
K10.2.5	Значення рН розчину рефолдованого гібридного білка	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	11,0 - 11,2
K10.2.6	Вміст рефолдованого гібридного білка в розчині	Метод ВЕРХ, мето-дика 4 міжоперацій-ного контролю	Кожне завантаження	не менше 250,0 г
K10.2.7	Розрахунковий вміст рефолдованого гібридного білка в розчині	Розрахунковий	Кожне завантаження	не менше 500,0 г
<b>Стадія ТП10.3 Осадження рефолдованого гібридного білка</b>				
K10.3.1	Реактор R1112 Об'єм розчину цинку хлориду з масовою часткою 10 %	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	4,095 л
K10.3.2	Значення рН розчину	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	$6,2 \pm 0,05$
K10.3.3	Температура р-ну рефолдованого гібридного білка	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	$4 - 12^{\circ}\text{C}$
K10.3.4	Час перемішування р-ну рефолдованого гібридного білка	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	2 год
K10.3.5	Сепаратор C1102 Вміст рефолдованого гібридного білка в маточному розчині	Метод ВЕРХ методики 5, розділ 3.1 міжопераційного контролю	Кожне завантаження	не більше 50 г
K10.3.6	Вміст гібридного білка в маточному розчині	Метод Бредфорда, або Біуретовий метод, розділ 3.1 міжопераційного контролю	Кожне завантаження	не більше 6 г
K10.3.7	Відтаровані технологічні ємності Загальна маса вологого аморфного осаду гібридного білка	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	не менше 12,0 кг
K10.3.8	Холодильник. Відтаровані технологічні ємності Час зберігання суспензії аморфного осаду рефолдованого гібридного білка	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	не більше 24 год
K10.3.9	Температура зберігання суспензії аморфного осаду рефолдованого гібридного білка	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	$4 - 8^{\circ}\text{C}$

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
<b>Стадія ТП11 Катіонообмінна хроматографічна очистка рефолдованого гібридного білка (ІОХ1).</b>				
<b>Стадія ТП11.1 Катіонообмінна хроматографічна очистка рефолдованого гібридного білка</b>				
K11.1.1	Колона K1101 Об'єм сорбенту	Об'ємний, мірний	Кожне переупакуван-ня колони сорбентом	60 л
K11.1.2	Тиск на колоні	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	≤ 0,9 bar
K11.1.3	Об'єм р-ну рефолдовано- го гібридного білка від 1 культивування	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	233 л
K11.1.4	Швидкість потоку	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину на насосі P1102	Кожне завантаження	1,5 – 1,6 л/хв
K11.1.5	Об'єм буферного розчину ІОХ1-А	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	120 л
K11.1.6	Швидкість потоку	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину на насосі P2704	Кожне завантаження	1,5 – 1,6 л/хв
K11.1.7	Об'єм буферного розчину ІОХ1-В	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	120 л
K11.1.8	Швидкість потоку	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину на насосі P2704	Кожне завантаження	1,5 – 1,6 л/хв
K11.1.9	Об'єм буферного розчину ІОХ1-С	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	170 л
K11.1.10	Швидкість потоку	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину на насосі P2704	Кожне завантаження	1,5 – 1,6 л/хв
K11.1.11	Кристалізатор R1107C Оптична густина в елюаті	Ультрафіолетовий проточ- ний детектор при довжині хвилі 276 нм	Кожне завантаження	≥ 0,5 ОО
K11.1.12	Загальний об'єм цільової фракції р-ну рефолдова- ного гібридного білка	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	100 - 120 л
K11.1.13	Концентрація білка. Вміст гібридного білка в розчині	Метод Бредфорда або Біуретовий метод, розділ 3.1 міжопераційного конт- ролю, розрахунковий	Кожне завантаження	не менше 2000 г
K11.1.14	Вміст рефолдованого гібридного білка	Метод ВЕРХ, розділ 3.1 міжопераційного контролю	Кожне завантаження	не менше 605 г
K11.1.15	Колона K1101 Об'єм р-ну натрію гідроксиду з молярною концентрацією 0,5 моль/л	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	180 л
K11.1.16	Швидкість потоку	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину на насосі P2704	Кожне завантаження	1,5 – 1,6 л/хв
K11.1.17	Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	300 л
K11.1.18	Значення рН промивної води на виході з колони	Потенціометричний, рН- метр	Кожне завантаження	≤ 10,0
K11.1.19	Швидкість потоку	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину на насосі P2704	Кожне завантаження	1,5 – 1,6 л/хв
K11.1.20	Об'єм буферного розчину ІОХ1-Д	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	180 л
K11.1.21	Швидкість потоку	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину на насосі P2704	Кожне завантаження	1,5 – 1,6 л/хв
			<b>БЕ0101.МД.ПЗ</b>	
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

Арк.

90

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K11.1.22	Об'єм буферного розчину IOX1-A	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	180 л
K11.1.23	Швидкість потоку	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину на насосі P2704	Кожне завантаження	1,5 – 1,6 л/хв
K11.1.24	Значення pH розчину на виході з колони K1101	Потенціометричний, pH-метр	Кожне завантаження	4,1 ± 0,1
K11.1.25	Значення електро-провідності розчину на виході з колони K1101	Кондуктометричний, кондуктометр	Кожне завантаження	≤0,5 mS/cm

**Стадія ТП11.2. Осадження рефолдованого гібридного білка в ізотопці**

K11.2.1	Реактор R1112	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	110 л
K11.2.2	Об'єм цільової фракції	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	550 л
K11.2.3	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	660 л
K11.2.4	Загальний об'єм р-ну	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	1,793 л
K11.2.5	Об'єм розчину цинку хлориду з масовою часткою 10 %			
K11.2.5	pH розчину рефолдованого гібридного білка	Потенціометричний, pH-метр	Кожне завантаження	6,8 - 7,0
K11.2.6	Температура суспензії рефолдованого гібридного білка	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	10 - 15°C
K11.2.7	Тривалість перемішування	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	30 хв
K11.2.8	Сепаратор C1102			
K11.2.8	Вміст рефолдованого гібридного білка в маточному розчині	Метод ВЕРХ мето-дики 5, розділ 3.1 міжопераційного контролю	Кожне завантаження	не більше 21 г
K11.2.9	Вміст гібридного білка в маточному розчині	Метод Бредфорда або Біуретовим методом, розділ 3.1 міжопераційного контролю	Кожне завантаження	не більше 70 г
K11.2.10	Технологічна ємність	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	не менше 10,0 кг
K11.2.10	Маса вологого осаду рефолдованого гібридного білка			
K11.2.1	Холодильник			
K11.2.1	Час зберігання суспензії осаду рефолдованого гібридного білка	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	не більше 24 год
K11.2.1	Температура зберігання суспензії осаду рефолдованого гібридного білка	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	4 - 8°C

**Стадія ТП12 Аніонообмінна хроматографічна очистка рефолдованого гібридного білка (IOX2)****Стадія ТП12.1. Аніонообмінна хроматографічна очистка рефолдованого гібридного білка (IOX2)**

K12.1.1	Колонна K1104	Об'єм сорбенту: Q Sepharose Fast Flow	Об'ємний, мірні ємності	Кожне переупакування колони сорбентом	55 л
---------	---------------	---------------------------------------	-------------------------	---------------------------------------	------

БЕ0101.МД.ПЗ

Арк.

91

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K12.1.2	Колона K1104.			
K12.1.3	Хроматограф Хр1104	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	$\leq 0,9$ bar
K12.1.4	Тиск на колоні	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	98 л
K12.1.5	Об'єм р-ну рефолдова-ного гібридного білка	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину	Кожне завантаження	1,0 - 1,2 л/хв
K12.1.6	Швидкість потоку	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	110 л
K12.1.7	Об'єм буферного розчину IOX2-E	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину	Кожне завантаження	1,0 - 1,2 л/хв
K12.1.8	Швидкість потоку	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	приблизно через 50 хв
K12.1.9	Початок збору елюату	Проточний ультрафіоле-товий детектор	Кожне завантаження	$\geq 0,5$ ОО
K12.1.10	Значення оптичної густини при закінченні збору елюату	Проточний ультрафіоле-товий детектор	Кожне завантаження	$\leq 1,0$ ОО
K12.1.11	Кристалізатор R1107B	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	190 - 210 л
K12.1.12	Об'єм цільової фракції	Метод ВЕРХ, мето-дика 5 міжопераційного контролю, розділ 3.1	Кожне завантаження	не менше 580 г
K12.1.13	Кристалізатор R1107B	Спектрофотометричний, ме-тодика 7 міжопераційного контролю, розрахунковий	Кожне завантаження	не менше 1050 г
K12.1.14	Вміст рефолдованого гібридного білка в розчині			
K12.1.15	Вміст гібридного білка в розчині			
K12.1.16	Колона K1104			
K12.1.17	Хроматограф Хр1104	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	275 л
K12.1.18	Об'єм розчину натрію гідроксиду з молярною концентрацією 1,0 моль/л	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину	Кожне завантаження	1,1 - 1,2 л/хв
K12.1.19	Швидкість потоку	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	275 л
K12.1.20	Об'єм води очищеної	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину	Кожне завантаження	1,1 - 1,2 л/хв
K12.1.21	Швидкість потоку	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	$\leq 10,0$
K12.1.22	Значення рН промивної води на виході з колони	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	165 л
K12.1.23	Об'єм буферного розчину IOX2-F	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину	Кожне завантаження	1,0 - 1,2 л/хв
K12.1.24	Швидкість потоку	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	220 л
K12.1.25	Об'єм буферного розчину IOX2-E	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину	Кожне завантаження	1,0 - 1,2 л/хв
K12.1.26	Швидкість потоку	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	8,1 + 0,1
K12.1.27	Значення рН розчину на виході з колони	Кондуктометричний, кондуктометр	Кожне завантаження	$\leq 4,0$ mS/cm
K12.1.28	Значення електропровідності розчину на виході з колони			
<b>Стадія ТП12.2 Осадження рефолдованого гібридного білка в ізоточці</b>				
K12.2.1	Кристалізатор R1107B	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	200 л
K12.2.2	Об'єм цільової фракції	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	1000 л
K12.2.3	Об'єм води очищеної	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	1200 л
K12.2.4	Реактор R1106			
K12.2.5	Загальний об'єм розчину			

БЕ0101.МД.ПЗ

Арк.

92

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K12.2.4	Кристалізатор R1107B Об'єм розчину цинку хлориду з масовою часткою 10%	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	854,1 см <sup>3</sup>
K12.2.5	pH розчину рефолдovanого гібридного білка	Потенціометричний, pH-метр	Кожне завантаження	6,8 - 7,0
K12.2.6	Температура суспензії рефолдованого гібридного білка	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	10 - 15°C
K12.2.7	Тривалість перемішування	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	30 хв
K12.2.8	Тривалість витримки без перемішування	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	120 хв
K12.2.9	Камерний сепаратор C1102 Вміст рефолдованого гібридного білка в маточному розчині	Метод ВЕРХ, методика 5, розділ 3.1 міжопераційного контролю	Кожне завантаження	не більше 18,2 г
K12.2.10	Вміст гібридного білка в маточному розчині	Спектрофотометричний метод, методика 7, розділ 3.1 міжопераційного контролю, розрахунковий	Кожне завантаження	не більше 37 г
K12.2.11	Технологічна ємність Маса вологого осаду рефолдованого гібридного білка	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	не менше 5,0 кг
K12.2.12	Холодильник Тривалість зберігання вологого осаду рефолдованого гібридного білка	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	не більше 72 год
K12.2.13	Температура зберігання вологого осаду рефолдованого гібридного білка	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	4 - 8°C

**Стадія ТП13 Ферментативний гідроліз гібридного білка. Кристалізація інсуліну людини „сирого”**

K13.1	Реактор R1116 Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	125 л
K13.2	Маса вологого осаду рефолдованого гібридного білка після осадження від 2х аніонообмінних хроматографічних очисток	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	не менше 10,0 кг
K13.3	Об'єм розчину кислоти хлористоводневої 6 М	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	0,567 л
K13.4	Час перемішування	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	30 - 40 хв
K13.5	Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	до 136 л
K13.6	Вміст рефолдованого гібридного білка в розчині	Метод ВЕРХ, методика 5, міжопераційного контролю	Кожне завантаження	не менше 400 г
K13.7	Вміст гібридного білка в розчині	Спектрофотометричний метод, методика 7 міжопераційного контролю, розрахунки	Кожне завантаження	не менше 800,0 г
K13.8	Концентрація цинку	Метод атомно-абсорбційної спектроскопії, методика 9 міжопераційного контролю	Кожне завантаження	0,285 - 0,623 г/л
K13.9	Технологічна ємність Маса трилону Б	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	282,6 г
K13.10	Маса трометамолу	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	824 г
K13.11	Реактор R1116 Час перемішування	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	10 - 20 хв

БЕ0101.МД.ПЗ

Арк.

93

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K13.12	Технологічна ємність Маса кальцію ацетату гідратованого	Ваговий, ваги А1117	Кожне завантаження	43,1 г
K13.13	Реактор R1116	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	10 - 20 хв
K13.14	Час перемішування Значення рН суспензії ре- фолдованого гібридного білка	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	8,1 ± 0,1
K13.15	Об'єм рефолдованого гібридного білка	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	до 137 л
K13.16	Температура при фермен- тативному гідролізі	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	10 - 12°C
K13.17	Кількість карбоксіпептидази В	Розрахунок	Кожне завантаження	184500 ОД
K13.18	Лабораторна техно- логічна ємність. Маса карбоксіпептидази В	Ваговий, ваги А1117	Кожне завантаження	1,025 г
K13.19	Технологічний лабора- торний посуд. Об'єм карбоксіпептидази В	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	108,5 см <sup>3</sup>
K13.20	Кількість трипсину	Розрахунковий	Кожне завантаження	13694 ОД
K13.21	Технологічна ємність Маса трипсину	Ваговий, ваги А1117	Кожне завантаження	0,342 г
K13.22	Реактор R1116	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	12 - 16 год
K13.23	Тривалість ферментатив- ного гідролізу	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	10 - 12°C
K13.24	Температура реакційної суміші	Метод ВЕРХ, методика 6	Кожне завантаження	≥ 3,0 мг/см <sup>3</sup>
K13.25	Концентрація інсуліну людини „сирого” у р-ні Вміст дез-Thr(B30)- інсуліну	Міжопераційного контролю Метод ВЕРХ, методика 6 Міжопераційного контролю	Кожне завантаження	Не більше 3,0 %
K13.26	Технологічна ємність Маса бензамідину гідрохлориду	Ваговий, ваги А1117	Кожне завантаження	34,2 г
K13.27	Маса трилону Б	Ваговий, ваги А1102	Кожне завантаження	153,4 г
K13.28	Реактор R1116	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	22 - 25°C
K13.29	Температура суспензії інсуліну людини Значення рН суспензії інсуліну людини „сирого”	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	8,5 – 8,6
<b>Стадія ТП14. Кристалізація інсуліну людини „сирого”</b>				
K14.30	Технологічна ємність Маса натрію хлориду	Ваговий, ваги А1102	Кожне завантаження	18,2 кг
K14.31	Реактор R1116	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	2 год
K14.32	Проміжок між заванта- женням наважок натрію хлориду	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	8,5 – 8,6
K14.33	Значення рН р-ну рефол- дованого гібридного білка	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	12 - 16 год
K14.34	Тривалість кристалізації інсуліну людини „сирого” Температура при криста- лізації інсуліну людини „сирого”	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	20 - 25°C

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
<b>Стадія ТП15. Сепарація суспензії інсуліну людини „сирого”</b>				
K15.35	Градуйована техно- логічна ємність. Об'єм 1,0 М розчину натрію хлориду	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	10 л
K15.36	Сепаратор С1101 Об'єм суспензії інсуліну людини „сирого” у центрифужних стаканах	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	500 см <sup>3</sup>
K15.37	Вміст інсуліну людини в маточному розчині	Метод ВЕРХ, методика 5, міжопераційного контролю	Кожне завантаження	не більше 13 г
K15.38	Градуйована технологіч- на ємність. Маса вологого осаду інсуліну людини „сирого”	Ваговий, ваги А1102	Кожне завантаження	не менше 2,5 кг
K15.39	Технологічна ємність Чистота інсуліну людини	Метод ВЕРХ методика 5 міжопераційного контролю,	Кожне завантаження	не менше 74 %
K15.40	Градуйована технологічна ємність Тривалість зберігання вологого осаду інсуліну людини „сирого”	Хронометричний, годинник	Кожне завантаження	не більше одного тижня
K15.41	Температура зберігання вологого осаду інсуліну людини „сирого”	Термометричний, термометр	Кожне завантаження	2 - 8°C
<b>Стадія ТП16 Іонообмінна хроматографічна очистка інсуліну людини „сирого” (ІОХ3)</b>				
K16.1	Колона К1102 Об'єм іонообмінного сор- бенту Тоуоperl SP-650S	Об'ємний, мірні ємності	Кожне переупакування колони сорбентом	40 л
K16.2	Тиск на колоні	Манометричний, манометр	Кожне завантаження	≤ 0,9 bar
K16.3	Реактор R1119 Об'єм розчину інсуліну людини „сирого”	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	55 л
K16.4	Колона К1102 Швидкість потоку р-ну інсуліну людини сирого	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину	Кожне завантаження	1,0-1,2 л/хв
K16.5	Об'єм буферного розчину ІОХ3-Г для промивки сорбенту	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	72 л
K16.6	Швидкість потоку	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину	Кожне завантаження	1,0-1,2 л/хв
K16.7	Об'єм буферного розчину ІОХ3-Г	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	144 л
K16.8	Об'єм буферного розчину ІОХ3-Н	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	144 л
K16.9	Швидкість потоку	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину	Кожне завантаження	1,0-1,2 л/хв
K16.10	Оптична густина	Проточний ультра- фіолетовий детектор	Кожне завантаження	≥ 1,0 ОО
K16.11	Відтаровані технологічні ємності	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	5 л
K16.12	Об'єм кожній фракції Вміст інсуліну людини	Метод ВЕРХ, методика 6 міжопераційного контролю	Кожне завантаження	≥ 80 %
K16.13	Вміст дез-Thr(B30)- інсуліну	Метод ВЕРХ, методика 6 міжопераційного контролю	Кожне завантаження	менше 1,0 %

БЕ0101.МД.ПЗ

Арк.

95

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K16.14 K16.15	Кристалізатор R1107A Об'єм цільової фракції Вміст інсуліну людини в розчині Вміст дезамідоінсуліну в розчині	Об'ємний, мірний Метод ВЕРХ, методика 6 міжопераційного контролю Метод ВЕРХ, методика 6 міжопераційного контролю	Кожне завантаження Кожне завантаження	30 - 50 л не менше 300 г
K16.16	Вміст супутніх домішок в розчині Вміст інсуліну людини з домішками в розчині	Метод ВЕРХ, методика 6 міжопераційного контролю Метод ВЕРХ, методика 6 міжопераційного контролю Спектрофотометричний, методика 8 міжопераційного контролю, розрахунковий	Кожне завантаження Кожне завантаження	$\leq 5,0 \%$ $\leq 10 \%$ не менше 350 г
K16.17	Колона K1102 Об'єм р-ну натрію гідроксиду з молярною концентрацією 0,5 моль/л	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	180 л
K16.18	Швидкість потоку	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину	Кожне завантаження	1,0-1,2 л/хв
K16.19	Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	180 л
K16.20	Швидкість потоку	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину	Кожне завантаження	1,0-1,2 л/хв
K16.21	Значення pH промивної води	Потенціометричний, pH-метр	Кожне завантаження	$\leq 10,0$
K16.22	Об'єм буферного розчину IOX3-I	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	72 л
K16.23	Швидкість потоку	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину	Кожне завантаження	1,0-1,2 л/хв
K16.24	Об'єм буферного розчину IOX3- G	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	108 л
K16.25	Швидкість потоку	Об'ємний, регулятор швидкості подачі розчину	Кожне завантаження	1,0-1,2 л/хв
K16.26	Значення pH розчину	Потенціометричний, pH-метр	Кожне завантаження	$\leq 4,2 \pm 0,1$
K16.27	Значення електропровідності розчину	Кондуктометричний метод, кондуктометр	Кожне завантаження	$\leq 1,0 \text{ mS/cm}$

**Стадія ТП17 Одержання інсуліну людини, порошку (нестерильної субстанції)****Стадія ТП17.1 Кристалізація та фільтрація кристалів інсуліну людини**

K17.1.1	Кристалізатор R1107A	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	40 л
K17.1.2	Об'єм води очищеної	Об'ємний, витратомір	Кожне завантаження	80 л
K17.1.3	Загальний об'єм розчину інсуліну людини	Об'ємний, мірний	Кожне завантаження	120 л
K17.1.4	Технологічна ємність Маса кислоти лимонної моногідрату	Ваговий, ваги A1102	Кожне завантаження	1200 г
K17.1.5	Об'єм розчину цинку хлориду з масовою часткою 10%	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	398 см <sup>3</sup>



## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K17.1.6	Кристалізатор R1107A Об'єм кристалізаційного розчину	Об'ємний	Кожне завантаження	121 л
K17.1.7	Температура кристалізаційного розчину	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	10-15 °С
K17.1.8	Значення рН кристалізаційної маси	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	7,5 - 8,5
K17.1.9	Значення рН кристалізаційної маси	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	6,5 - 6,6
K17.1.10	Тривалість перемішування кристалізаційної маси	Хронометричний, таймер	Кожне завантаження	2 год
K17.1.11	Значення рН кристалізаційної маси	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	6,2 - 6,3
K17.1.12	Тривалість перемішування кристалізаційної маси	Хронометричний, таймер	Кожне завантаження	2 год
K17.1.13	Контроль утворення кристалів інсуліну	Візуальний	Кожне завантаження	помутніння кристалізаційної маси
K17.1.14	Значення рН кристалізаційної маси	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	6,0 - 6,1
K17.1.15	Тривалість перемішування кристалізаційної маси	Хронометричний, таймер	Кожне завантаження	2 год
K17.1.16	Значення рН кристалізаційної маси	Потенціометричний, рН-метр	Кожне завантаження	5, 8 - 5,9
K17.1.17	Тривалість перемішування кристалізаційної маси	Хронометричний, таймер	Кожне завантаження	2 год
K17.1.18	Загальний час перемішування кристалізаційної маси	Хронометричний, таймер	Кожне завантаження	8 год
K17.1.19	Температура кристалізації	Термометричний, датчик температури	Кожне завантаження	15 - 20°С

**Стадія ТП17.2 Фільтрація кристалів інсуліну людини**

K17.2.20	Фільтр F1107 Об'єм р-ну натрію хлориду з масовою часткою 0,9%	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	2,0 л
K17.2.21	Об'єм розчину спирту етилового з об'ємною часткою 96 %	Об'ємний, мірний циліндр	Кожне завантаження	5,0 л
K17.2.22	Технологічна ємність Маса вологих кристалів інсуліну людини	Ваговий, ваги А1104	Кожне завантаження	не менше 650 г

**Стадія ТП17.3 Висушування кристалів інсуліну людини**

K17.3.1	Сублимаційна сушка Т1101. Температура заморожування	Комп'ютерна програма LPC-16	Кожна операція	мінус 30 °С
K17.3.2	Тиск у камері	Комп'ютерна програма LPC-16	Кожна операція	1,03 мбар
K17.3.3	Тривалість заморожування	Комп'ютерна програма LPC-16	Кожна операція	2 - 4 год
K17.3.4	Тривалість висушування	Комп'ютерна програма LPC-16	Кожна операція	6 - 12 год
K17.3.5	Температура закінчення сушки	Комп'ютерна програма LPC-16	Кожна операція	10°С
K17.3.6	Відтарована ємність з нержавіючої сталі або поліетилену. Маса інсуліну людини, порошку	Ваговий, ваги А1104 або А1102	Кожна операція	не менше 379,2 г

## Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5
K17.3. 7	Вакуум-сушильна шафа BC1101			
K17.3. 8	Температура сушки	Термометричний, датчик температури	Кожна операція	$\leq 25^{\circ}\text{C}$
K17.3. 9	Тиск	Манометричний, манометр	Кожна операція	мінус 0,9 bar
K17.3. 10	Тривалість висушування	Хронометричний, таймер	Кожна операція	20 - 24 год
K17.3. 10	Сублимаційна сушка T1101. Вакуум-сушильна шафа BC1101. Втрата в масі при висушуванні	Ваговий, ваги A1104	Кожна операція	не повинна перевищувати 10 %.

**Стадія ПМВ18 Гомогенізація, пакування та маркування інсуліну людини, порошку (нестерильної субстанції)**

K18.1	Відтарована ємність з нержавіючої сталі або поліетилену Маса інсуліну людини, порошку від 1 операції висушування Маса інсуліну людини, порошку від 3х операцій висушування	Ваговий, ваги A1102  Ваговий, ваги A1104	Кожна операція висушування  Кожна серія	не менше 379,2 г  не менше 1,1376 кг
K18.2	Ємність для гомогенізації з нержавіючої сталі/ поліетилену. Маса серії інсуліну людини, порошку до гомогенізації	Ваговий, ваги A1104	Кожна серія	не менше 1,13755 кг
K18.3	Змішувач R 1110. Ємність для гомогенізації з нержавіючої сталі/ поліетилену. Час гомогенізації серії інсуліну людини, порошку	Хронометричний, годинник	Кожна серія	не менше 60 хв
K18.4	Ємність для гомогенізації з нержавіючої сталі/ поліетилену. Відбір інсуліну людини, порошку на аналіз	Ваговий , ваги A1104	Кожна серія	8,55 г
K18.5	Ємність для гомогенізації з нержавіючої сталі/ поліетилену. Розрахункова маса серії інсуліну людини, порошку, яка складається з 3х операцій висушування	Розрахунковий, калькулятор	Кожна серія	не менше 1,129 кг
K18.6	Інсулін людини, порошок (нестерильна субстанція). Всі показники якості згідно АНД до реєстраційного посвідчення	Методи і засоби контролю згідно з АНД до реєстраційного посвідчення, затвердженого наказом МОЗ України	Кожна серія, ОКК	Повна відповідність показників якості вимогам АНД до реєстраційного посвідчення
K18.7	Морозилка X1102. Температура карантинного зберігання серії інсуліну людини, порошку	Термометричний, термометр	Кожна серія	-20°C
K18.8	Морозилка X1103. Температура зберігання серії інсуліну людини, порошку (нестерильної субстанції)	Термометричний, термометр	Кожна серія	-20°C

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						98
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

### 3.4 Матеріальний баланс

Основним джерелом вихідних даних є промисловий регламент виробництва інсуліну людини, порошку (нестерильної субстанції). Матеріальні розрахунки за стадіями біотехнологічного процесу виробництва порошку інсуліну людини (нестерильної субстанції) наведено у таблицях 2.2 - 2.15.

Таблиця 3.3 – Матеріальний баланс виробництва інсуліну людини

ДР5 Підготовка поживних середовищ					
ТП 6. Одержання біомаси культури рекомбінантного штаму <i>E. coli</i>					
ТП7. Виробничий біосинтез					
ТП8. Концентрування бактеріальної маси					
Завантажено			Одержано		
Компонент	кг	%	Компонент	кг	%
1	2	3	4	5	6
Ліофілізована культура <i>E.coli</i>					
Розчин кислоти хлористоводневої	0,81	0,1474	Бактеріальна маса	20	3,64
Розчин трилону Б	0,2604	0,0474	Відходи	529,4633	96,36
Розчин натрію гідроксиду	3,66	0,666			
Аміаку розчин концентрованого	7,256	1,3206			
Амонію сульфат	0,5	0,0909			
Амонію хлорид	0,85	0,1547			
Вода очищена	488,5	88,905			
Глюкози моногідрат	40,78	7,4218			
Диамонію гідрофосфат	0,78	0,1419			
Дикалію фосфат	1,48	0,2694			
Дріжджовий екстракт	1,18	0,2148			
Заліза (II) сульфату гептагідрат	0,02	0,0036			
IPTG	0,08	0,0146			
Кальцію хлориду дигідрат	0,004	0,0007			
Канаміцину сульфат	0,0113	0,0021			
Кислоти лимонної моногідрат	0,72	0,1310			
Магнію сульфату гептагідрат	0,2	0,0364			

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		99

1	2	3	4	5	6
Мангану (II) хлорид тетрагідрат	0,0005	0,00009 1			
Міді сульфату пентагідрат	0,002	0,0004			
Натрію молібдату	0,0002	0,00003 7			
Натрію тетраборату декагідрат	0,0005	0,00009 1			
Натрію хлорид	0,41	0,0746			
Пропінол Б 400	0,76	0,1383			
Робочий банк клітин	0,0019 24	0,0003			
Тіаміну гідрохлорид	0,002	0,0004			
Пептон	1,19	0,2166			
Цинку сульфату гептагідрат	0,0045	0,0008			
Всього:	549,46 33	100	Всього:	549,4633	100

## ТП9. Отримання тілець включення

Завантажено			Одержано		
Компонент	кг	%	Компонент	кг	%
Бактеріальна маса	20	5,4554	Осад відмитих тілець включення	5,0	1,36 4
Розчин трометамолу	3,118	0,8505	Відходи	361,6067 3	98,6 36
Розчин трилону Б	1,042	0,2842			
Розчину натрію гідроксиду	20,72	5,6518			
Розчин кислоти хлористоводневої	0,11	0,0300			
Вода очищена	313	85,378			
ДНКаз	0,0000 36	0,00000 98			
Лізоцим	0,002	0,0005			
Магнію хлориду гексагідрат	0,041	0,0112			
Неіонний детергент TritonX-100	8,525	2,3254			

1	2	3	4	5	6
РНКаза	0,0001 92	0,00005 24			
Трометамол	0,0485	0,0132			
Всього:	366,60 67	100	Всього:	366,6067	100

ТП10. Одержання відновленого гібридного білка

ТП10.1. Розчинення тілець включення і відновлення гібридного білка

Завантажено			Одержано		
Компонент	кг	%	Компонент	кг	%
Осад відмитих тілець включення	5,0	12,944	Розчин білка відновленого	38,629	100
Розчин натрію гідроксиду	0,033	0,0854			
Розчин кислоти хлористоводневої	0,027	0,0699			
Вода очищена	17,5	45,329			
β- меркаптоетанол	0,413	1,0691			
Сечовина	15,6	40,384			
Гліцин кристалічний	0,028	0,0725			
Трилон Б	0,028	0,0725			
Всього:	38,629	100	Всього:	38,629	100

ТП10.2 Рефолдинг відновленого гібридного білка

Завантажено			Одержано		
Компонент	кг	%	Компонент	кг	%
Розчин відновленого гібридного білка	38,629	1,0355	Розчин білка рефолдованого	3730,3	100
Розчин натрію гідроксиду	18,52	0,4965			
Води очищеної	3438	92,164			
Гліцину кристалічного	2,728	0,0731			
Гліцерину	229,07	6,1475			
Трилон Б	1,382	0,0370			
Цистину	1,746	0,0468			
Всього:	3730,3	100	Всього:	3730,3	100

1	2	3	4	5	6
ТП10.3 Осадження рефолдованого гібридного білка					
Завантажено			Одержано		
Компонент	кг	%	Компонент	кг	%
Розчин рефолдованого гібридного білка	3730,325	99,46	Осад гібридного білка	14,0	0,37
Розчину кислоти хлористоводневої	6,551	0,1747	Відходи	3736,573	99,63
Розчину цинку хлориду	13,697	0,3652			
Всього:	3750,573	100	Всього:	3750,573	100
ТП11. Катіонообмінна хроматографічна очистка					
Завантажено			Одержано		
Компонент	кг	%	Компонент	кг	%
Осад гібридного білка	14,0	0,8188	Розчин білка гібридного рефолдованого	154,55	9,04
Буферний розчин ІОХ1-А	394,1	23,046			
Буферний розчин ІОХ1-В	153,90	9,0008			
Буферний розчин ІОХ1-С	187,67	10,975	Відходи	1555,35	90,96
Буферний розчин ІОХ1-Д	215,27	12,589			
Розчин кислоти хлористоводневої	1,309	0,0767			
Розчин натрію гідроксиду	211,3	12,358			
Розчин натрію гідроксиду	0,732	0,0428			
Вода очищена	466	27,253			
Трилон Б	0,779	0,0456			
Сечовина	64,86	3,793			
Всього:	1709,9	100	Всього:	1709,9	100
ТП11.2. Осадження рефолдованого гібридного білка в ізоточці					
Завантажено			Одержано		
Компонент	кг	%	Компонент	кг	%
Розчин гібридного рефолдованого білка	154,55	18,025	Осад гібридного білка	14,8	1,73

1	2	3	4	5	6
Розчину натрію гідроксиду	0,732	0,0854	Відходи	842,61	98,27
Розчину цинку хлориду	2,126	0,2479			
Води очищеної	700	81,641			
Всього:	857,41	100	Всього:	857,41	100

ТП12.1 Аніонообмінна хроматографічна очистка рефолдованого гібридного білка

Завантажено			Одержано		
Компонент	кг	%	Компонент	кг	%
Осад гібридного білка	14,8	1,0334	Розчин білка рефолдованого	271,59	18,96
Буферний розчин ІОХ2-Е	421,43	29,426	Відходи	1160,585	81,04
Буферний розчин ІОХ2-Ф	201,86	14,095			
Розчину кислоти хлористоводневої	0,066	0,0046			
Розчину натрію гідроксиду	283,4	19,788			
Розчину натрію гідроксиду	0,756	0,0528			
Розчину натрію хлориду	5,48	0,3826			
Вода очищена	460	32,119			
Ізопропанол	43,568	3,0421			
Трилон Б	0,818	0,0571			
Всього:	1432,175	100	Всього:	1432,175	100

ТП12.2 Осадження рефолдованого гібридного білка в ізоточці

Завантажено			Одержано		
Компонент	кг	%	Компонент	кг	%
Розчин гібридного рефолдованого білка	271,59	31,768	Осад гібридного білка	12,4	1,45
Розчину кислоти хлористоводневої	1,529	0,1788	Відходи	842,507	98,55
Розчину цинку хлориду	1,788	0,2091			
Води очищеної	580	67,844			
Всього:	854,907	100	Всього:	854,907	100

					БЕ0101.МД.ПЗ		Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			103

1	2	3	4	5	6
ТП13. Ферментативний гідроліз гібридного білка					
ТП14. Кристалізація інсуліну людини „сирого”					
ТП15. Сепарація суспензії інсуліну людини „сирого”					
Завантажено			Одержано		
Компонент	кг	%	Компонент	кг	%
Осад гібридного білка	12,4	5,3666	Осад інсуліну людини „сирого”	3,35	1,449
Розчин кислоти хлористоводневої	0,405	0,1753	Відходи	227,708	98,55
Розчин натрію гідроксиду	0,049	0,0212			
Бензамідину гідрохлорид	0,02605	0,0113			
Вода очищена	93	40,249			
Кальцію ацетату гідратований	0,0475	0,0206			
Карбоксипептидаза В	0,00078	0,0008			
Натрію хлорид	29,5	12,767			
Трилону Б	0,888	0,3843			
Трипсин	0,00052	0,0002			
Трометамол	1,212	0,5245			
Всього:	231,058	100	Всього:	231,058	100
ТП16. Іонообмінна хроматографічна очистка інсуліну людини „сирого” (ІОХ3)					
Завантажено			Одержано		
Компонент	кг	%	Компонент	кг	%
Осад інсуліну людини „сирого”	3,35	0,2043	Розчин інсуліну (цільова фракція)	47,44	2,893
Розчин натрію гідроксиду	150,9	9,2007			
Буферний розчин ІОХ3-Г	703,73	42,908	Відходи	1592,6455	97,11
Буферний розчин ІОХ3-Н	237,02	16,647			
Розчин кислоти хлористоводневої	0,153	0,0093			
Вода очищена	533	32,498			



1	2	3	4	5	6
Кислота оцтова льодяна	0,158	0,0096			
Ізопропанол	11,775	0,7179			
Всього:	1640,085 5	100	Всього:	1640,08 55	100

ТП17.1. Кристалізація інсуліну людини

ТП17.2. Фільтрація кристалів інсуліну людини

Завантажено			Одержано		
Компонент	кг	%	Компонент	кг	%
Розчин інсуліну (цільова фракція)	47,44	28,927	Вологі кристали інсуліну людини	3,425	2,08 9
Розчин цинку хлориду	0,52	0,3171	Відходи	160,175	97,6 7
Розчин натрію гідроксиду	7,68	4,6829	Втрати	0,4	0,24 4
Розчин натрію хлориду	2,18	1,3293			
Розчин кислоти хлористоводневої	0,655	0,3999			
Вода очищена	100	60,975			
Кислоти лимонної моногідрат	1,5	0,9146			
Спирт етиловий	4,025	2,4543			
Всього:	164,00	100	Всього:	164,00	100

ТП17.3 Висушування кристалів інсуліну людини

Завантажено			Одержано		
Компонент	кг	%	Компонент	кг	%
Вологі кристали інсуліну людини	3,426	100	Інсулін людини, порошок (нестерильної субстанції)	1,863	54,3 8
			Втрати	1,563	45,6 2
Всього:	3,426	100	Всього:	3,426	100

1	2	3	4	5	6
ПМВ18. Гомогенізація, пакування та маркування інсуліну людини, порошку (нестерильної субстанції)					
Завантажено			Одержано		
Компонент	кг	%	Компонент	кг	%
Інсулін людини, порошку (нестерильної субстанції)	1,863	100	Інсулін людини, порошок (нестерильної субстанції) - готова продукція	1,847	99,14
			Втрати	0,016	0,86
Всього:	1,863	100	Всього:	1,863	100
Завантажено			Одержано		
Всього по стадіях	132156,595		Всього по стадіях	132156,595	

З 1 культивування вихід готового цільового продукту становить 1,847 кг. Для виконання завдання, що полягає в отриманні 100 кг/ місяць, треба провести 54 культивування. На 1 культивування культури клітин рекомбінантного штаму-продуценту *E.coli* використовується 1 пробірка з Робочого банку клітин (робочої посівної культури). На виробництво серії інсуліну людини, порошку (нестерильної субстанції) використовується 12 пробірок з Робочого банку клітин.

## 4. АВТОМАТИЗАЦІЯ СТАДІЇ ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУ РЕКОМБІНАНТНОГО ІНСУЛІНУ ЛЮДИНИ

### 4.1 Опис технологічного процесу, як процесу автоматизації

Сировина – поживне середовище, допоміжні розчини і посівна культура потрапляють до ферментера, де відбувається виробниче культивування *E.coli* і біосинтез інсуліну клітинами *E.coli*. Через індивідуальний повітряний фільтр до ферментера потрапляє очищене повітря. Параметри процесу наведені в таблиці Б.1.

Таблиця 4.1 – Параметри основного технологічного режиму

Назва параметру	Конт- роль	Регулю- вання	Сигналі- зація та захист	Дист. керуван ня
Значення рН у ферментері	+	+	+	+
Рівень суспензії у ферментері	+	+	+	+
Температура у ферментері $t = 37^{\circ}\text{C}$	+	+	+	+
Витрати повітря, які потрапляють до ферментера	+	+	—	—
Витрати середовища, які потрапляють до ферментера	+	+	—	—
Потужність приводів	—	—	—	+
Тиск у ферментері $P = 0,1\text{МПа}$	+	—	+	—

### 4.2 Основні рішення з автоматизації

#### 4.2.1 Системи контролю

Система автоматизації блоку включає первинні і вторинні перетворювачі. Засоби контролю за місцевим відліком параметрів та первинні перетворювачі параметрів з дистанційною передачею інформації встановлюються за місцем на технологічному обладнанні кожного блоку. Вторинні перетворювачі, апарати управління виконавчими механізмами розміщуються у місцевій шафі управління (МЩУ) кожного блоку. Всі МЩУ технологічних блоків підключені до загальної

					БЕ0101.МД.ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Коробка К. А.			АВТОМАТИЗАЦІЯ СТАДІЇ ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУ РЕКОМБІНАНТНОГО ІНСУЛІНУ ЛЮДИНИ	Стадія	Арк.	Аркушів
Конс.							107	181
Керів.		Зудченко Л. С.				КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ		
Затверд.								

шини даних промислової мережі, яка за допомогою цифрового інтерфейсу передачі даних RS-485 за протоколом передачі даних здійснює передачу технологічної інформації на автоматизоване робоче місце (АРМ) оператора. Функцію АРМ виконує персональний комп'ютер, на якому встановлено програмне забезпечення SCADA-системи, яка є верхнім рівнем автоматизованої системи управління технологічними процесами (АСУ ТП клас 2) цеху. Вона здійснює контроль та реєстрацію технологічних параметрів, їх збирання та обробку, а також управління технологічними процесами, їх візуалізацію та сигналізацію за аварійними параметрами. Для контролю процесів, які відбуваються використовуємо такі технічні засоби, як:

- Вимірювач ПІД - регулятор (пропорційно-інтегрально-диференціальний регулятор)
- Вимірювач двоканальний
- Двоканальний блок живлення
- Модульний перетворювач
- Термoeлектричний перетворювач (L 200)
- Термoeлектричний перетворювач (L 10)
- Моновакууметр
- Манометр
- Перетворювач витрати вихровий
- Цифровий датчик рН
- Мікрохвильовий бар'єр
- Мембранний виконавчий механізм на сильфонний клапан, що регулює.

#### 4.2.2 Автоматичне регулювання

Функціональна схема автоматизації лінії виробництва глютамінової кислоти включає в себе автоматичне керування значень – рН, витрат та температури [3, 4]. Для регулювання та керування процесом, який виконується в ферментері 1 використовуємо такі технічні засоби, як:

Коли рівень піни у ферментері набуває достатнього, реагують позиції 106

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		108

рівнеміри ультразвукові з електромеханічним перетворювачем, в яких сигнал перетворюється, реєструється, архівується спрацьовує захист і сигнал звітти йде на регулюючі прилади поз. 10г, 10в.

Позиції 5б – цифровий датчик рН. З якого сигнал надходить до показувального і реєструвального приладу (поз. 5г,5в).

Позиції 6б, 9б – термоелектричні перетворювачі, з яких сигнал надходить до вторинного-показуючих і реєструючих приладів (поз. 6г і 9г відповідно). Далі перетворений у пневматичний сигнал йде до пневматичної панелі керування.

#### 4.2.3 Технологічна сигналізація та захист

Технологічна сигналізація у процесі виробництва рекомбінантного інсуліну людини встановлена на контроль параметрів: концентрація та рівень суспензії в ферментері 1, температура в ферментері 1, рівень суспензії в збірниках 3 та 5. Сигналізація спрацьовує при досягненні максимального чи мінімального значення контрольованого параметра (температура в ферментері 1). Замкнеться контакт в приладі і утворюється замкнутий ланцюг живлення для електромагніту. Реле спрацьовує, внаслідок чого перемикаються його контакти. Контакт (нормально замкнений) розмикається і гасне лампочка, а контакт (нормально розімкнутий) замикається і загорається лампочка. Після того, як температура унормується, контакт в приладі розмикається, ланцюг живлення електромагніту розривається. Реле спрацьовує і контакти перемикаються назад. Припиняє світитися лампочка. На схемі не показано сигналізації. Всі ланцюги сигналізації побудовані за типовим варіантом. Захист або ж блокування може спрацьовувати в декількох випадках:

1. Відсутність тиску в трубопроводі на виході насосів.
2. Концентрація сировини, яка потрапляє до ферментера 1 недостатня.
3. Рівень перевищує норму.
4. Температура перевищує допустиму норму.

Захист спрацьовує, коли замикається контакт приладу при малому тиску в трубопроводі після насоса. Внаслідок замикається контакт реле 1 загорається сигнальна лампочка, далі замикається контакт реле 2 і загорається лампочка, які означають, що впав тиск і спрацювало реле 1 і 2. В схемі включення-виключення

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						109
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

електромоторів розмикаються контакти реле 2, а контакти реле 1 відключають регулятори від клапанів. Перемикаючись, контакти реле 1 відключають регулятор від клапана і підключають його до опору навантаження для того щоб не збилися настройки, і регулятор буде формувати сигнал розузгодження далі. А клапани нормально закриті – закриваються.

#### 4.2.4 Дистанційне керування виконавчими механізмами

При роботі відцентрових насосів дуже часто між корпусом насоса і крильчаткою потрапляють тверді частинки. У результаті цього крильчатка зупиняється і зупиняється електродвигун, який може вийти з ладу. У цьому випадку (у випадку аварії) повинен спрацювати механічний захист: шпонка між крильчаткою і валом зрізається. При цьому починає наростати число обертів електродвигуна, так як відсутній протидіючий момент навантаження. Тому повинен спрацювати електричний захист [6]. Аналогічна ситуація може статися і з двигуном перемішуючого пристрою. Різкий перепад напруг або ж потрапляння на вал (мотор) чужорідних деталей може призвести до виходу з ладу двигуна. Електричний аварійний захист передбачає автоматичне відключення живлення електродвигуна при виході насоса з ладу.

#### 4.3. Специфікація обладнання

Перелік обладнання наведено в таблиці Б.3.5.

Таблиця 4.3.– Перелік обладнання

Позиція на схемі	Назва параметра	Середовище, місце відбору інформації	Граничне значення параметра	Місце монтажу	Назва та характеристика	Кількість
1	2	3	4	5	6	7
1г, 5г, 6г, 10г	-	Вимірювальні пристрої	-	Щит	Вимірювач ПІД-регулятор	4
9г	Температура	Трубопроводи		Щит	Вимірювач двоканальний	1
1в, 5в, 10в	-	-		Щит	Двоканальний блок живлення	3
5а	рН	Ферментер, трубопро-води	-	Щит	Модульний перетворювач	1
6б	Температура	Ферментер	-	Місцевий	Термоелектричний перетворювач (L200)	1

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		110

1	2	3	4	5	6	7
9б	Температу-ра	Ферментер, трубопро-води	-	Місцевий	Термоелектричний перетворювач (L10)	1
8б	Тиск	Трубопро-води	-	Місцевий	Моновакууметр	1
26,5б, 7б	Тиск	Ферментер, трубопро-води	-	Місцевий	Манометр	2
1б	Витрати повітря	Регулюючі клапани	-	Місцевий	Перетворювач витрати вихровий	1
5б	pH	Ферментер	-	Місцевий	Цифровий датчик pH	1
10б	Рівень піни	Ферментер	-	Місцевий	Мікрохвильовий бар'єр	1
Y1, Y2, Y3, Y4	Регулюван-ня витрат	Регулюючі клапани	-	Місцевий	Мембранний виконавчий механізм на сильфонний регулюючий клапан	4

## Висновки

У даному розділі наведено варіанти рішення щодо автоматизації елементів технологічного обладнання, а саме, ферментера та сушарки, що використовуються для виробництва інсуліну людини. Наведено опис технологічного процесу, розроблено функціональну схему автоматизації (технологічний контроль, захист і автоматизація та автоматичне регулювання) та опис приладів, що при цьому використовуються. Впровадження розробленої системи автоматизованого керування дозволить: використовувати для управління інформацію, яка по об'єму значно перевищує знання окремого оператора, підвищити продуктивність обладнання за рахунок виключення операцій ручного керування, зменшити кількість помилок оперативного персоналу і аварій по причині неуважності персоналу.

## 5. ПІДБІР ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

### 5.1. Обґрунтування вибраної конструкції. Підбір конструкційних матеріалів для окремих елементів апарату

Основними вимогами до ферментера є забезпечення в культуральній рідині заданої концентрації розчиненого кисню, відведення вуглекислого газу, створення однорідної концентрації компонентів культуральної рідини. Вихідними даними для вибору ферментера є вимоги технології біосинтезу цільового продукту [46].

До біореакторів для культивування рекомбінантних культур, зокрема *E. coli* BL21/PIK8-proins, що використовується в технології, яка описана в даному проекті, висуваються спеціальні вимоги. При використанні генетично модифікованих мікроорганізмів на перший план висуваються такі показники, як стабільність модифікацій біологічних агентів, підвищені вимоги до асептики і т. п [46, 47].

При біосинтезі в фармацевтичній промисловості використовуються ферментери періодичної дії. Асептичність процесу забезпечується шляхом стерилізації ферментера, трубопроводів і датчиків КВП; подачі стерильного ПС і чистої посівної культури, стерильного повітря для аерації культури і стерильного піногасника; установки датчиків для контролю і регулювання параметрів процесу; підтримки стерильного повітряного або парового захисту потовщення вала перемішуючого пристрою, технологічних трубопроводів і арматури протягом усього процесу культивування.

За способом введення енергії та організації перемішування і аерації ферментери поділяють на апарати з підведенням енергії до газової фази, до рідкої фази і комбіновані [48]. До апаратів з комбінованим підведенням енергії відносяться барботажні ферментери з механічними перемішувачами. Дані ферментери застосовуються в фармацевтичній та мікробіологічній

					БЕ0101.МД.ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Коровка К. А.			ПІДБІР ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ	Стадія	Арк.	Аркушів
Конс.							112	181
Керів.		Зудченко Л. С.				КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ		
Затверд.								



промисловості. Вони використовуються для роботи в асептичних умовах, розраховані на тиск до 3 МПа, мають коефіцієнт заповнення 0,5-0,7. Так як даний апарат задовольняє умови біосинтезу гібридного білка з подальшим отриманням інсуліну, в технології, описаній в дипломному проєкті, використовується апарат такого типу [46].

При використанні перемішування для інтенсифікації хімічних, теплових і дифузійних процесів в гетерогенних системах створюються кращі умови для підведення, речовини в зону реакції, до межі розділу фаз або до поверхні теплообміну. Збільшення ступеня турбулентності системи, що досягається при перемішуванні, призводить до зменшення товщини пристінкового шару, збільшення і безперервного оновлення поверхні взаємодіючих фаз. Це викликає значне прискорення процесів тепло- і масообміну. Найбільшого поширення в біотехнологічній та хімічній промисловості отримало перемішування з введенням в середовище механічної енергії із зовнішнього джерела. Механічні перемішуючі пристрої складаються з власне мішалки, валу і приводу. Мішалка є робочим елементом пристрою, що закріплюється на валу. Привід може бути здійснений або безпосередньо від електродвигуна (для швидкохідних мішалок), або через редуктор чи клиноремінну передачу [56].

Вибір типу перемішуючого пристрою залежить від в'язкості середовища. Для середовищ з низькою в'язкістю, доцільно використовувати турбінну мішалку. Дані мішалки мають форму коліс водяних турбін з плоскими, похилими або криволінійними лопатями, закріпленими на вертикальному валу. В апаратах з турбінними мішалками створюються переважно радіальні потоки рідини. Закриті турбінні мішалки на відміну від відкритих створюють більш радіальний потік. Турбінні мішалки забезпечують інтенсивне перемішування у всьому об'ємі апарата. Потужність, що споживається турбінними мішалками, які працюють в апаратах з відбивними перегородками, при турбулентному режимі перемішування практично не залежить від в'язкості середовища, тому мішалки цього типу можуть застосовуватися для сумішей, в'язкість яких під час перемішування змінюється [49].

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						113
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Для здійснення стадії виробничого культивування *E.coli* з метою отримання рекомбінантного інсуліну людини в магістерській дисертації обираємо ферментер для глибинного культивування з комбінованим підведенням енергії — з механічним перемішуючим пристроєм, а саме турбінною мішалкою, та барботером. Ферментер працюватиме в періодичному режимі.

Конструктивно апарат має циліндричний корпус з еліптичним днищем, в верхній частині розташований люк, оглядові вікна, штуцери підведення поживного середовища та посівного матеріалу, аератор, вихід відпрацьованого повітря та пробовідбірник.

Апарат забезпечений гладкою приварною сорочкою для теплоносія. Середовище в ферментері є неагресивним та невибухонебезпечним, температура культивування становить 36-37°C, рН 6,7-7,1. Дезінфекція здійснюється розчином каустичної соди, стерилізація – насиченою водяною парою.

Вид перемішуючого пристрою, що використовується – відкрита турбінна мішалка. Приводом мішалки слугує вал, який безпосередньо з'єднаний з валом мішалки. Для введення газів використовується барботер, який встановлюється у днищі під мішалкою і являю собою вигнуту трубу. Отвори барботера невеликі, близько 5 мм, щоб уникнути забивки і застою рідини. Герметизація здійснюється за допомогою торцевих ущільнень. [57]

Обраний ферментер має наступні характеристики:

- асептичний реактор для біотехнологічного виробництва;
- реактор розроблений з можливістю проведення стерилізації на місці (SIP);
- у конструкції реактора застосовуються діафрагмові (мембранні) клапани на лініях контакту з продуктом;
- реактор оснащений датчиком температури, датчиком тиску, датчиком рівня, датчиком Рн;
- конструкція реактора передбачає можливість підключення та мийки за допомогою мобільного SIP-станції;
- реактор повністю автоматизований, відповідає всім вимогам GMP;

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						114
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

- система автоматизації дозволяє в автоматичному режимі здійснювати
- стерилізацію апарату, мийку на місці (CIP) та інші функції;
- система контролю технологічних параметрів побудована на базі промислових систем автоматизації для забезпечення необхідної стабільності, гнучкості і ремонтпридатності. Блок управління містить такі

компоненти: електричні компоненти, промисловий комп'ютер PLC, сенсорний монітор, промисловий комп'ютер для управління процесом включаючи програмне забезпечення для управління процесом.

Порти на ємності:

- верх: порт для мембранного манометра, порт для мембранного передатчика тиску, розривна мембрана, випуск і конденсор відпрацьованих газів, інокуляція, смотрове вікно, порт для датчика піни, форсунка для CIP, запасний порт;

- верхні бокові стінки: подача повітря, оглядове вікно, подача культуральної рідини x 3, кільцевий барботер, запасний порт;

- нижні бокові стінки: порт для резисторного датчика температури PT100, порт для датчика Ph, порт для датчика розчиненого кисню, запасний порт, порт для пробо відбору;

- рубашка: подача пари / вихід охолодженої води, вихід пари / подача охолодженої води (включаючи запобіжний клапан і манометр);

- низ: дренажний клапан.

Механізм перемішування: верхній привід з одинарним торцевим ущільненням, двигун постійного струму, швидкість 20-500 об./хв. (управління інвертором), регулюємі трьох рівневі мішалки з нахиленими лопастями, 3 приварені перегородки.

Механізм аерації: автоматична подача повітря 2,5 VVM, вискоефективний фільтр 0,2 мкм і корпус фільтра з нержавіючої сталі марки 316L, витратомір повітря.

Механізм тиску: розривний диск, манометр, опозиціонер, датчик тиску, клапан контролю тиску.

Механізм піногасіння: датчик піногасіння, кабель для датчика піногасіння, перистальтичний насос (фіксовано 40 об./мин.) x 1, бутиль 5 л x 1.

Механізм контролю температури: датчик температури, теплообмінник, насос.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						115
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Обв'язка: подача повітря, подача технологічної пари, подача чистої пари, подача охолоджуючої води, повернення охолоджуючої води, злив 18еремішу вальн води, злив відпрацьованих рідин, вивід відпрацьованого газу.

Прилади: мембранний клапан, прямоточний клапан, конденсатовідвідник, мембранний манометр, шаровий клапан і пневматичний кутовий клапан, зворотній клапан, запобіжний клапан, колінчата труба, трійник.

Зварка труб: орбітальна зварка (лінія в контакті з продуктом), ручна зварка (загальна лінія).

У виробництві використовують стандартне обладнання, яке підлягає перевірці з метою визначення його придатності в технологічному процесі і в конкретних умовах. До основних елементів біотехнологічних апаратів, які підлягають механічним розрахункам, належать корпуси, днище, укріплення стінок в зоні отвору, трубні решітки, фланцеві з'єднання, опори апаратів, 18еремішу вальні пристрої та приводи до них тощо.

## 5.2. Технологічний, конструктивний, гідравлічний розрахунки

### 5.2.1. Конструктивний розрахунок ферментера

Технічна характеристика ферментера з механічним перемішуванням барботажного типу. Апарат призначено для виробничого культивування в процесі виробництва рекомбінантного інсуліну людини.

Ферментер має наступні характеристики: співвідношення довжини до діаметру – 3/1, загальний об'єм – 0,16 м<sup>3</sup>, робочий об'єм – 0,1 м<sup>3</sup>. Матеріал виготовлення: нержавіюча сталь марки 316L (для частин, що контактують з продуктом), нержавіюча сталь марки 304L (для частин, що не контактують з продуктом). Розрахунковий тиск – 3,0 кг/см<sup>3</sup> (ємність), 4,0 кг/см<sup>3</sup> (рубашка). Розрахункова температура – 143°C (ємність), 151°C (рубашка). Обробка поверхонь: внутрішнє полірування  $\mu\text{m}+$  електрополірування, зовнішнє полірування 1,2 мкм.

Конструктивний розрахунок має на меті визначення розмірів ферментера і його основних конструктивних елементів (мішалки, барботера, сорочки).

Об'єм виробництва препарату на серію готової продукції –  $2,544 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3$ .

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						116
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Дана кількість препарату відповідає  $0,0941 \text{ м}^3$  культуральної рідини.

Враховуючи втрати КР 5,09%, робочий об'єм ферментера  $V_p = 0,1 \text{ м}^3$ .

Час культивування  $\tau_p = 15 \text{ год} = 54000 \text{ с}$ .

Продуктивність ферментера:

$$Q = V_p / \tau_p = 0,1 / 54000 = 1,852 \cdot 10^{-6} \text{ м}^3/\text{с}. \quad (5.1)$$

Розрахунок проводиться за методикою [57]. Конструктивний розрахунок виконують, виходячи з робочого об'єму ферментера.

У виробництві, яке проектується, коефіцієнт заповнення  $K_3 = 0,67$ , робочий об'єм  $V_p = 0,1 \text{ м}^3$ .

$$V_H = V_p / K_3 = 0,1 / 0,67 = 0,15 \text{ м}^3. \quad (5.2)$$

Номінальний об'єм ферментера  $V_H = 0,15 \text{ м}^3$ . Це не стандартний розмір, тому необхідно округлити його до найближчого стандартного –  $0,16 \text{ м}^3$  [50].

Згідно з таблицею стандартних розмірів, визначаємо діаметр апарату:

$$D = 600 \text{ мм}.$$

Висота апарату разом з еліптичними днищем та кришкою  $L = 670 \text{ мм}$ , висота циліндричної частини апарату (без днища і кришки, приблизно дорівнює висоті сорочки)  $l = 370 \text{ мм}$  [51].

$$D_v = 600 \text{ мм}, h_1 = 25 \text{ мм}, h_v = 150 \text{ мм}, s = 10 \text{ мм} [53].$$

Висота рівня рідини в апараті:  $H_p = 0,4 \text{ м}$  [50].

Площа поверхні теплообміну сорочки:  $F_T = 0,9 \text{ м}^2$

Розміри мішалок знаходимо зі співвідношень:  $D / d_M = 3/4$ .

Обираємо стандартну відкриту турбінну мішалку діаметром  $d_M = 200 \text{ мм}$

$$\text{Співвідношення: } D / d_M = 600 / 200 = 3 \quad (5.3)$$

Відстань від дна реактора до мішалки

$$h_1 = 0,4 \cdot d_M = 0,4 \cdot 0,2 = 0,08 \text{ м} \quad (5.4)$$

$$\text{Приймаємо } h_M = 0,2 \cdot d_M = 0,2 \cdot 0,08 = 16 \text{ мм} \quad (5.5)$$

Довжина лопатей:

$$l = 0,25 d_M = 0,25 \cdot 200 = 50 \text{ мм} \quad (5.6)$$

$$b = 0,1 d_M = 0,1 \cdot 200 = 20 \text{ мм} \quad (5.7)$$

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						117
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Знаходимо решту конструктивних розмірів днища апарату ГОСТ 6533-78 [59]:

- відбортівка  $h_1 = 40$  мм;
- внутрішня поверхня  $F_{\text{дн}} = 0,47 \text{ м}^2$  ;
- об'єм  $V_{\text{дн}} = 39,5 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3$  ;
- висота днища  $h_{\text{дн}} = 150$  мм.

Знаходимо висоту циліндричної частини апарату:

$$H_{\text{ц}} = (V_{\text{н}} - V_{\text{дн}}) / 0,785 \cdot D^2 = (0,16 - 2 \cdot 39,5 \cdot 10^{-3}) / 0,785 \cdot 0,6^2 = 0,286 \text{ м} \quad (5.8)$$

Знаходимо висоту рідини в апараті:

$$H_{\text{р}} = 4(V_{\text{р}} - V_{\text{дн}}) / \pi D + h_1 + h_{\text{в}} = 4(0,1 - 39,5 \cdot 10^{-3}) / 3,14 \cdot 0,6 + 0,15 + 0,04 = 0,318 \text{ м} \quad (5.9)$$

Відстань від дна до верхньої точки мішалки:

$$h_{\text{з}} = h_1 + h_{\text{м}} = 0,04 + 0,016 = 0,056 \text{ м.} \quad (5.10)$$

### 5.2.2. Розрахунок перемішуючих пристроїв

Розрахунок проводиться за методикою [57].

Визначаємо критерій Рейнольдса:

$$\text{Re} = n d_{\text{м}}^2 / \nu_{\text{с}} = 3 \cdot 0,2^2 / 8,9 \cdot 10^{-7} = 1,3 \cdot 10^5, \quad (5.11)$$

$$\text{де } \nu_{\text{с}} = \mu_{\text{с}} / \rho_{\text{с}} = 0,9 \cdot 10^{-3} / 1010 = 8,9 \cdot 10^{-7} \text{ м}^2/\text{с} - \quad (5.12)$$

$\nu_{\text{с}}$  – коефіцієнт кінематичної в'язкості середовища;

$\mu_{\text{с}} = 0,9 \cdot 10^{-3} \text{ Па} \cdot \text{с}$  – в'язкість середовища::

$\rho_{\text{с}} = 1010 \text{ кг/м}^3$  – густина середовища:

Для турбінної мішалки за графіком знаходимо  $K_N = 6$ .

Тоді, потужність, що витрачається на перемішування:

$$N = K_N \cdot \rho_{\text{р}} \cdot n^3 \cdot d_{\text{м}}^5 = 6 \cdot 1150 \cdot 27 \cdot 0,00032 = 60 \text{ Вт} \quad (5.13)$$

Для ущільнення валу мішалки обираємо торцьове ущільнення.

Потужність, що витрачається на тертя в ущільненні:

$$N_{\text{ущ}} = 6020 \cdot d_{\text{в}}^{1,3} = 6020 \cdot 0,02^{1,3} = 37,2 \text{ Вт} \quad (5.14)$$

Діаметр валу мішалки становить:

$$d_{\text{с}} = C \cdot d_{\text{м}} = 0,117 \cdot 0,2 = 0,02 \text{ м,} \quad (5.15)$$

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		118

Для визначення потужності двигуна визначаємо коефіцієнти  $K_1$ ,  $K_H$ ,  $K_n$ .

Оскільки в ферментері встановлені гільзи для термопари, то  $K_1 = 1,1$ .

Коефіцієнт рівня рідини:

$$K_H = \sqrt{(H_p / D)} = \sqrt{(0,318 / 0,6)} = 0,728 \quad (5.16)$$

Коефіцієнт, що враховує наявність перегородок:  $K_n = 1$ .

Потужність електродвигуна:

$$N_{el} = (K_n K_N \cdot \sum K_I \cdot N_p \cdot N_{yц}) / \eta = (1 \cdot 0,728 \cdot 1,1 \cdot 60 \cdot 37,2) / 0,85 = 2102 \text{ Вт} \quad (5.17)$$

Обираємо двигун з номінальною потужністю  $N_H = 3$  кВт. Маркування АИР 100S4.

### 5.2.3. Розрахунок воронки

Параметр висоти завантаження апарата ферментера:

$$\gamma = 8 (H_p / D) + 1 = 8 (0,318 / 0,61) + 1 = 5,24 \quad (5.18)$$

Параметр гідравлічного опору мішалки:

$$E = \gamma / (\xi_m \cdot z_M \cdot R_{eq}^{0,25}) = 5,24 / (8,4 \cdot 1 \cdot (1,3 \cdot 10^5)^{0,25}) = 0,033 \quad (5.18)$$

За графіком знаходимо  $\psi_1 = 1,2$  та  $B = 6$ .

Глибина воронки:

$$h_B = (B \cdot n^2 \cdot d_M^2) / 2 = (6 \cdot 3^2 \cdot 0,2^2) / 2 = 1,08 \text{ м} \quad (5.19)$$

Гранично допустима глибина воронки:

$$h_{zp} = H_p - h = 0,318 - 0,08 = 0,238 \text{ м} \quad (5.20)$$

Оскільки  $h_B = 1,08 > h_{zp} = 0,238$  – в апараті потрібно встановлювати відбивні перегородки.

### 5.2.4. Розрахунок барботера

Розрахунок проводиться за методикою [62]

Апарат діаметром 600 мм, висота рівня рідини 0,318 м, діаметр мішалки 200 мм.

Прийmemo приведену швидкість кисню в апараті  $\omega_p = 0,04$  м/с, отримаємо його витрату:

$$V_p = (3,14 / 0,16) \cdot 0,6^2 \cdot 0,04 = 0,028 \text{ м}^3/\text{с} \quad (5.21)$$

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						119
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Діаметр труби барботера при швидкості газу в ній  $\omega_6=25$  м/с буде:

$$d_6 = \sqrt[3]{(4V_p / \pi \omega_6)} = \sqrt[3]{(0,028 / (0,785 \cdot 25))} = 0,037 \text{ м} \quad (5.22)$$

Середній діаметр барботеру:

$$D_{cp} = 1,75d_m = 1,75 \cdot 200 = 350 \text{ мм} \quad (5.23)$$

Густина повітря при температурі  $t = 35^\circ\text{C}$  і абсолютному тиску, який дорівнює:

$$\rho = 0,1 + p_{\text{наб}} + H_{\text{ж}} \rho_{\text{ж}} g \cdot 10^{-6} = 0,1 + 0,05 + 1 \cdot 1000 \cdot 9,81 \cdot 10^{-6} = 0,161 \text{ МПа}, \quad (5.24)$$

$$\text{буде } p_r = \rho p T / (\rho T) = 1,29 \cdot (0,161 \cdot 273) / (0,1 \cdot 308) = 1,84 \text{ кг/м}^3 \quad (5.25)$$

Швидкість газу в отворах барботеру:

$$\omega_0 = 3,4 \sqrt{(0,037 \cdot 1000)} / 1,84 = 4,4 \text{ м/с} \quad (5.26)$$

Прийmemo діаметр отворів в барботері  $d_0=5$  мм, тоді їх загальна кількість буде

$$z_0 = 4V_p / \pi d^2 \omega_0 = 0,028 / 0,785 \cdot 0,005^2 \cdot 4,4 = 204 \quad (5.27)$$

Якщо всі отвори розмістити по колу діаметра  $D_{cp}$  в два ряди, то крок їх розташування буде

$$t = \pi D_{cp} (2 / z_0) = 3,14 \cdot 350 \cdot (2 / 204) = 10,77 \text{ мм} \quad (5.28)$$

Крок розміщення отворів в цьому ряду

$$t_2 = 3,14 \cdot 175 / 102 = 5,3 \text{ мм.}$$

### 5.2.5. Тепловий розрахунок

Розрахунок проводиться за методикою [60].

Погодинна кількість виділення тепла культурою:

$$Q_{\text{ч}} = 30 \cdot 15670 \cdot 10^3 / 3600 \cdot 24 = 5,44 \cdot 10^3 \text{ Вт}, \quad (5.29)$$

де 15670 кДж/кг – тепловиділення цукру;

30 кг – кількість цукру в середовищі.

Тепловий баланс ферментера:

$$Q_{\text{ч}} = Q_{\text{вод}} + Q_5 \quad (5.30)$$

Втрати на тепловипромінювання в навколишнє середовище приймаємо 2% від  $Q_{\text{ч}}$ :

$$Q_5 = 0,02 \cdot 5,44 \cdot 10^3 = 1,088 \cdot 10^2 \text{ Вт} \quad (5.31)$$

Тепло, що відводиться водою:

$$Q_{\text{вод}} = Q_{\text{ч}} - Q_5 = 5,44 \cdot 10^3 - 1,088 \cdot 10^2 = 4,352 \cdot 10^2 \text{ Вт} \quad (5.32)$$

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						120
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		



Розхід води для відводу тепла:

$$G_{\text{вод}} = Q_{\text{вод}} / c(t_2 - t_1) = 435 / 4186 \cdot (22 - 15) = 0,014 \text{ кг/с} \quad (5.33)$$

$t_1=15^\circ\text{C}$ —температура води при вході в сорочку

$t_2=22^\circ\text{C}$ —температура води при виході з сорочки

Споживча поверхня охолодження ферментера:

$$F = Q_{\text{вод}} / k\Delta t_{\text{cp}} \quad (5.34)$$

Для даного випадку середня різниця температур теплоносіїв:

$$\Delta t_{\text{cp}} = (\Delta t_6 + \Delta t_m) / 2 = (15 + 8) / 2 = 11,5^\circ\text{C} , \quad (5.35)$$

Де  $\Delta t_6=30-15=15^\circ\text{C}$

$\Delta t_m=30-22=8^\circ\text{C}$

$\Delta t_6/\Delta t_m = 15/8 < 2$

Для апаратів з сорочками з перемішуванням мішалкою коефіцієнт тепловіддачі від перемішуючої рідини до стінки визначають за рівнянням:

$$Nu_c = 0,36 Re^{0,67} \cdot Pr^{0,33} (\mu/\mu_{\text{ст}})^{0,14} \quad (5.36)$$

Критерій Нуссельта, що характеризує інтенсивність тепловіддачі на границі потік – стінка:

$$Nu_c = \alpha_1 D_{\text{вн}} / \lambda \quad (5.37)$$

Для примусового перемішування мішалкою критерій Рейнольдса розраховується як:  $Re = pnd^3 / \mu$  (5.38)

Прирівнюємо формули критерія Нуссельта:

$$\alpha_1 D_{\text{вн}} / \lambda = 0,36(pnd^3 / \mu)^{0,67} \cdot (3600c_p\mu g/\lambda)^{0,33} \cdot (\mu/\mu_{\text{ст}})^{0,14} \quad (5.39)$$

Звідси коефіцієнт тепловіддачі від перемішуючої рідини до стінки:

$$\alpha_1 = 0,36 \cdot \lambda/D_{\text{вн}} \cdot (pnd^3 / \mu)^{0,67} \cdot (3600c_p\mu g/\lambda)^{0,33} \cdot (\mu/\mu_{\text{ст}})^{0,14}$$

де  $\mu = 0,9 \cdot 10^{-3} \text{ Па}\cdot\text{с}$  – в'язкість середовища;

$\rho_c = 1010 \text{ кг/м}^3$  – густина середовища;

$c_p = 4186 \text{ Дж/кг}\cdot^\circ\text{C}$  – питома теплоємність середовища;

$\lambda = 0,6 \text{ Вт/м}\cdot^\circ\text{C}$  – теплопровідність середовища;

$D_{\text{вн}} = 0,6 \text{ м}$  – внутрішній діаметр ферментера;

$d_m = 0,2 \text{ м}$  – діаметр мішалки;

$n = 3 \text{ об/с}$  – частота обертання мішалки.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						121
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

$$\alpha_1 = 0,36 \cdot 0,6/0,6 \cdot (1010 \cdot 3 \cdot 0,2^3 / 0,0009)^{0,67} \cdot (4186 \cdot 0,0009/0,6)^{0,33} \cdot (0,0009/0,0009)^{0,14} = 1800 \text{ Вт/м}^2 \cdot ^\circ\text{С}$$

Коефіцієнт тепловіддачі від стінки ферментера до охолоджуючої води визначаємо за формулою:

$$\alpha_2 = 0,023 \cdot \lambda/D_3 \cdot (D_{\text{вн. п}} / D_{\text{вн. п}} - D_3)^{0,45} \cdot (\omega_p D_3 \rho / \mu)^{0,8} \cdot (3600 \text{ с} \mu \text{г} / \lambda)^{0,43} \quad (5.40)$$

$$\alpha_2 = 0,023 \cdot 0,582/0,6 \cdot (0,66/0,63-0,6)^{0,45} \cdot (0,23 \cdot 0,6 \cdot 0,999/0,00108)^{0,8} \cdot (0,00108 \cdot 4160/0,582)^{0,43} = 312 \text{ Вт/м}^2 \cdot ^\circ\text{С}$$

де  $\lambda=0,584 \text{ Вт/м} \cdot ^\circ\text{С}$  – коефіцієнт теплопровідності води;

$D_3 = 0,6 \text{ м}$  – зовнішній діаметр корпусу ферментера;

$D_{\text{вн. п}}=0,63 \text{ м}$  – внутрішній діаметр сорочки ферментера;

$\rho = 0,999 \text{ т/м}^3$  – густина води при  $17,5^\circ\text{С}$ ;

$\omega_b$  – швидкість води в сорочці ферментера:

$$\omega_b = G_n / 3600 f \rho = 24,5 / 3600 \cdot 0,785(0,63^2 - 0,6^2) 0,999 = 0,23 \text{ м/с}, \quad (5.41)$$

$$\text{де } f = 0,785 D_{\text{вн. п}}^2 - D_3^2) - \text{площа перерізу сорочки}. \quad (5.42)$$

Теплофізичні параметри води прийняті при середній температурі:

$$t_{\text{ср}} = (15+22)/2 = 17,5^\circ\text{С} \quad (5.43)$$

Коефіцієнт теплопередачі від рідини, яка охолоджується, до охолоджуючої води:

$$K = 1/(1/\alpha_1 + S/\lambda + 1/\alpha_2) = 1/(1/1800 + 0,01/58,15 + 1/312) = 256 \text{ Вт/м}^2 \cdot ^\circ\text{С}, \quad (5.43)$$

де  $S=0,01 \text{ м}$  – товщина стінки ферментера;

$\lambda=58,15 \text{ Вт/м} \cdot ^\circ\text{С}$  – коефіцієнт тепловіддачі стінки ферментера;

Забруднення стінок осадами в процесі експлуатації призводить до погіршення коефіцієнта теплопередачі, тому для розрахунку приймаємо  $k=485 \cdot 1,163=564 \text{ Вт/м} \cdot ^\circ\text{С}$ .

Тоді, згідно формули 5.34 площа поверхні охолодження рубашки:

$$F = 435 / 564 \cdot 11,5 = 0,6 \text{ м}^2$$

На основі приведених розрахунків для здійснення процесу виробничого культивування використовуємо ферментер, обладнаний перемішуючим пристроєм – турбінною мішалкою та барботером з такими параметрами:

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						122
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Загальний об'єм	0,16 м <sup>3</sup>
Робочий об'єм	0,1 м <sup>3</sup>
Діаметр	$D = 600$ мм
Висота	$L = 670$ мм
Діаметр мішалки	$d_m = 0,2$ м
Вид мішалки	Турбінна
Тривалість культивування	15 год = 54000с
Продуктивність	$1,852 \cdot 10^{-6}$ м <sup>3</sup> /с
Потужність мішалки	60 Вт

### 5.3. Вибір загальнозаводського обладнання

Основною вимогою до загальнозаводського обладнання є забезпечення асептичності відповідних стадій виробництва. Потрібно забезпечити відсутність контамінації при транспортуванні рідких та пастоподібних речовин (пасти ТВ, гібридного білка, очищеного інсуліну). Повинні бути забезпечені стерильність технологічного аераційного повітря, а також відповідні показники якості повітря згідно з класом чистоти приміщення. Для транспорту різних речовин на виробництві можливе використання насосів різних типів, що підбираються за продуктивністю, напором та потужністю.

Основними перевагами поршневих і плунжерних насосів є високий ККД і можливість подачі незначних об'ємів рідин, в тому числі високов'язких під будь-яким заданим тиском, тому дані насоси використовуються для перекачування високов'язких рідин, а також при дозуванні рідких середовищ.

Шестеринні і гвинтові насоси, що є конструктивно простими і забезпечують плавну подачу рідини, також можливо застосовувати для перекачування малих кількостей в'язких рідин. Насоси таких типів можна підібрати за каталогом «Tarpflo», наприклад, серія шестеринних насосів TopGear MAG продуктивністю до 80 м<sup>3</sup> /год, з температурою рідини, що перекачується, до 250°C.

Відцентрові насоси набули найбільшого поширення в біотехнологічній промисловості, так як вони високопродуктивні, компактні, швидкохідні, прості з

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		123

рівномірною подачею і можливістю перекачування рідин, що містять тверді завислі частинки, завдяки великим зазорам між лопатями і відсутності клапанів. До недоліків відцентрових насосів відноситься обмеженість їх застосування в області малих продуктивностей і великих напорів [58]. Насоси такого типу можна підібрати за каталогом Calpeda, наприклад, серії NM та NMD, продуктивністю 1-66 м<sup>3</sup>/год, напором 3,5-114 м, потужністю 0,37-9,2 кВт.

Перистальтичні (шлангові) насоси широко використовуються для асептичного транспортування речовин в фармацевтичній промисловості. Виробляючи шланг з матеріалу, який практично не виділяє сторонніх речовин (наприклад, силікону), можна домогтися того, що перекачувана речовина в ньому буде забруднюватися мінімально [59]. Насоси такого типу можна підібрати за каталогом «Tapflo», наприклад, серія PT продуктивністю до 150 м<sup>3</sup>/год, з температурою рідини, що перекачується, до 135°C.

При культивуванні мікроорганізмів, а саме при виробництві інсуліну, дуже важливо здійснювати допоміжні роботи. Це впливає на ефективність всього виробництва і на відсутність контамінантів у цільовому продукті. Основною допоміжною роботою на фармацевтичному виробництві є підготовка повітря.

Навіть незначний вміст сторонньої мікрофлори в повітрі може привести до інфікування поживного середовища і різкого зниження виходу продукту, так як при багато добовому циклі культивування продуцента споживається повітря 50-80 тис. м<sup>3</sup>/год. [51] Як правило в біотехнології питання технологічного повітря асоціюються з його функціями при біосинтезі. Технологічне аераційне повітря є джерелом лімітуючого субстрату – кисню і є джерелом енергії при перемішуванні культуральної рідини.

Для отримання очищеного повітря виробничих приміщень різних класів чистоти та стерильного аераційного повітря для культивування, на виробництві, що проектується, необхідне використання фільтрів, що забезпечують різні ступені очистки.

Фільтри класу G (грубої очистки, нестерилізуючі) забезпечують очищення з ефективністю E = 65-90%, фільтри класу F (тонкої очистки) - очищення з

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						124
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ефективністю  $E = 40-95\%$ .

Стерилізуючими є фільтри класу Н (HEPA) та U (ULPA). Фільтри HEPA забезпечують очищення з ефективністю  $E = 99-99,995\%$ . Фільтри такого типу можна підібрати за каталогом NEW FILTER, площею фільтрації від 2,7 до 20 м<sup>2</sup>. Фільтри ULPA забезпечують очищення з ефективністю до 99,999995%.

В загальному виді процеси, що призводять до захоплення частинок при фільтрації, діляться на ситові (з осадженням частинок при прямому дотику, якщо розмір просвіту менше діаметра частки) і неситові, до яких відносяться інерційне осадження, дифузія, а також електростатичне тяжіння.

Найбільше розповсюдження для очистки і стерилізації повітря знаходять конструкції в яких використовуються змінні (картриджні) готові стандартні фільтруючі патрони. Марку фільтра вибирають в залежності від продуктивності ферментера. В патронних фільтрах можуть бути використані папір з базальтових супертонких волокон, гофрований базальтовий картон і різні фторопластові елементи.

Фільтри тонкої очистки практично забезпечують 100% очистку і стерилізацію повітря. Вони стерилізуються гострою парою в технологічній обв'язці з ферментом без видалення фільтруючих елементів з корпусу фільтра. Цей метод створює дуже жорсткі умови для вибору фільтруючих матеріалів, так як через фільтр під тиском пропускається велика кількість гострої пари, часто забрудненої і з великим вмістом конденсату. Тому більш раціональна двостороння стерилізація фільтрів парою. Пара повинна поступати чиста і суха температурою 120°C при стабілізованому тиску. Час стерилізації коливається від 30 до 60 хв в залежності від типу фільтруючого матеріалу[56]. Фільтри з тканиною Петрянова-Соколова з успіхом використовують для тонкої бактеріальної очистки повітря. Тканина Петрянова представляє собою надтонкі, хаотично сплетені в виді полотен на марлевій або іншій поруватій основі волокна товщиною 1,5 і 2,5 мкм з перхлорвінілу (ФПП-15 і ФПП-25), ацетатцелюлози (ФПА-15), полістиролу (ФПС-15), поліфторстиролу (ФПФС)[52]. Обираємо індивідуальний фільтр ДУ-200 з фільтруючим матеріалом ФПП15, ФПА-15 з продуктивністю 0,28 м<sup>3</sup> /с.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						125
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Система очистки відпрацьованого повітря дуже важлива на виробництві, так як з ферментера разом з повітрям в атмосферу викидається до 1010-1011 клітин мікроорганізмів і спор в  $1 \text{ м}^3$ , що недопустимо з точки зору охорони навколишнього середовища. Очистка відпрацьованого повітря ускладнюється тим, що воно має дуже високу відносну вологість і звичайні фільтри тонкої очистки швидко псуються. Для очистки відпрацьованого повітря можна використовувати волого і термостійкі фільтри фірм “Палл” (ФРГ) або “Балстон”. [61]

Для доочищення повітря використовують скрубери Вентурі, які є достатньо ефективними та економічно вигідними. Принцип роботи скруббера заснований на аеродинамічній силі труби Вентурі. Вона являє собою трубу, схожу на пісочний годинник. Труба включає в себе: дифузор, горловину, конфузор і штуцера підведення зрошувальної рідини з форсунками. Принцип роботи доволі простий. Через фланець вхідного газу в трубу Вентури потрапляє забруднений газ. У трубі газ розганяється до великих швидкостей відповідно до закону Бернуллі. Зверху, через форсунки надходить вода. За рахунок утворення турбулентності, вода в трубі дробиться на більш дрібні краплі. За рахунок дроблення збільшується площа зіткнення води з газом, тобто площа фільтрації. Таким чином відбувається уловлювання забруднень водою або спеціальною рідиною. Потім вода з газом проходить по газоходу в відцентровий каплеуловлювач. У ньому вода з газом опускається вниз, а чисте повітря за допомогою вентилятора виходить назовні[55]. Обираємо скруббер СВ-Кк-2-0,220-01 з продуктивністю  $120-180 \text{ м}^3/\text{год}$ .

#### 5.4 Специфікація обладнання

У додатку 1 наведена специфікація обладнання, що використовується в ході виробничого процесу.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		126

## 6. СТАРТАП-ПРОЄКТ ВИРОБНИЦТВА РЕКОМБІНАНТНОГО ІНСУЛІНУ ЛЮДИНИ

Таблиця 6.1–Резюме стартап-проекту

Показник	Характеристика
1. Сутність ідеї	Виробництво препарату рекомбінантного інсуліну людини, нестерильної субстанції
2. Наявність аналогів	Аналоги: препарати рекомбінантного інсуліну людини
3. Основна потреба, яку задовольнить реалізований стартап	Потреба у лікарських препаратах
4. Ступінь розробленості технології реалізації	Розроблена на 80 %
5. Класифікація продукту стартапу за міжнародною класифікацією товарів	Гормони на медичні потреби
6. КВЕД, до якого може належати дане виробництво	21.20.12 Препарати лікарські, що містять гормони і не містять антибіотики
7. Очікувана потужність стартапу	Середнє
8. За масштабом виробництва	Масове
9. За рівнем спеціалізації	Вузькопрофільне
10. За ресурсами, що споживатимуться	Працемістке, матеріаломістке, капіталомістке, інформаційномістке
11. За чисельністю персоналу	Середнє
12. Органи управління при реалізації стартапу	Національні, міжнародні
13. Бажане географічне розташування - Потужностей стартапу; - Офісу стартапу; - Збутової мережі; - Постачальників комплектуючих.	м. Київ м. Київ Україна Україна
14. Місце ідеї у ланцюжку цінностей інноваційного процесу	Розробка
15. Гранична корисність ідеї стартапу	Для українського фармацевтичного ринку характерна недостатня кількість якісного і безпечного препарату інсуліну людини вітчизняного виробництва. Тому теоретичні та експериментальні дослідження технологій виробництва препарату з метою підвищення його якості і безпеки є актуальною науковою задачею.
16. Бізнес-модель стартапу	Бізнес для бізнесу для споживача: B2B2C

					БЕ0101.МД.ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Коровка К. А.			СТАРТАП-ПРОЄКТ ВИРОБНИЦТВА РЕКОМБІНАНТНОГО ІНСУЛІНУ ЛЮДИНИ	Стадія	Арк.	Акрушів
Конс.		Ткаченко Т.П.					127	181
Керів.		Зубченко Л. С.				КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ		
Затверд.								

17. Конкуренти вітчизняні	Фармак
18. Конкуренти іноземні	Novo Nordisk, Bi otonС.А.
19. Ключові фактори успіху стартапу	Висока якість продукту, високоефективна технологія виробництва
20. Споживачі (основні на етапі впровадження, групи, орієнтовна чисельність)	Лікарні, аптеки, населення (хворі на діабет)
21. Планова кількість продукту розробки для першого етапу реалізації	460 000 флаконів за 4 роки
22. Мінімальна кількість виробництва за методом точки беззбитковості	455 000 флаконів
23. Споживачі на етапі розвитку	Лікарні
24. Споживачі на етапі зрілості	Населення, аптеки, лікарні
25. Конкурентна ціна на продукт стартапу	515 грн./флакон
26. Плановий рівень рентабельності при реалізації продукту	26%
27. Капіталовкладення в проект	47,1 млн. грн
28. Період повернення капіталовкладень у проект	≈4 роки
29. Джерела фінансування	Внутрішні, зовнішні, національні
30. Основні компоненти продукції стартапу	Порошок інсуліну людини (потребує виробництва), пакувальні матеріали (в наявності)
31. Потенційні постачальники складових компонентів розробки	ПАТ "Полтавський завод медично- го скла", ПП "Система Оптимум", ТОВ "УкрДезСервіс"
32. Планове місце реалізації результату розробки (місце, планова доля реалізації продукту через це місце)	Лікарні 80%
33. Наявність посередників при реалізації (так, ні, орієнтовні посередники, форми оплати їх діяльності)	Так; аптеки; безготівковий розрахунок
34. Методи просування результатів розробки на ринок	Пропаганда, реклама, особистий продаж, стимулювання збуту

### 6.1. Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартапу

Зовнішнє середовище безпосередньо не впливає на підприємство, але формує загрози і можливості цього підприємства. До факторів зовнішнього середовища відносять політику, економіку, географію, демографію, культуру, науково-технічний прогрес.



Таблиця 6.2 – Аналіз загроз і можливостей зовнішнього середовища

Загрози	Можливості
<b>Економіка</b>	
Високий рівень конкуренції	Створено лояльні умови для розвитку малого бізнесу
Інфляція	Зменшення кількості конкурентів на ринку
Фінансова криза, можливість банкрутства	Пошук альтернативних технологій з метою зниження собівартості
Економічна криза, зменшення об'ємів виробництва продукту, звільнення працівників	Можливість виходу на нові ринки
<b>Політика</b>	
Ріст корупції	Пошук нових ринків збуту за межами України
Політична криза	Зменшення кількості конкурентів на ринку
Обмеження на імпорт	Розвиток власного виробництва
<b>Науково-технічний прогрес</b>	
Фінансові витрати на закупівлю сировини і матеріалів	Впровадження нових технологій
Фінансові витрати на закупівлю нового обладнання	Підвищення ефективності виробництва і якості продукту
Фінансові витрати на модернізацію обладнання	Автоматизація процесів виробництва
<b>Демографія</b>	
Зменшення кількості потенційних покупців	Більша кількість споживачів матиме доступ до препарату
Зменшення кількості висококваліфікованих працівників	Автоматизація виробництва, зменшення потреби в праці людей
<b>Географія</b>	
Залежність від транспортної системи	Ефективна логістика
Встановлені квоти на експорт товару в країни ЄС	Вдале розташування
<b>Культура</b>	
Соціальна стратифікація	Позитивне ставлення до екологічно-чистої продукції

До факторів зовнішнього оперативного середовища відносять конкурентів, постачальників, посередників споживачів (табл. 6.3).

Таблиця 6.3 –Аналіз факторів зовнішнього оперативного середовища

Фактор	Переваги	Недоліки
Конкуренти 1. Фармак 2. Novo Nordisk 3. Bioton S.A.	1) Напрацьована база клієнтів 2) Доступна ціна продукту 1) Довготривале зберігання лідерства на ринку 2) Різноманіття форм випуску та дозування 1) Гарна репутація на ринку 2) Доступна цінова політика компанії	1) Виробництво неповного циклу 1) Залежність від умов імпортування 1) Необхідність імпортування
Постачальники 1. ПАТ "Полтавський завод медичного скла" 2. ПП "Система Оптимум" 3. ТОВ "УкрДезСервіс"	1) Різноманіття товарів 2) Доступні ціни товарів	1) Можливі проблеми логістики
Посередники Мережа "Аптека Доброго Дня" Мережа аптек «АНЦ» ООО "АПТЕКА911.ЮА"	1) Мережі аптек по всій території країни (географіч- ний фактор) 2) Велика кількість потенційних споживачів	1) Наявність посеред- ників веде до збільшення кінцевої вартості товару 2) Залежність від умов співпраці
Споживачі Клініки, лікарні Аптеки Населення	1) Стабільно високий попит на продукт стартапу	1) Зниження купівельної спроможності у зв'язку з економічною кризою

Зовнішнє оперативне середовище формує переваги і недоліки підприємства, визначає підходи до вибору постачальників, тощо. За результатами аналізу факторів зовнішнього і зовнішнього оперативного середовищ формують перелік зацікавлених сторін (табл. 6.4) для визначення потенційних загроз у процесі впровадження розробки при формуванні ризиків стартап-проекту. Показники оцінюють за шкалою від 1 (мінімальні вплив і зацікавленість) до 5 (максимальні вплив і зацікавленість).

Таблиця 6.4 – Аналіз зацікавлених сторін

Зацікавлена сторона	Вплив її на реалізацію проекту	Цікавість її до проекту	Загальний коефі- цієнт впливу на проект
<b>Суб'єкти зовнішнього оперативного середовища</b>			
<b>Виробник:</b>			
Фармак	1	2	1,5

Novo Nordisk	1	1	1
Bioton С.А.	1	1	1
<b>Постачальник</b>			
ПАТ "Полтавський завод медичного скла"	5	3	4
ПП "Система Оптимум"	5	3	4
ТОВ "УкрДезСервіс"	5	3	4
<b>Споживачі</b>			
Клініки, лікарні	5	5	5
Аптеки	5	5	5
Населення	5	5	5
<b>Посередники</b>			
Мережа "Аптека Доброго Дня"	3	3	3
Мережа аптек «АНЦ»	3	3	3
ООО "АПТЕКА911.ЮА"	3	3	3
<b>Зовнішнє середовище</b>			
<b>Політичні структури</b>			
Політичні партії	3	3	3
Органи місцевого самоврядування	3	3	3
Парламент	3	3	3
<b>Суб'єкти економічного середовища</b>			
Підприємства	2	1	1,5
Організації	2	1	1,5
Установи	2	1	1,5
<b>Власники географічних об'єктів</b>			
Органи місцевого самоврядування	4	3	3,5
Держава	4	3	3,5
<b>Суб'єкти демографії</b>			
Законодавчі органи влади	3	3	3
Органи виконавчої влади	4	3	3,5
Судова влада	3	3	3
<b>Суб'єкти культурного середовища</b>			
Держава в особі уповнова-жених органів виконавчої влади	2	2	2
Територіальні громади в особі органів місцевого самоврядування	2	2	2
Професійні творчі праців-ники	2	2	2
Наукові працівники	2	2	2
<b>Суб'єкти НТП</b>			
Наукові і конструкторські організації	3	2	2,5
Експериментальні (дослідні) підприємства	3	2	2,5

Виготовлювачі нової техніки	3	2	2,5
Споживачі нової техніки	3	2	2,5

Внутрішнє середовище підприємства – це його організація, техніко-технологічні особливості діяльності, кадри (їх кількісний та якісний склад, спеціалізація, рівень освіти, досвід), забезпеченість основними та оборотними засобами, стан основних засобів (рівень зношеності).

Аналіз внутрішнього середовища підприємства забезпечує визначення сильних та слабких сторін в процесі реалізації стартап-проекту, що саме буде сприяти забезпеченню розробки, впровадженню, а що створюватиме перешкоди (ризики) в розробці, впровадженні та реалізації ідеї стартап-проекту (табл 6.5).

Таблиця 6.5 – Переваги і недоліки внутрішнього середовища

	Переваги	Недоліки
Виробничий процес	Нова високоефективна технологія	Дороговартісне обладнання
Маркетинг	Ефективна маркетингова стратегія	Низька впізнаваність продукту Невеликий бюджет маркетингових досліджень
Логістика	Вдале територіальне розташування Налагоджена система логістичного менеджменту	Залежність вартості перевезень від фінансового становища підприємства та економічної ситуації в країні
Менеджмент	Досвідчені менеджери вищої ланки	Низька заробітна плата співробітників
Персонал	Висококваліфіковані працівники Функціонування навчального центру	Відтік кадрів за кордон Багато працівників близьких до пенсійного віку
Постачальники	Різноманіття постачальників на ринку	Залежність від курсу валют Підвищення цін на сировину
Споживачі	Великий попит на продукцію	Висока конкуренція на ринку

За результатами аналізу зовнішнього, зовнішнього оперативного і внутрішнього середовищ конкретизують об'єкт стартап-проекту – що саме (інноваційну ідею, технологію, методику, програму) буде запропоновано до розгляду потенційним інвесторам.

## 6.2.Визначення ключових факторів успіху проєкту

На підставі аналізу факторів зовнішнього і зовнішнього оперативного середовищ необхідно визначити ключові фактори успіху власної ідеї, технології, методики. Ключові фактори успіху – ті, на які підприємство може самостійно впливати під час виробництва і реалізації продукту. Ключові фактори успіху варто надати у вигляді діаграми Шонфільда. Розрахунки та діаграми представлені в табл.6 та на рис. 6.1.

Таблиця 6.6 – Приклад оцінки характеристики за методом Шонфільда

Характеристика	Коефіцієнт вагомості характеристики	Оцінка характеристик			
		Наша продукція	Конкурент А Фармак	Конкурент В Novo Nordisk	Конкурент С Bioton C.A.
Ціна	0,3	4	5	4	5
Пакування	0,2	4	4	5	4
Дотримання вимог нормативної документації	0,5	5	5	5	5

З урахуванням коефіцієнту вагомості характеристики визначається бальна оцінка кожної характеристики для нашої продукції для конкурентів:

Характеристика	Бальна оцінка характеристик			
	Наша продукція	Конкурент А Фармак	Конкурент Б Novo Nordisk	Конкурент С Bioton C.A.
Ціна	$0,3 \cdot 4 = 1,2$	$0,3 \cdot 5 = 1,5$	$0,3 \cdot 4 = 1,2$	$0,3 \cdot 5 = 1,5$
Пакування	$0,2 \cdot 4 = 0,8$	$0,2 \cdot 4 = 0,8$	$0,2 \cdot 5 = 1,0$	$0,2 \cdot 4 = 0,8$
Дотримання вимог нормативної документації	$0,5 \cdot 5 = 2,5$	$0,5 \cdot 4 = 2,0$	$0,5 \cdot 5 = 2,5$	$0,5 \cdot 5 = 2,5$

На підставі отриманих бальних оцінок будується графік порівняння конкурентних переваг нашого підприємства з конкурентами.

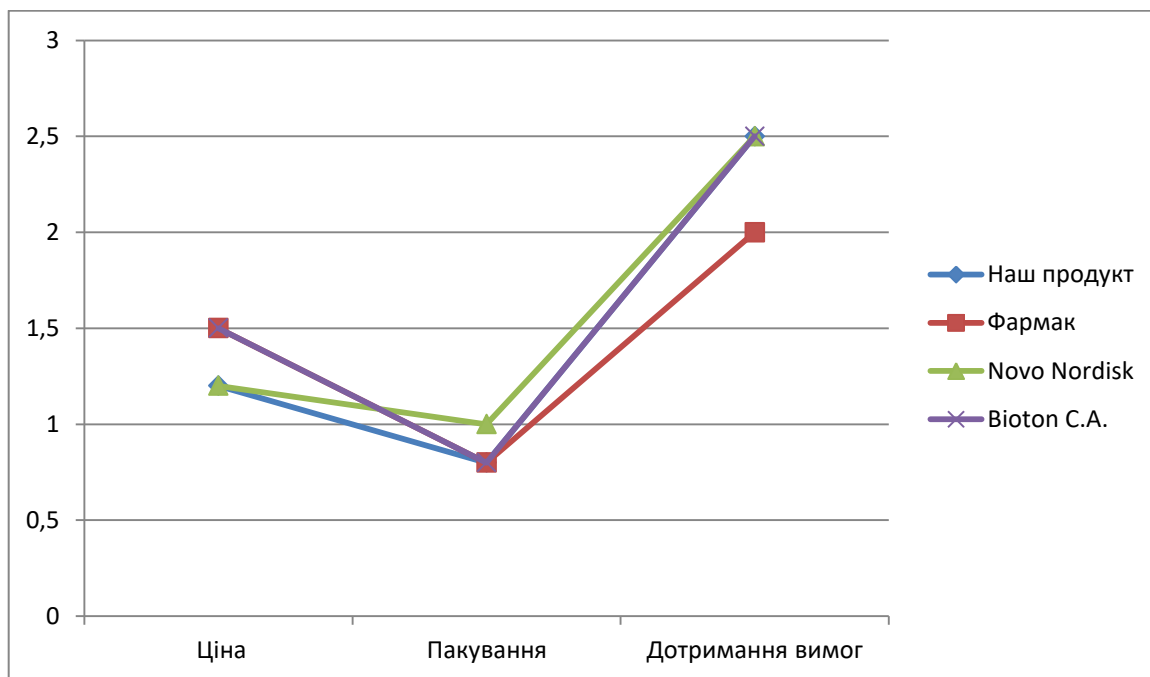


Рисунок 6.1 – Порівняння конкурентних переваг підприємства з конкурентами

Отож, ключовим фактором успіху є висока якість і безпечність продукції, що забезпечуються, зокрема завдяки дотриманням вимог нормативної документації і чинного законодавства. На основі аналізу ключових факторів успіху стартап-проекту формують можливі варіанти розвитку інноваційної ідеї та визначають перспективний напрям її розвитку (табл. 6.7).

Таблиця 6.7 – Варіанти розвитку ідеї стартапу

Варіант		Стислий опис можливого розвитку		
1. Недосконалий		Пошук і залучення інвестицій, закупівля технологічного оснащення та сировини, запуск виробничого процесу, отримання серії кінцевої продукції , її реалізація. У разі низького попиту перекваліфікування чи закриття цеху виробництва.		
2. Вдосконалений		Підготовка комерційної пропозиції, пошук і залучення інвестицій, закупівля технологічного обладнання і сировини, запуск виробничого процесу, отримання готового товару і його масова реалізація.		
3. Досконалий		Підготовка комерційної пропозиції, пошук і залучення інвестицій, закупівля технологічного обладнання і сировини, запуск виробничого процесу, отримання готового товару і його масова реалізація. Проведення дослідних робіт, вдосконалення технології виробництва, збільшення об'ємів продажу.		
		БЕ0101.МД.ПЗ		Арк.
				134
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

### 6.3. Визначення потенційних споживачів

Особливістю розробки стартап-проектів є отримання оцінки потенційного споживача ще на етапі формування інноваційної ідеї. Тому необхідно дослідити потреби потенційних споживачів.

На етапі обговорення ідеї стартапу ми визначаємо потреби споживачів і перевіряємо правильність визначення їх шляхом отримання первинної інформації – тільки від самих споживачів.

Для виконання цього формують перелік потенційних споживачів для стартап-продукту. Їх аналіз здійснюється з врахуванням специфіки продукту, товарів, технологій, що є ідеєю стартап-проекту (табл. 6.8). Визначаються перспективні споживачі на різних етапах реалізації проекту та бізнес-моделі стартап-проекту, механізмів роботи з клієнтами, обрання моделей інноваційної діяльності.

Таблиця 6.8 – Класифікація потенційних споживачів

Критерій	Значення
<b>1. Юридична особа</b>	
1. Форма власності (державне, приватне, колективне,	Приватне, комунальне
2. КВЕД	Q86.10
3. За потужністю (малі, середні, великі)	Малі, середні, великі
4. За масштабом виробництва (одиничні, серійні, масові)	Масові
5. За рівнем спеціалізації (вузькопрофільні, багатопрофільні, комбіновані)	Вузькопрофільні
6. За ресурсами, що споживаються (працемісткі, матеріаломісткі, капіталомісткі, інформаційномісткі)	Працемісткі, матеріаломісткі, капіталомісткі, інформаційномісткі
7. За чисельністю персоналу (малі, середні, великі)	Малі, середні, великі
8. За сферою діяльності (виробничі, комерційні, фінансові, посередницькі, страхові...)	Лікувально-профілактичні заклади, комерційні
9. За приналежністю капіталу і контролю (національні, іноземні, спільні багатонаціональні,...)	Національні
10. За географічним розташуванням	Вся територія України
11. За віддаленістю органів управління (національні, міжнародні, офшорні, транснаціональні,...)	Національні
12. За характером господарської діяльності (промислові, сільськогосподарські, транспортні, будівельні, фінансово-кредитні, страхові, туристичні, консалтингові,...)	Лікувально-профілактичні

13. За рівнем технологічної цілісності (провідні, дочірні, філії,...)	Провідні, дочірні, філії
14. За долею іноземного капіталу (з іноземними інвестиціями (більше 10%), іноземне підприємство (100%)).	Без іноземних інвестицій
15. За формуванням статутного капіталу (унітарні, корпоративні)	Унітарні
16. За організацією виробничих процесів (періодичні, безперервні)	Безперервні
17. За роботою протягом року(сезонні, позасезонні)	Позасезонні
18. За географічним розташуванням на території України	Обласні, районні, міські
19. За наявністю вільних ОБЗ (коштів)	Наявні
20. За динамікою розвитку регіону розташування юридичної особи: – Регіон – Чисельність населення – Динаміка росту регіону – Структура регіону – Правові обмеження торгівлі	Регіон: Вся територія України Чисельність населення: 41.7 млн Динаміка росту регіону: Негативна Правові обмеження торгівлі: без обмежень.

**2. Фізична особа**

1. Вік	0 – момент смерті
2. За платоспроможністю (визначити розмір готовності платити за придбання продукту, послуги)	515 грн/упаковку
3. За соціальним рівнем споживачів (кількість майна, рівень зарплати, доступ до ресурсів)	Дохід від 7000 грн/місяць
4. За способом життя (звички, традиції, стереотипи поведінки)	Будь-хто
5. Тип особистості споживачів (традиціоналіст, ідеаліст, фрустрант, реаліст, гедоніст)	Будь-хто
6. За ставленням до товару	Хворі на діабет
7. За сімейними цінностями (склад сім'ї, рівень сімейного доходу, етап життєвого циклу сім'ї, традиції)	Не має значення
8. За співвідношенням бажання придбати і цінової межі (порівняти цифри парами «місячний дохід – вартість одиниці товару»)	7000:500 (14:1)
9. За інтенсивністю споживання товару – Разове придбання – Періодичне придбання – Систематичне придбання	Систематичне придбання
10. За інформованістю (самоосвіта, ЗМІ, спеціальні джерела)	Не має значення

При виконанні дослідження потреб споживачів був застосований метод спостереження для збору інформації.



Результатом дослідження потреб споживача є формування (обрання) трьох основних груп потенційних клієнтів (виділяють за проблемами, які для конкретної групи вирішує стартап-продукт). Отримані результати систематизовані у вигляді таблиці 6.9.

Таблиця 6.9 – Основні групи потенційних споживачів і їх потреби

Категорія (група) клієнтів	Потреби, які він задовольняє за допомогою Вашого продукту
1. Хворі на цукровий діабет I типу	Щоденна потреба в препараті інсуліну
2. Хворі на цукровий діабет II типу	Системна потреба в препараті інсуліну
3. Хворі на інші специфічні типи діабету	Періодична потреба в препараті інсуліну

Метою оцінки потенційних споживачів є визначення перших клієнтів, які придбають дану стартап-розробку. Для того, щоб конкретизувати потенційного клієнта, формують паспорт клієнта–документ, який визначає характерні особливості потенційних клієнтів, їх вимоги до продукту, проблему, яку вони мають бажання розв’язати за допомогою цього продукту (табл. 6.10).

Таблиця 6.10 – Паспорт потенційного клієнта

Характеристика	Значення
Організаційно-правова форма	Юридичні особи, ФОП
Класифікація -за потужністю -за чисельністю персоналу -за обсягом виробництва -за сезонністю виробництва -інше	Від 10 осіб Позасезонний Лікувально-профілактичний заклад
Розташування -місто -сміт -село -інше	Будь-де
Вид продукту, який потрібен даному споживачеві	Лікарський засіб
Призначення придбаної розробки -за призначенням -інше	За призначенням
Кваліфікація персоналу підприємства -робочі -службовці -керівники	Молодший медичний персонал, лікарі, фармацевти
Потенційний обсяг споживання розробки	Оптові закупівлі

Визначення потенційного споживача дозволяє сформувати плановий обсяг реалізації стартап-проекту за місяцями (за перший рік реалізації) – табл. 6.11.

Таблиця 6.11 – Запланований обсяг реалізації стартап-продукту

	Січень 2022	Лютий 2022	Березень 2022	Квітень 2022	Травень 2022	Червень 2022	Липень 2022	Серпень 2022	Вересень 2022	Жовтень 2022	Листопад 2022	Грудень 2022
Запланований обсяг	5000 уп.	7000 уп.	8000 уп.	8500 уп.	9000 уп.	9500 уп.	10000 уп.	10500 уп.	11000 уп.	12000 уп.	13500 уп.	11000 уп.

#### 6.4. Ціна інноваційної пропозиції на ринку

Формуванням собівартості стартап-проекту не починають, яку звичайній підприємницькій діяльності, а закінчують роботу над фінансовими показниками. Верхня межа собівартості стартап-продукту формується після оцінки ринкової ціни товару і визначення рівня його прибутковості.

Визначення потенційного споживача і його особливостей при прийнятті рішення про придбання стартап-продукту дозволяє визначити ціну пропозиції для ідеї, технології, методики, програми на ринку (табл.12).

Таблиця 6.12 – Проектні ціни продажу ідеї, технології, методики, програми

Найменування товару	Планові обсяги продажу		Аналоги, прототипи	
	Кількість, од.	Ціна, грн/од.	Кількість, од.	Ціна, грн/од.
Препарат інсуліну людини	115 000	515	200 000	500

#### Основні методи ціноутворення:

1. Метод, орієнтований на витрати (витратний метод):

$$Ц = С + \text{фіксований відсоток прибутку (від собівартості) [грн/од]}$$

(або середня норма прибутку поданому виду товару),

де Ц – прогнозована ціна товару, грн/од,

С – розрахована автором ідеї, технології, методики очікувана собівартість товару, грн/од.

$$Ц = 500 + 3\% = 500 + 15 = 515$$

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						138
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

2. *Параметричний метод* – враховує вагомість якісних параметрів товару і оцінку цих параметрів споживачем:

Таблиця 6.13 – Розрахунок ціни

Ціна аналога 500 грн.

Продукт	Параметри						Ціна
	Якість		Ефективність		Безпечність		
	Бали	Коефіцієнт вагомості	Бали	Коефіцієнт вагомості	Бали	Коефіцієнт вагомості	Одного балу = 500/(90x0,35+90x0,3+90x0,35)= 5,5
Аналог	90	0,35	90	0,3	90	0,35	500
Новий	95	0,35	90	0,3	95	0,35	5,5x (95x0,35+ 90x0,3+95x0,35)=514,25

3. Метод на основі *аналізу точки беззбитковості*. Полягає в тому, що ціна виробу визначається на основі розрахунку найоптимальнішого обсягу виробництва, який дає змогу відшкодувати всі витрати підприємства за рахунок отриманих валових доходів виходячи з «точки беззбитковості». Відповідає на питання: а) якою повинна бути ціна щоб при заданому об'ємі виробництва отримати плановий прибуток; б) який є оптимальний об'єм виробництва, якщо на ринку склався певний рівень цін; в) застосовується при дефіциті ресурсів – якою повинна бути ціна щоб при збільшенні вартості ресурсів забезпечити плановий прибуток.

Розрахована ціна пропозиції на ідею, технологію, методику, програму є основою для визначення верхньої межі собівартості розробки. Перехід від ціни до собівартості здійснюють з урахуванням законодавства України щодо ціноутворення.

Розрахована як похідна від ринкової ціни верхня межа собівартості ідеї, технології, методики, програми повинна містити вартісні складові всього процесу розробки і виробництва. Тому калькуляцію варто складати з урахуванням етапів розробки і впровадження, реалізації стартап-проекту. Калькуляція наведена у таблиці 6.14.

Таблиця 6.14 – Калькуляція собівартості стартап-продукту

№ п/п	Етап розробки / елемент собівартості	Вартісний показник
1	Етап розробки ідеї - заробітна плата і нарахування (ЄСВ) - електроенергія, паливо	100 000 грн.
2	Етап ринкового дослідження - заробітна плата і нарахування (ЄСВ) - електроенергія, паливо	150 000 грн
3	Етап впровадження (дослідного випробування) - сировина, матеріали - амортизація - заробітна плата і нарахування (ЄСВ) - електроенергія, паливо	3,75 млн. грн.
4	Етап виходу на планову потужність - сировина, матеріали - амортизація - заробітна плата і нарахування (ЄСВ) - електроенергія, паливо	41,6 млн. грн.

Визначивши складові калькуляції на розробку і реалізацію ідеї, технології, методики, оцінюється відповідність цієї розробки ціновим рівням ринків обладнання, сировини, робочої сили для втілення проекту. Визначаються вартісні показники основних і оборотних засобів проекту. Результати подані у вигляді таблиць 6.15, 6.16, 6.17.

Таблиця 6.15 – Забезпеченість проекту основними засобами

Місце ОЗ у технологічному процесі	Назва ОЗ	Повна початкова вартість ОЗ	Плановий період експлуатації ОЗ	Очікуваний поставальник	Джерело фінансування придбання
Виробничий процес	Основне виробниче обладнання	13 млн. грн	15 років	Robert Bosch GmbH	1) кредити фінансових установ 2) прибуток, одержаний від попередньої діяльності;
Виробничий процес	Допоміжне виробниче обладнання	8,5 млн. грн	15 років	СИНОФАР МТЕХ, ООО	3) амортизаційний фонд підприємства;
Розробка, виробничий процес	Інструменти, прилади, інвентар	1,5 млн. грн	10 років	СИНОФАР МТЕХ, ООО	4) формування на підприємстві фонду розвитку виробництва
Розробка, виробничий процес	Лабораторне обладнання	1,25 млн. грн	5 років	МАКРОЛА Б ЛТД, ООО	5) кредити банків 6) безоплатно отримані оборотні активи

Таблиця 6.16 – Забезпеченість проекту оборотними фондами

Група ОбФ	Назва	Норма витрат на рік	Ціна, грн/од	Очікуваний постачальник	Джерело фінансування
Сировина і матеріали	Сировина	9,3 т	12 000 грн/кг	ПП"Система Оптимум"	1) кредити фінансових установ
	Матеріали: Одноразові фільтри	4000	80	ПП"Система Оптимум"	2) прибуток, одержаний від попередньої діяльності;
	Пробірки	5000	200		3) амортизаційний фонд підприємства;
	Одяг	3500	50		4) формування на підприємстві фонду розвитку виробництва
	Рукавички	5000	1		5)кредити банків
	Серветки	5000	30		6)безоплатно отримані оборотні активи
Електроенергія, водопостачання	Матеріали для пакування	115000 од	25	ПАТ "Полтавський завод медичного скла"	
	Вода+стоки	77 000 м <sup>3</sup>	25,4 грн/м <sup>3</sup>	ПрАТ"Київ-водоканал"	
	Електроенергія	45000кВт	84грн/МВт·час	ДТЕК Київські електромережі	

Таблиця 6.17 – Забезпеченість проекту трудовими ресурсами

Категорія кадрів	Назва посади	Чисельність за списком на посаді	Кваліфікаційні вимоги	Плановий рівень заробітної плати	Джерело фінансування
Робочі основні	Апаратник	4	Вища освіта відповідного напрямку підготовки. Стаж роботи за фахом не менше 1 року	12 000 грн	1) кредити фінансових установ
	Мікробіолог	2	Вища освіта відповідного напрямку підготовки. Стаж роботи за фахом не менше 1 року	15 000 грн	2) прибуток, одержаний від попередньої діяльності;
Робочі допоміжні	Слюсар	1	Професійно-технічна освіта. Стаж роботи за фахом не менше 1 року	10 000 грн	3) амортизаційний фонд підприємства;
					4) формування на підприємстві фонду розвитку виробництва
					5)кредити банків
					6)безоплатно отримані оборотні активи

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		141

Спеціалісти	Інженер-технолог	1	Вища освіта відповідного напрямку підготовки. Стаж роботи за фахом не менше 3 років	20 000 грн	
	Технік-технолог	2	Вища освіта відповідного напрямку підготовки. Стаж роботи за фахом не менше 1 року	15 000 грн	
Молодший персонал обслуговування	Лаборант	2	Вища освіта відповідного напрямку підготовки. Стаж роботи за фахом не менше 1 року	10 000 грн	
	Прибиральник	2	Без вимог	7000 грн	
Адміністрація	Начальник цеху	1	Вища освіта відповідного напрямку підготовки. Стаж роботи за фахом не менше 5 років	30 000 грн	
	Менеджер проекту	1	Вища освіта відповідного напрямку підготовки. Стаж роботи за фахом не менше 3 років	25 000 грн	

Заключним етапом в оцінці вартісних показників стартап-проекту є оцінка його за техніко-економічними показниками (табл.6.18).

Таблиця 6.18 – Техніко-економічні показники проекту

Показники	Одиниця виміру	Умове позначення, формула розрахунку	Значення
1. Річний обсяг реалізації ідеї, технології, методики	Од.	В	115000
2. Середньорічна чисельність персоналу за списком	Осіб	$Ч_{сп} = Ч_{яв} \times K_{пер}$	Розробка: 4; реалізація: 16
3. У тому числі - основних - допоміжних - інженерно-технічного персоналу	Осіб		8 3 3

4. Середньорічний виробіток робітника	Од./особу	$\text{ППс.р.} = \text{В}/\text{Чсп}$	7187,5
4. Капіталовкладення у проект – всього – на одиницю продукції	Грн./од.	$\text{К} = \text{ОФ} + \text{ОБК}$	47,1 млн 409,6
6. Повна собівартість: – всього – на одиницю продукції	Грн./од.	$\text{С} = \text{А} + \text{ОБК}$	45,6 млн. 396,5
7. Прибуток	Грн./од.	$\text{П} = \text{Ц} - \text{С}$	103,5
8. Рентабельність	%	$\text{Р} = (\text{П}/\text{С}) \times 100$	26%
9. Період повернення капіталовкладень	Років	$\text{Тпов} = \text{К}/\text{П}$	3,95
10. Фондовіддача виробничих фондів	Грн./грн.	$\text{ФВ} = (\text{Ц} \times \text{В})/\text{ОФ}$	2,33
11. Фондоємкість	Грн./грн.	$\text{ФЄ} = 1/\text{ФВ}$	0,429
12. Продуктивність праці	Грн./особу	$\text{ПП} = \text{В}/(\text{Чсп} \times \text{Т})$	28,6
13. Коефіцієнт економічної ефективності		$\text{Е} = \text{П}/\text{К}$	0,25

### 6.5. Концепція бізнес-моделі проекту та карта бізнес-процесів реалізації проекту

Мета стартап-проекту – апробація моделі діяльності підприємства при реалізації стартап-проекту у тому числі через формування бізнес-моделі.

Таблиця 6.19 – Карта бізнес-процесів виконання стартап-проекту

Стадія реалізації стартап-проекту	Бізнес-процеси		Характеристики		
			Задіяні ресурси	Орієнтовна тривалість процесу (дні)	Верхня межа фінансових витрат (грн)
Розробка ідеї стартапу	A1	Вибір цілі	Інформаційні	1	100
	A2	Оцінка новизни та актуальності	Інформаційні	2	100
	A3	Розрахунок стартового капіталу	Трудові, інформаційні	2	500
	A4	Оцінка факторів ризику	Трудові, інформаційні	2	500
	A5	Оцінка можливостей та загроз	Трудові, інформаційні	1	500
	A6	Оцінка варіантів розвитку ідеї	Основні критерії, аналітики	5	500

	A7	Формування ознак	Трудові, інформаційні	2	500
	A8	Створення паспорта клієнта	Трудові, інформаційні	7	500
	A9	Оцінка конкурентів	Трудові, інформаційні	7	200
	A10	Анкетування потенційних споживачів	Трудові, інформаційні	14	600
Реалізація ідеї	B1	Залучення інвестицій	Трудові, інформаційні	31	0
	B2	Передвиробничий маркетинг	Трудові, інформаційні	7	5000
	B3	Пошук приміщення	Трудові, інформаційні	7	100
	B4	Пошук обладнання	Трудові, інформаційні	14	100
	B5	Пошук партнерів	Трудові, інформаційні	20	100
	B6	Закупівля сировини	Трудові, інформаційні, матеріальні	5	50
	B7	Пошук робочої сили	Трудові, інформаційні	60	100
	B8	Створення технології, конструкції, моделювання	Трудові, інформаційні, нематеріальні	21	5 000
	B9	Затвердження технологічного процесу	Трудові, інформаційні	5	2 000
	B10	Тестування робітників	Трудові, інформаційні, нематеріальні	7	3 000
	B11	Навчання робітників	Трудові, інформаційні, нематеріальні	31	5 000
Впровадження у виробництво	C1	Оренда або купівля приміщення	Трудові, інформаційні, фінансові	5	1400000



	C2	Ремонт приміщення	Трудові, матеріальні, фінансові	90	30 000
	C3	Купівля обладнання	Трудові, матеріальні, фінансові	30	24 500 000
	C4	Повномасштабне виробництво	Трудові, фінансові, матеріальні, нематеріальні	7	2 680 000
	C5	Діагностика верстатів	Трудові	7	10 000
	C6	Контроль кінцевої продукції	Трудові	1	10 000
	C7	Стандартизація	Трудові, інформаційні, нематеріальні	7	10000
	C8	Вихід на ринок	Матеріальні, нематеріальні	2	40 000
Масова реалізація	D1	Залучення промоутерів	Трудові, фінансові, матеріальні	3	10 000
	D2	Запровадження акційних пропозицій	Трудові, фінансові, матеріальні	7	30 000
	D3	Інтернет реклама	Трудові, фінансові, матеріальні	7	10 000
Закриття або продаж проекту (у випадку низької рентабельності)	E1	Скорочення робочих місць	Інформаційні	2	0
	E2	Зменшення виробництва	Інформаційні	7	0
	E3	Зменшення робочих годин	Інформаційні	2	0
	E4	Перепродаж обладнання	Інформаційні	14	0
	E5	Продаж або здача в оренду приміщення	Інформаційні	14	0

На основі визначених етапів розписані відповідальних за реалізацію бізнес-процесів стартап-проєкту (табл. 6.20), визначені кадрові потреби стартап-проєкту на кожному з цих процесів.

Таблиця 6.20 – Системний аналіз бізнес-процесів стартапу

Функції	Елементи										
	Керівник	Технолог	Робітники (мікробіолог, апаратник, лаборант,)	Бухгалтер	Юрист	Маркетолог	Бізнес-аналітик	Інженер, начальник цеху	Менеджер із закупівель/продажів	Логіст	Менеджер проєкту
Вибір цілі	+										
Оцінка новизни та актуальності							+				
Розрахунок стартового капіталу	+										
Оцінка факторів ризику							+				
Оцінка можливостей та загроз							+				
Оцінка варіантів розвитку ідеї							+				
Формування ознак стартапу							+				
Створення паспорта клієнта						+	+				
Оцінка конкурентів							+				
Анкетування потенційних споживачів						+	+				
Залучення інвестицій	+										
Передвиробничий маркетинг						+					
Пошук приміщення	+								+		
Пошук обладнання	+							+	+		
Пошук партнерів	+										
Закупівля сировини	+			+				+	+	+	
Пошук працівників	+										+

Створення технології, конструкції, моделювання		+						+			
Затвердження технологічного процесу		+			+			+			
Тестування робітників		+	+								+
Навчання робітників		+	+								+
Оренда або купівля приміщення	+			+	+				+		
Ремонт приміщення			+								
Купівля обладнання	+	+		+					+	+	
Повномасштабне виробництво	+	+	+					+			+
Діагностика верстатів		+	+								
Контроль кінцевої продукції		+									+
Стандартизація		+									+
Вихід на ринок	+					+			+	+	
Залучення промоутерів						+			+		+
Запровадження акційних пропозицій						+			+		
Інтернет-реклама						+			+		
Скорочення робочих місць	+			+							+
Зменшення виробництва	+	+	+								
Зменшення робочих годин	+	+									+
Перепродаж обладнання	+			+					+	+	
Продаж або здача в оренду приміщення	+			+	+				+		

Забезпеченість стартап-проєкту кадрами потрібної кваліфікації і компетенції є запорукою реалізації проєкту.

## 6.6. Ризики стартап-проєкту та методи управління ними

Сформований перелік ризиків інноваційної розробки (поділити їх на внутрішні та зовнішні) відповідно до стадій реалізації стартап-проєкту (табл. 6.21). Ризики повинні перекликатися з загрозами та слабкими сторонами, що визначенні в пункті 2.2.

Таблиця 6.21 – Ризики інноваційної розробки

Назва процесу/стадії реалізації стартап-проєкту	Бізнес-процеси	Зовнішні ризики	Внутрішні ризики
Розробка ідеї стартапу	Вибір цілі		Ризики помилкового вибору напряму інноваційної діяльності
	Оцінка новизни та актуальності	Зміна рівня актуальності у зв'язку зі змінами зовнішніх умов	Ризики помилкового визначення рівня актуальності
	Розрахунок стартового капіталу	Зміна вартості стартових активів у зв'язку із кризою	Помилкова оцінка у розрахунку необхідного стартового капіталу
	Оцінка факторів ризику	Поява нових ризиків	Низький рівень досвіду
	Оцінка можливостей та загроз	Поява нових загроз та зникнення можливостей	Низький рівень досвіду
	Оцінка варіантів розвитку ідеї	Неефективно побудовані канали поширення інформації	Неефективна стратегія інноваційної діяльності підприємства
	Формування ознак		
	Створення паспорта клієнта	Зникнення у одній з груп клієнтів потреби у продукті	Помилковий вибір кола потенціальних споживачів
	Оцінка конкурентів	Поява нових вагомих конкурентів	
	Анкетування потенційних споживачів	Не репрезентативність вибірки у опитуванні	Помилковий вибір кола потенціальних споживачів
Реалізація ідеї	Залучення інвестицій	Відсутність зацікавленості у інвесторів	Неефективні методи залучення інвесторів

	Передвиробничий маркетинг		Неефективний підбір відповідних маркетингових стратегій пропагування та впровадження інновацій
	Пошук приміщення	Брак якісних баз нерухомості	Брак необхідних коштів
	Пошук обладнання	Брак якісних баз обладнання	Брак необхідних коштів
	Пошук партнерів	Незацікавленість партнерів	Помилкова стратегія залучення партнерів
	Закупівля сировини	Неякісна сировина	Брак необхідних коштів
	Пошук робочої сили	Плинність кадрів	Низький рівень досвіду у підборі персоналу
	Створення технології, конструкції, моделювання	Відсутність компетентних консультантів	Низький рівень досвіду у створенні технології, конструкції, моделюванні; Неефективний підбір відповідних технологій
	Затвердження технологічного процесу	Відсутність компетентних консультантів	Низький рівень досвіду; Неефективний підбір відповідних технологій
	Тестування робітників		Помилки у виборі акцентів тестування
	Навчання робітників		Брак навчальної бази
<b>Впровадження у виробництво</b>	Оренда або купівля приміщення	Зростання вартості оренди та купівлі нерухомості	Брак необхідних коштів
	Ремонт приміщення	Зростання вартості ремонтних робіт	Брак необхідних коштів; Неєфективний підбір підрядників
	Купівля обладнання	Зростання вартості обладнання, неякісне обладнання	Брак необхідних коштів
	Повномасштабне виробництво	Загальне погіршення економічної ситуації у світі	Брак необхідних коштів та площ, Неєфективний підбір відповідних технологій

	Діагностика верстатів	Брак професіоналів	Неефективний підбір майстрів
	Контроль кінцевої продукції		Недотримання стандартів
	Стандартизація	Зміна стандартів	Брак документальної бази
	Вихід на ринок	Брак ринків збуту	Вибір неефективної стратегії просування на ринок
<b>Масова реалізація</b>	Залучення промоутерів		Низький рівень співпраці
	Запровадження акційних пропозицій	Низький рівень відгуку на акційні пропозиції	Помилковий вибір маркетингової стратегії
	Інтернет реклама	Висока вартість реклами	Помилковий вибір рекламного майданчика
<b>Закриття або продаж проекту (якщо передбачено)</b>	Скорочення робочих місць		Відсутність необхідної кількості робочої сили
	Зменшення виробництва		Зниження рівня прибутку
	Зменшення робочих годин		Зниження обсягу виконаної роботи
	Перепродаж обладнання	Відсутність зацікавлених покупців	
	Продаж або здача в оренду приміщення	Відсутність зацікавлених покупців	

Для формування переліку ризиків необхідно провести їх ідентифікацію і здійснити оцінку кожного ризику (табл. 6.22). Оцінка ризиків – визначення ступеня ризиків на основі експертних висновків за критеріями ймовірності настання ризиків та їх впливу на очікуваний результат.

За ймовірністю настання ризиків оцінюються за критеріями:

– низької ймовірності виникнення (1) – це ризики, виникнення яких може відбутися у виняткових випадках;

– середньої ймовірності виникнення (2) – це ризики, які можуть виникнути зрідка, але випадки виникнення вже були;

– високої ймовірності виникнення (3) – це ризики, щодо яких існує велика ймовірність їх виникнення.

За впливом на очікуваний результат ризики оцінюються за критеріями:

– низького рівня впливу (1) – це ризики, вплив яких є мінімальним та/або невеликої тяжкості;

– середнього рівня впливу (2) – це ризики, вплив яких є середньої тяжкості;

– високого рівня впливу (3) – це ризики, вплив яких є тяжким та/або особливо тяжким.

Таблиця 6.22 – Ризики інноваційної розробки та ймовірність їх настання

Види ризиків	Назва ризику	Ймовірність настання	Вплив на очікуваний результат	Сумарне число
<b>Зовнішні ризики</b>				
Демографічний ризик	Зміна рівня актуальності у зв'язку зі змінами зовнішніх умов	3	3	9
Макроекономічний ризик	Зміна вартості стартових активів у зв'язку із кризою	3	3	9
Непередбачені ризики	Поява нових ризиків	2	1	2
Непередбачені ризики	Поява нових загроз та зникнення можливостей	2	1	2
Ризик бізнес-подій	Неефективно побудовані канали поширення інформації	1	2	2
Демографічний ризик	Зникнення у одної з груп клієнтів потреби у продукті	2	2	4
Макроекономічний ризик	Поява нових вагомих конкурентів	3	3	6
Науково-технічний ризик	Нерепрезентативність вибірки у опитуванні	1	2	2

Інвестиційний ризик	Відсутність зацікавленості у інвесторів	2	3	6
Ринковий ризик	Брак якісних баз нерухомості	2	2	4
Ринковий ризик	Брак якісних баз обладнання	2	2	4
Ризик бізнес-подій	Незацікавленість партнерів	1	2	2
Ринковий ризик	Неякісна сировина	2	3	6
Демографічний ризик	Плинність кадрів	3	2	6
Науково-технічний ризик	Відсутність компетентних консультантів	2	3	6
Ринковий ризик	Зростання вартості оренди та купівлі нерухомості	3	3	9
Ринковий ризик	Зростання вартості ремонтних робіт	2	3	9
Ринковий ризик	Зростання вартості обладнання	2	3	6
Науково-технічний ризик	Неякісне обладнання	1	3	3
Макроекономічний ризик	Загальне погіршення економічної ситуації у світі	3	3	9
Науково-технічний ризик	Брак професіоналів	2	3	9
Політико-законодавчий ризик	Зміна стандартів	1	2	2
Ризик ліквідності	Брак ринків збуту	1	3	3
Ризик ліквідності	Низький рівень відгуку на акційні пропозиції	1	2	2
Ринковий ризик	Висока вартість реклами	2	2	4
Ризик ліквідності	Відсутність зацікавлених покупців	1	3	3



Внутрішні ризики				
Інформаційний ризик	Ризики помилкового вибору напряму інноваційної діяльності	1	3	3
Інформаційний ризик	Ризики помилкового визначення рівня актуальності	1	3	3
Інформаційний ризик	Помилкова оцінка у розрахунку необхідного стартового капіталу	2	3	6
Інформаційний ризик	Низький рівень досвіду	3	2	6
Управлінський ризик	Неефективна стратегія інноваційної діяльності підприємства	2	2	4
Інформаційний ризик	Помилковий вибір кола потенціальних споживачів	1	2	2
Управлінський ризик	Неефективні методи залучення інвесторів	2	3	6
Управлінський ризик	Неефективний підбір відповідних маркетингових стратегій пропагування та впровадження інновацій	2	2	4
Ризик банкрутства	Брак необхідних коштів	3	3	9
Управлінський ризик	Помилкова стратегія залучення партнерів	2	2	4
Управлінський ризик	Низький рівень досвіду у підборі персоналу	2	1	2
Техніко-технологічний ризик	Неефективний підбір відповідних технологій	1	2	3
Інформаційний ризик	Помилки у виборі акцентів тестування	1	1	1

Інформаційний ризик	Брак навчальної бази	2	3	6
Ризик персоналу	Неефективний підбір підрядників	2	3	6
Ризик персоналу	Неефективна система мотивування працівників	2	3	6
Інформаційний ризик	Брак документальної бази	1	2	2
Управлінський ризик	Низький рівень співпраці	1	2	2
Організаційний ризик	Помилковий вибір маркетингової стратегії	3	3	9
Організаційний ризик	Помилковий вибір рекламного майданчика	1	2	2
Ризик персоналу	Відсутність необхідної кількості робочої сили	2	3	6
Ризик зниження фінансових показників	Зниження рівня прибутку	2	3	6
Ризик зниження фін. показників	Зниження обсягу виконаної роботи	3	2	6

Після заповнення таблиці 6.22 визначають ризики, що знаходяться у червоній та жовтій зонах (ЧЗ від 3 до 9 балів). Для обраних ризиків запропоновано методи управління ними (табл. 6.23).

Таблиця 6.23 – План заходів з управління ризиками

Назва ризику	Назва методу управління ризиком	Відповідальні виконавці	Період виконання /застосування методу	Очікувані результати від впровадження методів управління
Зміна рівня актуальності у зв'язку зі змінами зовнішніх умов	Стратегічне планування діяльності	Директор	1 місяць	Врахування реакцій на можливі зміни у стратегію
Зміна вартості стартових активів у зв'язку із кризою	Запозичення (кредитування)	Бухгалтер	1 місяць	Отримання додаткових коштів

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		154

Зникнення у одної з груп клієнтів потреби у продукті	Моніторинг соціально-економічного та правового середовища	Директор, Менеджер з реклами	7 днів	Вчасне виявлення потенціальної зміни попиту
Поява нових вагомих конкурентів	Моніторинг соціально-економічного та правового середовища	Директор	7 днів	Вчасне виявлення потенціальної зміни попиту
Відсутність зацікавленості у інвесторів	Активний цілеспрямований маркетинг	Менеджер з реклами	14 днів, періодичний повтор	Підвищення зацікавленості інвесторів
Брак якісних баз нерухомості	Здобуття додаткової інформації	Директор, Менеджер із закупівель/збуту	7 днів	Знаходження якісних варіантів
Брак якісних баз обладнання				Знаходження якісних варіантів
Відсутність компетентних консультантів		Директор		Знаходження компетентних консультантів
Неякісна сировина	Відмова від ненадійних партнерів, постачальників	Менеджер із закупівель/збуту; Інженер-технолог	7 днів	Запобігання використанню неякісної сировини
Плинність кадрів	Стратегічне планування діяльності	Директор, Менеджер з персоналу	1 місяць	Врахування плинності кадрів у стратегію
Зростання вартості оренди та купівлі нерухомості	Створення резервів; запозичення (кредитування); покриття збитку з поточного доходу	Директор, Бухгалтер	1 місяць	Отримання додаткових коштів та розподіл збитку
Зростання вартості ремонтних робіт				
Зростання вартості обладнання				
Неякісне обладнання	Відмова від ненадійних партнерів, постачальників	Менеджер із закупівель/збуту; Технік-технолог	7 днів	Запобігання використанню неякісного обладнання

Загальне погіршення економічної ситуації у світі	Прогнозування зовнішньої економічної ситуації; моніторинг соціально-економічного та правового середовища	Директор, Бухгалтер	7 днів	Готовність до прийняття кризової ситуації
Брак професіоналів	Здобуття додаткової інформації	Менеджер з персоналу	7 днів	Знаходження професіоналів
Брак ринків збуту		Менеджер із закупівель/збуту		Пошук нових ринків збуту
Висока вартість реклами	Створення резервів; покриття збитку з поточного доходу; пошук більш вигідних пропозицій	Бухгалтер; Менеджер з реклами	14 днів	Отримання додаткових коштів на рекламу та знаходження нових рекламних майданчиків
Відсутність зацікавлених покупців	Відмова від прийняття ризикованих проектів, рішень; Моніторинг соціально-економічного та правового середовища; Активний цілеспрямований маркетинг;	Менеджер із закупівель/збуту; Менеджер з реклами	7 днів	Збільшення попиту на продукцію
Ризики помилкового вибору напряму інноваційної діяльності	Здобуття додаткової інформації; прогнозування зовнішньої економічної ситуації; моніторинг соціально-економічного та правового середовища; відмова від прийняття ризикованих рішень	Директор	7 днів	Збільшення відповідності прийнятих рішень реальним можливостям і потребам
Ризики помилкового визначення рівня актуальності				
Помилкова оцінка у розрахунку необхідного стартового капіталу	Створення резервів; запозичення (кредитування); зменшення розміру збитків; лімітування; страхування; спонсорство	Бухгалтер	1 місяць	Отримання додаткових коштів

160

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		156

Низький рівень досвіду	Здобуття додаткової інформації; відмова від прийняття ризикованих проєктів, рішень	Директор	7 днів	Збільшення рівня знань у сфері
Неефективна стратегія інноваційної діяльності підприємства	Здобуття додаткової інформації; прогнозування зовнішньої економічної ситуації; моніторинг соціально-економічного та правового середовища; відмова від прийняття ризикованих рішень	Директор, Менеджер із закупівель/збуту	7 днів	Вибір більш ефективної стратегії
Неефективні методи залучення інвесторів	Прогнозування зовнішньої економічної ситуації; моніторинг соціально-економічного та правового середовища; активний цілеспрямований маркетинг	Директор, Менеджер з реклами	7 днів	Збільшення ефективності залучення інвесторів
Неефективний підбір відповідних маркетингових стратегій та впровадження інновацій	Моніторинг соціально-економічного та правового середовища; активний цілеспрямований маркетинг; здобуття додаткової інформації	Менеджер з реклами	7 днів	Збільшення ефективності
Брак необхідних коштів	Самострахування; створення резервів; запозичення (кредитування); страхування; спонсорство	Бухгалтер	1 місяць	Отримання додаткових коштів
Помилкова стратегія залучення партнерів	Прогнозування зовнішньої економічної ситуації; моніторинг соціально-економічного та правового середовища; активний цілеспрямований маркетинг	Директор; Менеджер з реклами	7 днів	Вибір правильної стратегії

Неефективний підбір відповідних технологій	Здобуття додаткової інформації; зменшення розміру збитків; стратегічне планування діяльності; створення резервів	Директор; Інженер-технолог; Технік-технолог	14 днів	Вибір ефективних технологій
Брак навчальної бази	Здобуття додаткової інформації	Директор; Інженер-технолог; Технік-технолог	7 днів	Поповнення навчальної бази
Неефективний підбір підрядників	Відмова від ненадійних партнерів, постачальників	Директор; Менеджер з підбору персоналу	7 днів	Покращення якості роботи
Неефективна система мотивування працівників	Здобуття додаткової інформації;	Менеджер з підбору персоналу	7 днів	Збільшення ефективності мотивування
Помилковий вибір маркетингової стратегії	Стратегічне планування діяльності; створення резервів	Менеджер з реклами; Бухгалтер	1 місяць	Вибір правильної стратегії
Відсутність необхідної кількості робочої сили	Надання гарантій, поручительства; страхування; створення резервів	Менеджер з підбору персоналу; Бухгалтер	1 місяць	Залучення необхідної робочої сили
Зниження рівня прибутку	Зменшення розміру збитків; стратегічне планування діяльності; створення резервів;	Бухгалтер	1 місяць	Запобігання зниженню прибутку
Зниження обсягу виконаної роботи	Зменшення розміру збитків; стратегічне планування діяльності; створення резервів;	Директор; Начальник цеху	1 місяць	Запобігання зниженню обсягу виконаної роботи

## Висновки

У межах розділу був розроблений стартап-проект, визначена бізнес-ідея, об'єкт дослідження. Вказано ринок збуту. Виконано аналіз зовнішнього та внутрішнього середовищ. За результатами аналізу можна зробити висновок, що

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						158
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

потенційний ринок є привабливим для входження, що обумовлюється високою рентабельністю у галузі та попитом на продукт стартапу, незважаючи на наявну конкуренцію. Проаналізувавши розраховані техніко-економічні показники проєкту, можна зробити висновок про те, що впровадження нової бізнес-ідеї позитивно відображається на ключових показниках підприємства. Розраховано приблизну ціну одиниці продукції, що дорівнює 515 грн / флакон. Собівартість проєкту становить 45,6 млн. грн, запланований прибуток – 11,9 млн. грн./рік. Проведена оцінка ризиків стартап-проєкту і визначені методи боротьби з ними.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						159
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## 7. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

### 7.1 Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях на підприємстві з виробництва рекомбінантного інсуліну людини

Забезпечення безпечної праці на виробництві гарантує відсутність нещасних випадків, стабільний кадровий потік і виконання запланованих показників. У перелік обов'язкових умов безпеки під час проведення трудової діяльності входить:

#### 1. Загальні положення

1.1. Організація і підтримання на належному рівні відповідної системи забезпечення якості й належне виробництво лікарських засобів багато в чому залежать від персоналу, що працює на підприємстві.

1.2. Люди, що працюють на підприємстві, повинні розробляти технологічну та нормативну документацію, виконувати встановлені в ній дії і/або оцінювати результати цих дій, а також приймати необхідні рішення.

Персонал, що працює в приміщеннях виробництва лікарських засобів класів чистоти А, В, С і D, є одним з основних джерел вторинної контамінації напівпродуктів і готової продукції механічними частинками і/або мікроорганізмами. Якість готових лікарських засобів залежить від підготовленості персоналу, його підходу до навчання, а також від ретельного виконання технологічних процесів.

1.3. На підприємстві має працювати достатня кількість кваліфікованих фахівців різного рівня, здатних вирішувати поставлені перед ними завдання і нести персональну відповідальність за їх виконання.

1.4. На підприємстві повинна бути схема організаційної структури виробництва, письмові посадові інструкції, інструкції, план-графік проведення навчання персоналу всіх рівнів та інструктажів, а також протоколи їх проведення.

1.5. Керівники вищого і середнього рівня повинні мати обов'язки, описані в посадових інструкціях, і відповідні повноваження для виконання цих обов'язків.

					БЕ0101.МД.ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Разроб.		Коровка К. А.			ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ	Стадія	Арк.	Акрушів
Конс.							160	181
Керів.		Зубченко Л. С.				КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ		
Затверд.								



1.6. В описаних посадовими інструкціями обов'язки персоналу всіх рівнів не повинно бути пропусків або непоясненого дублювання відповідальності.

1.7. Для виключення ризику зниження якості готової продукції коло обов'язків будь-якого співробітника не повинен бути занадто великим.

1.8. Кожен співробітник повинен добре знати, розуміти і ретельно виконувати встановлені в письмових посадових інструкціях обов'язки, а також безпосередньо пов'язані з його виробничої діяльності положення правил GMP.

1.9. Кожен співробітник підприємства повинен проходити первинне і подальше навчання в необхідному обсязі, включаючи інструктажі щодо особистої гігієни, техніки безпеки та інші, а також бути атестований.

1.10. Стан здоров'я персоналу повинно дозволяти йому виконувати посадові обов'язки без шкоди для здоров'я і без ризику для якості напівпродукту і / або готової продукції.

## 2. Стан здоров'я

2.1. При надходженні на роботу персонал повинен пройти попереднє медичне обстеження.

2.2. На підприємстві повинні бути розроблені і виконуватися інструкції, які регламентують стан здоров'я персоналу, порядок проведення медичних оглядів та правила допуску співробітників в приміщення для виробництва, контролю та зберігання. Ці інструкції повинні бути зрозумілі і неухильно дотримуватися всіма співробітниками підприємства. За дотриманням вимог даних документів повинні стежити керівники структурних підрозділів, відповідальні за їх дотримання.

2.3. Весь персонал підприємства, включаючи тимчасово працюючих, повинен проходити періодичні медичні огляди. Частота проведення оглядів залежить від характеру виробництва та умов праці персоналу.

2.4. Періодичні медичні обстеження за особливими показниками можуть проводитися частіше (наприклад, після перенесеного інфекційного захворювання).

2.5. Персонал, який здійснює візуальний контроль ін'єкційних препаратів, повинен проходити регулярні огляди лікарями окулістами.

2.6. Рекомендується перевіряти алергічну чутливість персоналу до продуктів і

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		161

матеріалів, з якими він працює.

2.7. На кожного співробітника підприємства повинна бути заведена медична карта, в якій вказують дату відвідування, діагноз, рекомендації, прізвище лікаря.

2.8. Співробітники відділу забезпечення якості або відділу по роботі з персоналом повинні регулярно перевіряти періодичність проведення медичних обстежень і наявність записів в медичній книжці.

2.9. До роботи, пов'язаної з виробництвом і контролем лікарських засобів не повинні допускатися носії патогенної мікрофлори; люди, які страждають на алергічні та шкірні захворювання або мають алергічні реакції на продукти і матеріали, з якими вони працюють; співробітники з підвищеним відділенням лупи.

2.10. Тимчасово, до нормалізації стану здоров'я, до роботи не повинні допускатися співробітники, які відчувають легкі нездужання або застуду, хворі на інфекційні захворювання або мають пошкодження шкіри різного ступеня на відкритих ділянках тіла.

2.11. Персонал повинен доводити до відома свого керівника про будь-які захворювання (шкірні, гострі респіраторні та інші захворювання), здатні негативно впливати на якість лікарських засобів.

### 3. Особиста гігієна персоналу

3.1. На підприємстві повинна бути розроблена детальна письмова програма проведення санітарно-гігієнічних заходів, що включає правила дотримання персоналом особистої гігієни, гігієни праці та носіння технологічного одягу, а також інструкції (процедури) з підготовки до роботи виробничих приміщень, обладнання, персоналу, технологічного одягу і оцінки якості їх підготовки. Вона може включати в себе вимоги до проведення моніторингу навколишнього середовища або бути частиною програми його проведення.

3.2. Кожен співробітник підприємства під час навчання повинен бути ознайомлений з програмою проведення санітарно-гігієнічних заходів. Вміщені в ній правила і вимоги повинні бути зрозумілі кожному співробітнику і повинні виконуватися.

3.3. Персонал, що працює на біотехнологічному підприємстві, повинен суворо

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		162

дотримуватися правил особистої гігієни. Слід регулярно приймати душ і мити голову, стежити за чистотою рук. Бажано носити коротку зачіску, а чоловікам не мати бороди і вусів.

3.4. Під час роботи в приміщеннях виробництва лікарських засобів забороняється використання косметики (туш для вій, тіні, олівці для брів і губ, рум'яна, губна помада, пудра, лак для нігтів і волосся та інші), а також надмірне застосування дезодорантів і парфумів.

3.5. Під час роботи в приміщеннях виробництва лікарських засобів забороняється носіння годинника і будь-яких ювелірних виробів.

3.6. У виробничих приміщеннях забороняється приймати їжу, пити, жувати жувальну гумку і т.п.

3.7. У виробничих приміщеннях не можна сякатися. Це слід робити в приміщеннях для підготовки персоналу, користуючись одноразовою носовою серветкою. Використаний носовичок слід кинути в ємність з кришкою, що відкривається ногою педаллю. Потім руки або рукавички необхідно продезінфікувати, а при виробництві стерильних лікарських засобів в цьому випадку може виникнути необхідність в заміні рукавичок.

3.8. Персонал повинен знати правила відвідування туалету. При необхідності відвідати туалет персонал повинен пройти в приміщення для підготовки персоналу, зняти технологічний одяг. Після відвідування туалету персонал повинен знову пройти повну обробку і надіти в залежності від умов виробництва той же або новий комплект технологічного одягу.

3.9. Руки або рукавички, якщо вони використовуються, під час роботи слід регулярно обробляти дезінфікуючими засобами.

#### 4. Правила поведінки під час роботи

4.1. У виробничі приміщення можуть входити тільки підготовлені для роботи в них співробітники.

4.2. У виробничих приміщеннях повинно знаходитися мінімально необхідне для нормального ходу виробничої діяльності число працюючих.

4.3. Вхід персоналу в приміщення виробництва лікарських засобів і вихід з

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						163
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

них повинен здійснюватися тільки через приміщення для підготовки персоналу. Вхід персоналу в приміщення вторинної упаковки може здійснюватися, минаючи приміщення для підготовки персоналу.

4.4. Увійшовши в виробниче приміщення, персонал повинен працювати там до перерви або до кінця зміни.

4.5. Інспекційні і контрольні процедури, особливо при виробництві стерильних лікарських засобів, бажано проводити за межами чистих зон.

4.6. Переміщення персоналу всередині виробничих приміщень повинні здійснюватися в певному порядку в залежності від характеру виконуваних виробничих операцій. Забороняється хаотичне безцільне ходіння по приміщеннях під час роботи або використання одних приміщень для проходу в інші.

4.7. Під час роботи рухи персоналу повинні бути повільними і плавними. При виробництві стерильних лікарських засобів персонал не повинен рухатися швидше, ніж швидкість повітряного потоку, наприклад, 0,4 м / с. Слід уникати різких, нервових або інших рухів, таких як чесання голови, потирання рук, торкання обличчя або інших частин тіла.

4.8. Слід уникати розмов на сторонні теми. Сміх, свист, спів, крик повинні бути заборонені, тому що при цьому збільшується число виділених з рота мікроорганізмів.

4.9. Все усне спілкування з людьми, що знаходяться поза виробничими приміщеннями, має відбуватися по телефону, селекторного зв'язку або за допомогою іншого переговорного пристрою.

4.10. Персонал може вносити в виробничі приміщення тільки необхідні для роботи предмети або матеріали.

4.11. Не можна залишати двері відкритими або різко відкривати і закривати.

4.12. При роботі у виробничих приміщеннях (зонах) класу чистоти А персонал повинен знати напрямок створюваного ламінарного потоку стерильного повітря і не розташовуватися між джерелом повітряного потоку і робочою зоною, щоб уникнути зміни напрямку потоку повітря.

4.13. Не можна нахилятися над продуктом або ємностями, особливо

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						164
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

відкритими. Не можна торкатися руками до вихідної сировини, допоміжних матеріалів, матеріалами первинної упаковки, напівпродуктів, а також до деяких частин обладнання, якщо це не передбачено технологічною документацією.

4.14. Не можна піднімати і використовувати предмети, що впали на підлогу під час роботи без їх попередньої обробки.

4.15. Персонал повинен повідомляти про всі порушення, а також несприятливі зміни санітарно-гігієнічного режиму або умовах навколишнього середовища свого керівника.

4.16. Якщо співробітник сумнівається з приводу проведення будь-якого дії, він повинен негайно звернутися за роз'ясненнями до свого керівника.

4.17. Персонал повинен бути проінструктований про шляхи евакуації і правила захисту продукту в аварійних ситуаціях (наприклад, аварійне відключення електроенергії, пожежа).

4.18. Кожна людина, що входить в виробниче приміщення, повинен бути одягнена в технологічний одяг.

4.19. У виробничі приміщення, в тому числі приміщення вторинної упаковки, не можна вносити:

- їжу, напої, солодощі, жувальну гумку;
- особисті ліки;
- предмети, пов'язані з курінням;
- радіоприймачі, плеєри, CD-програвачі, магнітофони і т.д. ;
- аерозольні балончики;
- газети, журнали, книги, паперові носові хустки;
- гаманці, ключі, футляри для окулярів і т.д.

У приміщення для виробництва стерильних лікарських засобів, крім того, не можна вносити:

- папір, не призначену для використання у виробничих приміщеннях;
- олівці, гумки, пір'яні ручки.

4.20. При виробництві стерильних лікарських засобів для записів слід використовувати кулькові ручки або фломастери, які не можна виносити з

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		165

виробничого приміщення, в якому вони використовуються. Не рідше 1 разу на зміну їх слід протирати розчином дезінфікуючого засобу. Після запису руки (рукавички) слід обробити розчином дезінфікуючого засобу.

## 5. Одяг персоналу

5.1. Одяг персоналу біотехнологічних підприємств підрозділяється на перехідний, технологічний і нижню білизну. У комплект одягу входять також додаткові приналежності, а саме: головні убори; маски і "екрани" для обличчя; взуття; бахіли; шкарпетки; рукавички. Дизайн і конструкція всіх предметів, що входять в комплект одягу, повинні відповідати чинним нормам і документам з охорони праці.

5.2. Перехідний одяг (халат, головний убір і змінне взуття або бахіли, що надягають на вуличне взуття) слід надягати в гардеробі, розташованому при вході в виробничу будівлю, і знімати в приміщенні для підготовки персоналу. Перехідний одяг може бути виготовлений з бавовняних тканин бязевої групи, лляних тканин або нетканих матеріалів (одноразовий).

5.3. При роботі у виробничих приміщеннях різних класів чистоти повинні використовуватися придатні для цих цілей комплекти технологічного одягу.

5.4. До технологічного одягу висувають такі основні вимоги:

- виділяти незначна кількість механічних частинок і мікроорганізмів;
- запобігати попаданню в навколишнє середовище механічних частинок і мікроорганізмів, що виділяються людиною;
- добре вбирати піт.

5.5. Технологічний одяг може бути зшитий з тканин (з поліефірних, поліамідних або поліпропіленових ниток, а також з суміші з поліефірних і бавовняних ниток), трикотажних полотен, нетканих або ламінованих матеріалів.

5.6. Технологічний одяг може бути призначений для одноразового (з нетканих матеріалів) і багаторазового використання.

5.7. Матеріал для пошиття одягу слід вибирати в залежності від класу чистоти приміщень, типу використовуваної на підприємстві одягу і умов експлуатації з урахуванням її вартості.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		166

5.8. Тканини та матеріали, що використовуються для пошиття технологічного одягу, повинні:

- відповідати встановленим гігієнічним вимогам;
- бути стійкими до стирання;
- легко оброблятися (прання, стерилізація);
- бути стійким до зминання (бажано);
- мати мінімальний вміст ворсу (при необхідності);
- мати антистатичні властивості (при необхідності);
- бути стійкими до дії хімічних реактивів (при необхідності).

5.9. Технологічний одяг має бути зручним в носінні і вільно прилягати по фігурі.

5.10. Для виключення незручностей, які виникають при носінні технологічного одягу (подрознення і пошкодження шкіри, недостатні повітро-і паропроникність тканини, можливість появи електростатичного заряду і інші), і для додаткового зниження числа виділяються людиною механічних частинок і мікроорганізмів рекомендується використання комплектів нижньої білизни.

5.11. У комплект нижньої білизни входять широкі штани і футболки. Довжина брюк і рукавів футболок може бути різною. Для виготовлення нижньої білизни використовують трикотажне полотно з поліефірних, поліамідних або порожніх синтетичних волокон, з довговолокнистої бавовни, двошарового трикотажу.

5.12. У приміщеннях класу чистоти D слід використовувати халат, куртку і штани або комбінезон, головний убір, відповідне взуття (тапочки або сабо) і, при необхідності, бахіли, що одягаються зверху на взуття. При виробництві нестерильних лікарських засобів допускається використання одягу з бавовняних тканин бязевих групи або лляних тканин.

5.13. У приміщеннях класу чистоти C слід використовувати комбінезон або куртку і штани, головний убір, відповідне взуття (тапочки або сабо) і / або бахіли, а при необхідності - маску і рукавички.

5.14. У приміщеннях класів чистоти A і B і в зоні A слід використовувати комбінезон з коміром-стійкою. Фабричні кромки повинні бути закладені, а шви

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						167
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

оброблені. На комбінезоні не повинно бути зайвих складок, внутрішніх і зовнішніх кишень. Головний убір повинен мати форму шолома-капюшона, що повністю закриває волосся, ніс, рот і підборіддя. Він повинен бути заправлений під комір. Робота повинна проводитися в стерильних рукавичках з еластичних полімерів, а також в стерильному або продезінфікованому взутті (тапочки або сабо). Зверху на взуття повинні бути одягнені бахіли, що повністю закривають ступню. Нижня частина штанів повинна бути заправлена в бахіли, а рукави комбінезона - в рукавички. Жодна частина тіла або нижньої білизни не повинна бути відкрита.

5.15. При виробництві нестерильних лікарських засобів в приміщеннях класів чистоти С і D слід використовувати чистий комплект технологічного одягу. Рекомендований термін носіння комплекту технологічного одягу при виробництві лікарського засобу одного найменування - не більше 5 днів.

5.16. При виробництві стерильних лікарських засобів кожному, хто входить в приміщення класів чистоти А, В і С або повертається в приміщення класів чистоти А і В слід видавати новий стерильний комплект технологічного одягу одноразового використання або стерильний комплект технологічного одягу багаторазового використання. При поверненні в приміщення класу чистоти С допускається використання того ж комплекту технологічного одягу.

5.17. Технологічний одяг необхідно прати або чистити таким чином, щоб він не зазнавав додаткового забруднення.

5.18. Чистий або стерильний одяг потрібно зберігатися в умовах, що запобігають його забрудненню.

5.19. Передача чистого або стерильного технологічного одягу і нижньої білизни в приміщення підготовки персоналу повинна здійснюватися через повітряний шлюз для матеріалів, передавальне вікно або безпосередньо в приміщення підготовки персоналу (при використанні прохідних стерилізаторів).

5.20. Якість підготовки одягу за показниками "Стерильність" (при виробництві стерильних лікарських засобів) або "Мікробна контамінація" (при виробництві нестерильних лікарських засобів) має регулярно контролюватися відповідно до програми моніторингу виробничого середовища або програмою проведення

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						168
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		



санітарно-гігієнічних заходів.

#### 6. Порядок підготовки персоналу до роботи

6.1. Площа, склад, компонування приміщень підготовки персоналу можуть бути різні в залежності від продукту, що виробляється, кількості працюючого персоналу, необхідність виділення окремих приміщень для персоналу різної статі.

6.2. У вбиральні, розташованій при вході в виробничу будівлю, співробітники знімають верхній одяг і взуття і надягають перехідний одяг і змінне взуття. Потім вони проходять в приміщення підготовки персоналу, яке доцільно розділити лавою з місцями для зберігання взуття в нижній частині. Лава призначена для умовного поділу етапів підготовки персоналу.

6.3. У першій частині приміщення підготовки персонал знімає з себе перехідний одяг, змінне взуття та особисті речі, залишаючи нижню білизну, і розміщує знятий одяг в індивідуальних шафах. Потім приймає душ (при необхідності), надягає індивідуальні тапочки і миє руки.

6.4. Для миття рук потрібно відкрити крани (рекомендується використовувати змішувачі, які приводяться в дію без допомоги рук) і змочити руки теплою водою. Бажано використовувати рідке мило, поміщене в дозатор. При виробництві стерильних лікарських засобів слід використовувати стерильні одноразові рушники, не ворсистих матеріалів.

6.5. Потім персонал повинен підійти до лави і сісти на неї. Сидячи на лаві, слід зняти тапочки, помістити їх без допомоги рук в індивідуальну комірку лави, перекинути ноги через лаву, повернутися на 180 град. і взяти з індивідуальної полиці шафи або стелажа пакети з комплектами технологічного одягу, нижньої білизни (якщо використовується) і взуттям. Упаковку, в яку був загорнутий одяг, слід помістити в ємність з кришкою, що відкривається ногою педаллю.

6.6. Друга частина кімнати служить для надягання нижньої білизни (якщо використовується), комплекту технологічного одягу і взуття, а також обробки рук розчинами дезінфікуючих засобів. При необхідності слід надіти рукавички.

6.7. Одяг слід надягати обережно, щоб він не торкався підлоги, стін та інших предметів. Всі деталі комплекту технологічного одягу повинні вдягатися зверху

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		169

вниз, заправляючи верхню частину під нижню.

6.8. У приміщенні підготовки персоналу бажано мати дзеркало, щоб людина могла перевірити, чи правильно він одягнений.

6.9. Рекомендується, щоб в приміщенні підготовки персоналу була інструкція (стандартна операційна процедура) по перевдягання, яка детально описує всі необхідні дії, або порядок підготовки персоналу був зображений у вигляді схеми.

6.10. При виробництві стерильних лікарських засобів вхід в приміщення, особливо класів чистоти А і В, доцільно здійснювати через повітряний шлюз, класу чистоти С - при необхідності. При необхідності вийти з виробничого приміщення персонал проходить ті ж процедури в зворотному порядку, минаючи повітряний шлюз.

6.11. Зберігання технологічного одягу, якщо він використовується знову при поверненні в виробниче приміщення, повинно забезпечити його мінімальне забруднення. Одяг може зберігатися на вішалках у шафах, на вішалках в ламінарному потоці стерильного повітря, в пакетах в шафах або на полицях стелажа. При зберіганні одягу можливе використання УФ-опромінення.

## **7.2 Охорона довкілля при функціонуванні підприємства з виготовлення рекомбінантного інсуліну людини**

### **1. Очищення стічних вод хіміко-фармацевтичних підприємств**

Стічні води після виробництва інсуліну представлені відпрацьованою культуральною рідиною, що містить залишки поживного середовища, залишки клітин та метаболіти, відпрацьованими розчинами після хроматографії (буферні розчини, розчини для елюції) та промивання колонок, відпрацьовані кристалізаційними розчинами. Також утворюються забруднені миючими та дезінфікуючими засобами стічні води.

Для очищення стічних вод застосовуються механічні, фізико-хімічні, електрохімічні, біохімічні та термічні методи. Їх можна поділити на деструктивні та регенеративні.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		170

Деструктивні методи засновані на руйнуванні речовин, що забруднюють воду, шляхом їх окиснення або відновлення. Продукти розпаду, що утворюються при цьому, видаляються з води або залишаються в ній у формі розчинних мінеральних солей.

Регенеративні методи полягають у вилученні або утилізації цінних речовин, що містяться у воді. Однак регенеративні методи далеко не завжди очищають воду до такого стану, в якому її можна скидати у водоймища.

Внаслідок очищення стічних вод утворюється велика кількість осадів, забруднених токсичними речовинами, схильних до загнивання та заражених патогенними мікроорганізмами. Вони можуть бути неорганічними або органічними із зразковим розподілом: білки (до 80%), жири (до 20%), вуглеводи (до 8%).

Способами утилізації органічних осадів стічних вод можуть бути такі, як:

- застосування їх як добрива (після нейтралізації токсичних речовин та зниження вмісту металів);
- термічна обробка для видалення органіки з подальшим використанням золи у виробництві будматеріалів, якщо це є екологічно безпечним;
- поховання на спеціальних майданчиках (спочатку організується вилучення важких металів із відходів).

Знезараження стічних вод.

Відповідно до санітарних правил щодо охорони поверхневих вод від забруднення, стічні води, небезпечні в епідеміологічному відношенні, повинні піддаватися знезараженню.

До найбільш поширених методів знезараження стічних вод в даний час належать: хлорування, озонування, ультрафіолетове опромінення (УФО) та їх поєднання. Крім того, перспективні технології знезараження, такі як гамма-опромінення, електричний імпульсний розряд, віброакустичний, термічний і т.д.

Знезараження слід організовувати на заключному етапі їх очищення, оскільки ефект залежить від стоку, що надходить на знезараження. Тому перед знезараженням необхідне їх механічне та біологічне очищення.

Для виробничих стічних вод мікробіологічних та біотехнологічних

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		171

виробництв, якщо це стічна вода, яка може містити біологічний агент перед скиданням в каналізацію рідкі відходи знезаражують, як правило, термічно або, рідше, хімічно.

## 2. Очищення викидів у повітря хіміко-фармацевтичних підприємств

Газоочисні та пиловловлюючі установки, що використовуються промисловими підприємствами, поділяють на технологічні та санітарні.

До перших відносяться споруди та апарати газоочищення та пиловловлення, включені в технологічний процес і не мають газових викидів в атмосферу, до других - споруди та апарати, що застосовуються з метою охорони атмосферного повітря від забруднень шкідливими технологічними та вентиляційними викидами.

В основі роботи апаратів, що використовують сухі методи очищення, лежать гравітаційні, інерційні та відцентрові сили. Залежно від цього апарати поділяються на кілька типів: пилоосаджувальні камери, пиловловлювачі, циклони, фільтри (волокнисті, тканинні, зернисті, пористі).

Система очистки відпрацьованого повітря дуже важлива на виробництві, так як з ферментера разом з повітрям в атмосферу викидається до 1010-1011 клітин мікроорганізмів і спор в 1 м<sup>3</sup>, що недопустимо з точки зору охорони навколишнього середовища. Очистка відпрацьованого повітря ускладнюється тим, що воно має дуже високу відносну вологість і звичайні фільтри тонкої очистки швидко псуються. Для очистки відпрацьованого повітря можна використовувати волого і термостійкі фільтри фірм "Палл" (ФРГ) або "Балстон". [61]

Для доочищення повітря використовують скрубери Вентурі, які є достатньо ефективними та економічно вигідними. [55].

## 3. Забруднення навколишнього середовища твердими промисловими відходами фармацевтичних підприємств

При виробництві генно-інженерного інсуліну людини з використанням рекомбінантної *E. coli* утворюються різного походження тверді відходи, зокрема відпрацьовані фільтрувальні матеріали, відпрацьовані сорбенти після хроматографічного очищення рекомбінантного білка та інші.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		172

Відпрацьовані повітряні фільтри повинні утилізуватися шляхом високотемпературного спалювання. Відпрацьовані іонобмінні смоли, які не піддають регенерації та повторному використанню.

Накопичення та тимчасове зберігання відходів на виробничій території здійснюється за цеховим принципом або централізовано. Умови збору та накопичення визначаються класом небезпеки відходів, способом упаковки та відображаються у Технічному регламенті (проекті, паспорті підприємства, ТУ, інструкції) з урахуванням агрегатного стану та надійності тари.

Критерієм граничного накопичення промислових відходів на території промислової організації служить вміст специфічних для даного відходу шкідливих речовин у повітрі на рівні до 2 м, яке не повинно бути вищим за 30% від ГДК у повітрі робочої зони.

Гранична кількість накопичення відходів на промислових територіях не нормується:

- для твердих відходів, концентрованих рідин та пастоподібних рідких та пастоподібних відходів I класу небезпеки, упакованих у повністю герметичну тару у закритому приміщенні, що унеможливило доступ сторонніх осіб;
- для твердих сипких і комковатих відходів II і III класу, що зберігаються у відповідності до вимог у надійно закритій металевій, пластиковій, дерев'яній та паперовій тарі.

Періодичність вивезення накопичених відходів із території підприємства регламентується встановленими лімітами накопичення промислових відходів, що визначені у складі проекту розвитку промислового підприємства або у самостійному проекті поводження з відходами.

Негайному вивезенню з території підлягають відходи при порушенні одноразових лімітів накопичення або при перевищенні гігієнічних нормативів якості довкілля людини (атмосферне повітря, ґрунт, ґрунтові води).

Транспортування промислових відходів поза підприємством здійснюється всіма видами транспорту - трубопровідним, канатним, автомобільним,

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						173
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

залізничним, водним та повітряним. Перевезення відходів від основного підприємства до допоміжних виробництв та на полігони складування здійснюється спеціально обладнаним транспортом основного виробника або спеціалізованих транспортних фірм.

Види токсичних промислових відходів у медичній промисловості, розміщення яких на полігонах ТПВ неприпустимо:

- відходи виробництва синтоміцину (бром, дихлоретан, метанол);
- відходи збагачення та шлами (солі важких металів) [18].

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						174
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## ВИСНОВКИ

В ході виконання магістерської дисертації обрано продуцент рекомбінантного інсуліну людини – грамнегативна бактерія *E.coli* BL21/PIK8-proins використання якої в промислових масштабах для отримання цільового продукту є оптимальним. Описано морфологічні, фізіологічні, культуральні та інші ознаки мікроорганізму *E. coli*. До основних переваг *E.coli* належать: висока продуктивність – 10 грамів інсуліну на дм<sup>3</sup> суспензії культури, високі рівні експресії, низька вартість, простота умов культивування, швидкий ріст, можливість зміни багатьох параметрів з метою оптимізації експресії, відсутність ендотоксинів.

Для промислового виробництва інсуліну людини обрано біотехнологічний метод з використанням модифікованого за г-ДНК-технологією штаму-продуценту *Escherichia coli*.

Кінцевий продукт виробництва — інсулін людини (Insulin Human), дрібнокристалічний порошок (нестерильна субстанція) білого або майже білого кольору.

В ході виробництва порошку інсуліну людини проходять стадії виробничого біосинтезу, деінтеграції біомаси, відмивання тілець включення, рефолдингу, тобто відновлення нативної структури білка, катіоннообмінної та аніонообмінної хроматографічних очисток, гідролізу, іонообмінної хроматографічної очистки «сирого» інсуліну з наступною кристалізацією, фільтрацією і висушуванням кристалів інсуліну людини, в результаті чого отримують нестерильну субстанцію, порошок інсуліну людини.

Розраховано матеріальний баланс однієї партії продукції. З 1 циклу культивування вихід готового цільового продукту становить 1,847 кг. Розраховано технологічні параметри та конструктивні особливості основного виробничого

					БЕ0101.МД.ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Коровка К. А.			ВИСНОВКИ	Стадія	Арк.	Аркушів
Конс.							175	181
Керів.		Зубченко Л. С.				КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ		
Затверд.								

обладнання – виробничого ферментера, об'єм якого складає 0,16 м<sup>3</sup> з механічним перемішуючим пристроєм – відкритою турбінною мішалкою з частотою обертання валу 180 об/хв та коефіцієнтом заповнення 0,7. Розрахунки підтверджують надійність та працездатність конструкції.

Розроблено схему автоматизації з точками технологічного контролю. Серед параметрів, що контролюються можна виділити такі параметри як температура, тиск, рН, рівень піни, витрати повітря. Обрано параметри автоматичного регулювання. Передбачено встановлення технологічної сигналізації.

Визначено собівартість виробництва рекомбінантного інсуліну дюдени, що становить 45,6 млн загалом, 396,5 грн за флакон.

Були розроблені заходи щодо забезпечення чинних вимог охорони праці і пожежної безпеки. Наведені заходи з охорони навколишнього середовища.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
						176
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		



## ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. A. P. Lazarev, .V. R. Luciv I. E. Kostetskii, I. L. Lisovsky, I. P. Lesik "Method for producing human recombinant insulin ", US 2012/0058513, 2012
2. American Diabetes Association (2018) Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. Diabetes Care, 41(Suppl. 1): S73–S85.
3. Chen J.-Q., Zhang H.-T., Hu M. H., Tang J.-G., "Production of human insulin in an E. Coli system with met-lys-human proinsulin as the expressed precursor" Applied Biochemistry and Biotechnology, 1995, v. 55, p.5-15.
4. European Pharmacopeia 8th Edition. Strasbourg, France. 2014. 8.02 Version.
5. [https://uk.wikipedia.org/wiki/Eli\\_Lilly\\_and\\_Company](https://uk.wikipedia.org/wiki/Eli_Lilly_and_Company)
6. Nilson J., Jonasson P., Samuelsson E., Stahl S., Uhlen M. "Integrated production of human insulin and its C-peptide", Journal of biotechnology, 1996, v.48, p.241-250.
7. Serres MH, Riley M. Genomics and metabolism in Escherichia coli. In The Prokaryotes: An Evolving Electronic Database for the Microbiological Community Edited by Dworkin M, et al New York: Springer-Verlag, 2000.
8. Vasiljević, J., Torkko, J.M., Knoch, KP. et al. The making of insulin in health and disease. Diabetologia 63, 1981–1989 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00125-020-05192-7>
9. Баирамашвили Д. И., Зинченко А. А., Косарев С. А. и др. Концептуальные подходы к масштабированию производства генноинженерного инсулина человека. В: Сб. мат. 1-го Межд. Конгр. «Биотехнология – состояние и перспективы развития», М., 2002, с. 177
10. Баирамашвили Д.И. / Генно-инженерный Инсулин Человека: Успехи и Перспективы // Рос. Хим. Ж. 2005. Т.XLIX. №1. С.34-45.
11. Балаболкин М.И. 35-я ежегодная конференция Европейской Ассоциации по изучению диабета. Сахарный диабет. 2001, № 12, с. 35-40.
12. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. Патогенез ангиопатий при сахарном диабете. Сахарный диабет. 1999, №1, с. 212-285.
13. В. В. Береговых, А. П. Мешковский. "Нормирование фармацевтического производства. Обеспечение качества продукции". М., ЗАО ИИА "Ремедиум", 2001 г., 527 с.
14. Виестур У. 3. Биотехнология, биотехнологические агенты, технология, аппаратура / У. 3. Виестур, И. А. Шмите, А. В. Жилевич. – Рига, Знание, 2001. – 253 с.
15. Гусаров Д. О., Разработка эффективной технологии получения фармацевтических препаратов генно-инженерного инсулина и его аналогов, 2009

					<i>БЕ0101.МД.ПЗ</i>		
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
<i>Разроб.</i>		<i>Корабка К. А.</i>			<b>ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ</b>	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>
<i>Конс.</i>							<i>Акрушів</i>
							177
<i>Керів.</i>		<i>Зудченко Л. С.</i>				<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ</i>	
<i>Затверд.</i>							
							181

16. Гусарова В. Д., Разработка эффективного способа получения рекомбинантного белка Проинсулина человека из тел включения штамм-продуцента E.coli, 2010
17. Д. И. Баирамашвили, Д. О. Гусаров, В. Л. Давыдов, О. О. Зинченко, С. А. Косарев, В. О. Ласман, А. И. Мирошников, О. В. Михалев, О. Д. Шибанова, Способ получения генно-инженерного инсулина человека RU2322504C1, 2006
18. Д. Т. Балпанова, Т. Байзолданов, А.С. Кожамжарова Очистка сточных вод предприятий фармацевтической отрасли // Вестник КазНМУ. 2013. №5-3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ochistka-stochnyh-vod-predpriyatiy-farmatsevticheskoy-otrasli>.
19. Иванкин А.Н., Миталева С.И., Неклюдов А.Д. // Биосинтез и выделение рекомбинантного белка с целью получения генно-инженерного проинсулина человека // Прикладная биохимия и микробиология 1998. т.34. №3. с.293-299.
20. Ключниченко В.Е., Якимов С.Л., Мальцев К.В., Арутюнян А.М., Иванов А.Е., Вульфсон А.Н. / Генно-Инженерный Инсулин Человека // Биоорганическая химия. 1992. Т. 18. №2. С. 1478-1486.
21. Ключниченко В. Е., Вульфсон А. Н. / Генно-инженерный инсулин человека. II. Эксклюзивная ВЭЖХ биотехнологических предшественников. Факторы, влияющие на разрешение и селективность // Биоорг. химия 1993. т. 19. №2ю с.174-181.
22. Коледова Е.А. Современные проблемы инсулинотерапии. Сахарный диабет. 2001, № 12, с. 66-69.
23. Краснопольский Ю. М. Фармацевтическая биотехнология: Учебное пособие / Ю. М. Краснопольский, А. С. Дудниченко, В. И. Швеиц. – Харьков, НТУ «ХПИ», 2011. – 228 с.
24. Купцов В.Н., Байдусь А.Н., Шматченко Н.А., Борисов Н.В., Гор-кун Т.А., Борисова Т.Ю., Степанов А.В. / Оптимизация Условий Ферментативного Гидролиза При Производстве Генно-Инженерного Инсулина Человека. // Биотехнология. 2006. № 4. С.27-32.
25. Купцов В. Н. Оптимизация процесса производства отечественного генно-инженерного инсулина человека / В. Н. Купцов. – М.: Авт. дис. на соиск. уч. степ. к.биол.н., 2007. – 28 с.
26. Купцов В. Н., Оптимизация процесса производства отечественного генно-инженерного инсулина человека, 2007
27. Л.И. Патрушев / Искусственные генетические системы, т.1 Генная и белковая инженерия // М: «Наука». 2004.
28. Ленинджер А.Л. Биохимия. Молекулярные основы структуры и функции клетки. Пер. с английского Москва, Мир, 1974.
29. Обучение GMP - ключ к современному фармацевтическому производству. Ремедиум, 2000, N 9, с. 45.
30. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. М.: Просвещение, 1987, с.247-249.
31. ОСТ 42-510-98. Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств (GMP).
32. Панин Л.Е., Тузиков Ф.В., Потеряева О.Н. / Синтез Фрагментов Инсулина и Изучение их Физико-Химических и Иммунологических Свойств // Биоорганическая Химия. 1997. Т.23. №12. С.953-960.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		178

33. Патент GB 694530A Manufacture of crystalline insulin preparations. Inventor: Hoechst AG, published 22.07.1953.
34. Патент GB2173503A Purification of insulin. Inventor: Peter Slonina, Ulrich Krabiell, Gudrun Derle. Current Assignee: Berlin Chemie AG, published 15.10.1986.
35. Патент GB729670A Improved process for the production of insulin in crystalline form and crystalline insulin produced thereby. Inventor: Karl Petersen, Jorgen Schlichtkrull. Current Assignee: NOVO TERAPEUTISK LABOR AS, published 11.05.1955.
36. Патент RU2141531C1 Способ получения рекомбинантного инсулина человека Ю.Т. Калинин, Н.Н. Ураков, В.Т. Иванов, А.В. Степанов, А.И. Мирошников, В.Г. Гавриков, Д.И. Баирамашвили, И.А. Донецкий, В.Г. Коробко, Т.И. Костромина, В.А. Гуляев М.А. Литвиненко А.Н. Байдусь В.И. Коробов В.А. Красильников Н.В. Борисов, Н.А. Шматченко, И.И. Воротникова, О.Г. Горкун, В.И. Дербьшев, В.Н. Ноздрин, И.А. Дунайцев, М.Ю. Липин, И.И. Бекмуратова, В.А. Кобелева, А.П. Шепелин, М.Н. Мартовецкий, В.С. Федюкин, Л.И. Абросимова, опубл. 20.11.1999.
37. Патент RU2208637C1 Способ получения генно-инженерного инсулина человека Inventor А.А. Зинченко, Т.Д. Мелихова, Е.А. Нокель, Е.А. Гордеева, Д.Н. Толстов, А.В. Михалев, Т.И. Костромина, Д.И. Баирамашвили, А.И. Мирошников, В.Т. Иванов, опубл. 20.07.2003.
38. Патент RU2322504C1 Способ получения генно-инженерного инсулина человека Д. И. Баирамашвили, Д. А. Гусаров, В. Л. Давыдов, А. А. Зинченко, С. А. Косарев, В. А. Ласман, А. И. Мирошников, А. В. Михалев, Е. Д. Шибанова, опубл. 20.04.2008.
39. Патент US 2006167221A Process for the extraction and isolation of insulin from recombinant sources. Inventor: Maharaj Sahib, Edupuganti Raju, Umesh Shaligram. Current Assignee: Wockhardt Ltd, published 27.10.2009.
40. Патент US2005080000A Method of purifying preproinsulin. Inventor: Horst Thurow, Hans Blumenstock, Chantalle Havenith. Current Assignee: Sanofi Aventis Deutschland GmbH, published 14.04.2005.
41. Патент US3649456A Separation of polypeptide substances with macroreticular resins. Inventor: Peter L De Benneville, Heinz W Blessing. Current Assignee: Rohm and Haas Co, published 14.09.1972.
42. Патент US3907676A Process for purifying insulin. Inventor: Klavs Holger Jorgensen. Current Assignee: NOVO TERAPEUTISK LABOR AS NOVO TERAPEUTISK LABORATORIUM AS, published 23.09.1975.
43. Патент US4129560A Process for the purification of high molecular weight peptides using non-ionic detergents. Inventor: Manfred Zoltobrocki. Current Assignee: Hoechst AG, published 12.12.1978.
44. Патент US5278284A Protein purification method. Inventor: Lance T. Lusk, Henry Goldstein. Current Assignee: Miller Brewing Co, published 11.01.1994.
45. Патент US5504188A Preparation of stable zinc insulin analog crystals. Inventor: Jeffrey C. Baker, Nancy D. Carter, Bruce H. Frank. Current Assignee: Eli Lilly and Co, published 02.04.1996.

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		179

46. Патент US5633350A Method for the isolation and purification of vitamin K-dependent proteins. Inventor: Bernhard Fischer, Artur Mitterer, Friedrich Dörner. Current Assignee: Baxalta Innovations GmbH Baxalta GmbH Baxalta Inc, published 27.05.1997.
47. Патент US6451987B1 Ion exchange chromatography of proteins and peptides. Inventor: Arne Staby. Current Assignee: Novo Nordisk Health Care AG, published 17.09.2002.
48. Патент WO 9834953A1 Crystallisation of proteins. Inventor: Jean Lesley Whittingham, Per Balschmidt, published 13.08.1998.
49. Патрушев Л.И. Искусственные генетические системы, т.1. Генетическая и белковая инженерия. М.: Наука, 2004, с. 171-173.
50. Проектування реакторів біотехнологічних та фармацевтичних виробництв [Електронний ресурс] : навчальний посібник / НТУУ «КПІ» ; уклад.: Л. І. Ружинська, І. А. Буртна, В. М. Поводзинський, В. Ю. Шибельський. – Електронні текстові дані (1 файл: 10,7 Мбайт). – Київ : НТУУ «КПІ», 2014. – 131 с.
51. Регламент «Виробництво інсуліну людини рекомбінованого, порошку нестерильної субстанції» ПрАТ «Індар».
52. Сергеев Н.В. Использование инструментальных микрометодов анализа для поэтапного контроля процесса получения рекомбинантного инсулина человека. Диссертация к.х.н. ИБХ РАН. Москва. 2000 г. с. 92.
53. Староверов С.М. / Хроматография в Отечественной Фармацевтической Промышленности // Рос. Хим. Фарм. Ж. 2003. Т.XLVII. №1. С.111-118.
54. Уайт В. "Технология чистых помещений. Основы проектирования, испытаний и эксплуатации". М., "Клирум" 2002, 297 с.
55. Филатов О. Ю., И. Ю. Малышев. Клеточные биотехнологии в эндокринологии. Учебн. пособие – М., 2010.–198 с.
56. Фрадкин В. , Шуман Е. Дрожжи в борьбе с сахарным диабетом. Deutsche Welle, 2010.– С. 5-7.
57. Харитонов, В. Г. Получение и исследование рекомбинантного белка из клеток *E. coli* - продуцента генно-инженерного инсулина человека
58. Хиць А.Р. Підсумки 2019: що змінилось у світовій медицині. Редакція журналу «Український медичний часопис», 20.01. 2020..
59. Щорічна доповідь про стан здоров'я населення, санітарноепідемічну ситуацію та результати діяльності системи охорони здоров'я України. 2017 рік / МОЗ України, ДУ «УІСД МОЗ України». – Київ : МВЦ «Медінформ», 2018. – 458 с.
60. Коровка К. Аналіз технологій виробництва інсуліну людини. Матеріали Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Тенденції та перспективи розвитку науки і освіти в умовах глобалізації»: Зб. наук. праць. Переяслав, 2021. Вип. 76. – с. 322-325.
61. Коровка К. Характеристика рекомбінантного штаму *Escherichia coli* як продуцента інсуліну людини. Матеріали ХІ Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Проблеми та перспективи розвитку сучасної науки в країнах Європи та Азії» // Збірник наукових праць. – Переяслав, 2021 р. – с. 6-8

					БЕ0101.МД.ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		180

# ДОДАТОК

## Специфікація обладнання виробництва інсуліну людини

Позиція	Найменування	Кіль- кість	Примітка
Пр-41	Пробірка	3	
К-42	Колба	3	
Т-43	Термостат	1	
Пф-46	Посівний ферментер	1	Неірж. Сталь 316L
Д-1, Д-2, Д-4, Д-5, Д-19, Д-22, Д-23 Д-27, Д-28, Д-31, Д-33, Д-35, Д-45, Д-47, Д-52, Д-55, Д-57, Д-60, Д-63, Д-67, Д-68, Д-71, Д-73, Д-77, Д-79, Д-82, Д-83, Д-84, Д-87, Д-89, Д-90	Об'ємно-ваговий дозатор	31	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
ФВ-48	Виробничий ферментер	1	Неірж. Сталь 316L
Р-3, Р-6, Р-20, Р-26, Р-28, Р-32, Р-34, Р-51, Р-56, Р-59, Р-62, Р-72, Р-78, Р-81	Реактор-змішувач	14	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Н-21, Н-26, Н-30, Н-44, Н-49, Н-61, Н-64, Н-69, Н-75, Н-85	Насос відцентровий	10	Збірний
Сеп-65, Сеп-68, Сеп-74	Сепаратор	3	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Хк-70, Хк-77, Хк-86	Хроматографічна колона	3	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Пм-94	Пакувальна машина	1	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Ф-8, Ф-11, Ф-13, Ф-17, Ф-18, Ф-36	Фільтр	5	Збірний
Зп-7	Повітрозабірник	1	Збірний
В-9, В-14	Вентилятор	2	Збірний
Нк-10	Нагрівальна колонка	1	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Фш-91	Фільтр Шотта	1	
Сш-92	Сушильна шафа	1	
Кр-66, Кр-88	Кристалізатор	2	
Д-55	Дезінтегратор	1	
Рс-16	Ресивер	1	Збірний
То-15	Теплообмінник	1	
Гм-93	Гомогенізатор	1	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Ц-50, Ц-58	Центрифуга	2	Неірж. сталь 12Х18Н10Т

					БЕ0101.МД.ПЗ		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Коробка К. А.			СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	Стадія	Арк.
Конс.							181
							181
Керів.		Зудченко Л. С.				КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ	
Затверд.							