Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЛИНИНГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

С. В. Агафонова

ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

Учебно-методическое пособие по изучению дисциплины для студентов,
обучающихся в бакалавриате по направлению подготовки
19.03.01 Биотехнология

Калининград
Издательство ФГБОУ ВО «КГТУ»
2022

УДК 60

Рецензент
кандидат технических наук, доцент кафедры пищевой биотехнологии
ФГБОУ ВО «КГТУ» Е. С. Землякова

Агафонова, С. В.

Основы биотехнологии: учеб.-методич. пособие по изучению дисциплины для студ. бакалавриата по напр. подгот. 19.03.01 Биотехнология / С. В. Агафонова – Калининград: Изд-во ФГБОУ ВО «КГТУ», 2022. – 51 с.

В учебно-методическом пособии по изучению дисциплины «Основы биотехнологии» представлены учебно-методические материалы по освоению тем лекционного курса, включающие план лекции по каждой изучаемой теме, вопросы для самоконтроля для направления подготовки – Биотехнология, форма обучения очная.

Табл. 2, список лит. – 12 наименований

Учебно-методическое пособие по изучению дисциплины рассмотрено и рекомендовано к опубликованию кафедрой пищевой биотехнологии 17 мая 2022 г., протокол № 9

Учебно-методическое пособие по изучению дисциплины рекомендовано к изданию в качестве локального электронного методического материала методической комиссией института агроинженерии и пищевых систем ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет» 15 июня 2022 г., протокол № 7

УДК 60

© Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Калининградский государственный технический университет», 2022 г.
© Агафонова С. В., 2022 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 4
1 МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИЗУЧЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ 6
2 МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПОДГОТОВКЕ К ЛАБОРАТОРНЫМ РАБОТАМ 36
3 МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ КУРСОВОЙ РАБОТЫ 40
ГЛОССАРИЙ 42
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК 49

ВВЕДЕНИЕ

Целью освоения дисциплины «Основы биотехнологии» является формирование у студентов знаний основ биотехнологии и навыков по разработке технологии получения продукции с использованием микробиологического синтеза.

Задачи изучения дисциплины:

- освоение теоретических основ биотехнологии, инженерной энзимологии и генной инженерии;
- освоение методов выделения и очистки биопрепаратов;
- формирование навыков организации и проведения контроля качества сырья, промежуточных продуктов и готовой продукции;
- знакомство с современным биотехнологическим оборудованием.

В результате освоения дисциплины обучающийся должен:

знать:

- основные объекты биотехнологии и методы работы с ними;
- методы генной инженерии, принципы рекомбинации генов;
- основные принципы организации биотехнологического производства, его структуру, методы оценки эффективности производства;
- способы культивирования микроорганизмов, вирусов и животных клеток, биохимические и физико-химические процессы, протекающие в биореакторах, методы выделения и очистки целевого продукта;
- основы энзимологии, методы иммобилизации ферментов и клеток, принципы иммунного анализа;
- важнейшие производства промышленной, медицинской, сельскохозяйственной, экологической, пищевой биотехнологии.

уметь:

- проводить идентификацию, подбирать условия выделения и культивирования микроорганизмов-продуцентов;
- оптимизировать условия биотехнологического производства заданного продукта, оценивать технологическую эффективность производства;
- разрабатывать технологические схемы, основываясь на свойствах целевого продукта.

владеть:

- методами проведения стандартных испытаний по определению показателей физико-химических свойств сырья и продукции;
- методами технического контроля за соблюдением технологической дисциплины в условиях действующего биотехнологического производства;

- методами моделирования и масштабирования биотехнологического процесса;

-методами планирования, проведения и обработки результатов биотехнологических экспериментов;

- навыками получения, выделения и очистки биологически активных веществ.

При реализации дисциплины «Основы биотехнологии» организуется практическая подготовка путем проведения лабораторных работ, предусматривающих участие обучающихся в выполнении отдельных элементов работ, связанных с будущей профессиональной деятельностью.

Для успешного освоения дисциплины «Основы биотехнологии», студент должен активно работать на лекционных и лабораторных занятиях, организовывать самостоятельную внеаудиторную деятельность.

Промежуточная аттестация проводится в виде экзамена, к которому допускаются студенты, освоившие темы курса и имеющие положительные оценки.

К экзамену допускаются студенты:

- положительно аттестованные по результатам текущей аттестации;

- получившие положительную оценку по результатам лабораторного практикума;

- получившие положительную оценку по курсовой работе.

Для успешного освоения дисциплины «Основы биотехнологии» в учебно-методическом пособии по изучению дисциплины приводится краткое содержание каждой темы занятия, перечень ключевых вопросов для подготовки лабораторных работ.

При необходимости для обучающихся инвалидов или обучающихся с ОВЗ предоставляется дополнительное время для подготовки ответа с учетом его индивидуальных психофизических особенностей.

1 МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИЗУЧЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ

Осваивая курс «Основы биотехнологии», студент должен научиться работать на лекциях, лабораторных занятиях и организовывать самостоятельную внеаудиторную деятельность. В начале лекции необходимо уяснить цель, которую лектор ставит перед собой и студентами. Важно внимательно слушать, отмечать наиболее существенную информацию и кратко ее конспектировать; сравнивать то, что услышано на лекции с прочитанным и усвоенным ранее материалом, укладывать новую информацию в собственную, уже имеющуюся, систему знаний. По ходу лекции необходимо подчеркивать новые термины, определения, устанавливать их взаимосвязь с изученными ранее понятиями.

На лекциях рассматриваются основные понятия и определения по дисциплине, объекты и методы биотехнологии; основные принципы организации биотехнологического процесса культивирования микроорганизмов; продуценты, использующиеся в биотехнологических процессах и питательные среды для их культивирования; типы биореакторов для культивирования; процессы, лежащие в основе выделения и очистки продуктов биотехнологического синтеза; основы и методы генетической инженерии; объекты и методы экологической биотехнологии.

Тематический план лекционных занятий представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Объем (трудоемкость освоения) и структура лекционных занятий

Номер темы	Содержание лекционного курса	Кол-во часов лекционных занятий
1	2	3
1	Введение. Роль биотехнологии в современном мире. Задачи биотехнологии	1
2	Объекты и методы биотехнологии	2
3	Биотехнологический процесс культивирования микроорганизмов	3
4	Параметры роста микроорганизмов	1
5	Методы культивирования растительных клеток и микроводорослей	2
6	Методы культивирования клеточных культур животных и человека	2
7	Методы выделения и очистки продуктов биотехнологии	4

Окончание таблицы 1

1	2	3
8	Промышленное получение продуктов биотехнологии	4
9	Инженерная энзимология	2
10	Изучение механизмов хранения и передачи наследственной информации	3
11	Основы генетической инженерии	4
12	Экологическая биотехнология	2
Итого		30

Если лектор приглашает студентов к дискуссии, то необходимо принять в ней активное участие. Если на лекции студент не получил ответа на возникшие у него вопросы, он может в конце лекции задать эти вопросы лектору курса дисциплины.

Тема 1. Введение. Роль биотехнологии в современном мире. История развития биотехнологии

Ключевые вопросы темы:

1. Понятие биотехнологии как науки. История развития биотехнологии. Эмпирический, этиологический, биотехнический, генотехнический периоды. Роль биотехнологии в сельском хозяйстве, топливной промышленности, переработке отходов, химической промышленности, пищевой промышленности, медицине, генной инженерии. Производство ферментных препаратов.
2. Приоритетные направления биотехнологии.
3. Задачи биотехнологии. Красная, белая, голубая, зеленая, серая биотехнология.

Методические рекомендации

Первая тема курса «Основы биотехнологии» позволит обучающимся получить представление о базовых понятиях дисциплины, в ней также определяется место изучаемого материала в системе научного знания и его взаимосвязь с другими дисциплинами.

При изучении первого вопроса необходимо ознакомиться с историей развития биотехнологии. Важно проследить основные этапы становления науки, ключевые открытия каждого из четырех этапов развития науки: эмпирического, этиологического, биотехнического, генотехнического. Следует рассмотреть роль биотехнологии в современных отраслях промышленности (топливной, химической, пищевой), сельском и лесном хозяйстве, медицине. Особое

внимание уделяется производству ферментных препаратов, которые находят широкое применение в различных сферах.

При изучении второго вопроса необходимо рассмотреть приоритетные направления современной биотехнологии, такие, как повышение безопасности биотехнологического производства для человека и окружающей среды, снижение доли отходов производственной деятельности, внедрение энергосберегающих технологий, разработка медицинских препаратов.

При изучении третьего вопроса необходимо изучить задачи современной биотехнологии. В зависимости от решаемых задач и сфер применения нужно выделить и рассмотреть виды биотехнологии, так называемые «красную», «белую», «голубую», «зеленую», «серую» биотехнологии.

Вопросы для самоконтроля:

1. Дайте определение понятию «биотехнология».
2. Назовите периоды развития биотехнологии.
3. Назовите важнейшие события биотехнического периода.
4. Какую роль играет биотехнология в современном сельском хозяйстве?
5. Какова роль биотехнологии в пищевой промышленности?
6. Каким образом биотехнология решает задачи переработки отходов?
7. Какова роль биотехнологии в топливной промышленности и энергетике?
8. Назовите приоритетные направления биотехнологии.
9. Назовите основные задачи биотехнологии.

Тема 2. Объекты и методы биотехнологии

Ключевые вопросы темы:

1. Вирусы. Вироиды. Общая характеристика, классификация, строение. Использование в биотехнологии.

2. Бактерии. Общая характеристика, классификация, строение. Авто- и хемотрофные микроорганизмы. Аэробные и анаэробные микроорганизмы. Использование в биотехнологии.

3. Грибы. Общая характеристика, классификация, строение. Микро- и макромицеты. Использование в биотехнологии.

4. Растения. Общая характеристика, классификация, строение. Багрянки, водоросли, высшие растения. Использование в биотехнологии.

5. Клетки животных и человека. Общая характеристика, строение. Использование в биотехнологии.

6. Методы биотехнологии.

Методические рекомендации

Целью изучения второй темы курса является формирование у обучающихся общих представлений об объектах и методах биотехнологии.

Первый вопрос темы посвящен изучению вирусов и вироидов. Рассматривают строение этих организмов, их особенности, позволяющие использовать их в качестве объектов биотехнологии. Необходимо уяснить общие принципы использования вирусов для конструирования векторных молекул и для производства вакцин.

Второй вопрос темы посвящен изучению обширной группы объектов биотехнологии – бактерий. Вначале необходимо рассмотреть классификацию бактерий, выделив две основные группы: архебактерии и эубактерии, ознакомиться с представителями каждой из них. Нужно ознакомиться с видами бактерий в зависимости от их источников питания (автотрофы и гетеротрофы), отношения к кислороду (аэробы, анаэробы). Необходимо уделить внимание подробному изучению строения бактериальной клетки, уяснить общие принципы использования бактерий для получения биотехнологических продуктов.

Третий вопрос посвящен изучению грибов как биотехнологических объектов. Необходимо рассмотреть представителей двух групп – микромицетов и макромицетов, их особенности. Нужно изучить их строение, основные принципы использования в биотехнологии.

При изучении четвертого вопроса необходимо рассмотреть водоросли, багрянки, высшие растения в качестве биотехнологических объектов. Особое внимание необходимо уделить изучению строения растительной клетки, ее особенностям. Необходимо рассмотреть основные направления применения растительных объектов для получения биотехнологических продуктов – некоторых биологически активных веществ.

Пятый вопрос темы посвящен изучению клеток животных и человека как биотехнологических объектов. Нужно уделить внимание строению животной клетки, ее особенностям. Необходимо сделать акцент на принципиальных отличиях животных клеток от растительных и микробных, обусловливающих особенности их применения для получения биотехнологических продуктов.

При изучении шестого вопроса необходимо рассмотреть основные методы биотехнологии. Особое внимание нужно уделить методам обеспечения стерильности (асептики) биотехнологического процесса.

Вопросы для самоконтроля:

1. Перечислите объекты биотехнологии.
2. Что представляют собой вирусы? Каков размер вирусных частиц? Какие особенности для них характерны?

3. Опишите строение вирусной частицы.
4. Каковы области применения вирусов в биотехнологии?
5. Что такое бактерии? Какие группы бактерий вы знаете?
6. Изобразите строение бактериальной клетки.
7. Как классифицируют бактерии в зависимости от используемых ими источников питания?
8. Как называются бактерии, для которых кислород является ограничивающим жизнедеятельность фактором?
9. Приведите примеры использования бактерий в биотехнологии.
10. Чем отличаются водоросли от высших растений?
11. Изобразите строение растительной клетки. Наличие каких органелл характерно только для растительной клетки?
12. Приведите примеры использования растительных клеток в биотехнологии.
13. Изобразите строение животной клетки. В чем заключается ее основное отличие от растительной клетки?
14. Приведите примеры использования клеток животных и человека в биотехнологии.
15. Какие методы используется в биотехнологии? Каким образом обеспечивается стерильность биотехнологического процесса?

Тема 3. Биотехнологический процесс культивирования микроорганизмов

Ключевые вопросы темы:

1. Понятие культивирования микроорганизмов. Питательные среды. Классификация, состав. Натуральные, полусинтетические, синтетические среды. Жидкие, полужидкие, плотные и сыпучие питательные среды. Основные, специальные, элективные, дифференциально-диагностические среды. Подготовка, стерилизация питательных сред.
2. Подготовка штамма к культивированию. Понятие накопительной и чистой культуры.
3. Биореакторы (ферментеры). Основные типы, конструкции. Теплообмен и массопередача в биореакторе. Системы аэрации, перемешивания, асептики и пеногашения. Классификация методов культивирования микроорганизмов. Принцип масштабирования биотехнологического процесса.
4. Периодическое глубинное культивирование. Кривая роста микроорганизмов. Ферментеры для периодического культивирования микроорганизмов. Устройство аэрлифтного ферментера периодического действия.

5. Непрерывное культивирование микроорганизмов. Тубулярная культура, хемостатное и турбидостатное культивирование. Ферментеры для непрерывного культивирования микроорганизмов.

6. Твердофазное культивирование. Виды ферментеров для твердофазного культивирования.

7. Подходы к культивированию анаэробных микроорганизмов. Анаэростат. Культивирование на вязких питательных средах, на средах с низким окислительно-восстановительным потенциалом.

Методические рекомендации

Целью изучения темы курса является формирование у обучающихся знаний о биотехнологическом процессе культивирования микроорганизмов.

При освоении первого вопроса необходимо рассмотреть понятие питательной среды для микроорганизмов, удовлетворяющей их потребности в основных элементах. Нужно ознакомиться с различными видами питательных сред в зависимости от их состава (натуральные, полусинтетические, синтетические), агрегатного состояния (жидкие, полужидкие, плотные, сыпучие) и назначения (основные, специальные, элективные, дифференциально-диагностические). Требуется уделить внимание приемам изготовления питательных сред, в особенности их стерилизации.

При изучении второго вопроса рассматривают понятия чистой и накопительной культуры микроорганизмов, приемы их выделения.

Третий вопрос темы посвящен изучению оборудования, предназначенного для культивирования микроорганизмов – биореакторов. Необходимо в общих чертах рассмотреть конструкции биореакторов, их типы. Изучить устройство систем аэрации, перемешивания, асептики и пеногашения в биореакторах различных типов. Нужно уделить внимание принципам классификации процессов культивирования микроорганизмов.

При изучении четвертого вопроса необходимо рассмотреть процесс периодического глубинного культивирования микроорганизмов. Важным является изучение фаз, которые проходит биомасса при данном способе культивирования (лаг-фаза, фаза ускоренного роста, экспоненциальная фаза, фаза замедленного роста, стационарная фаза, фаза отмирания). Нужно рассмотреть кривую роста микроорганизмов, описывающую данные фазы. Следует уделить внимание оборудованию, предназначенному для периодического глубинного культивирования, в качестве примера рассмотреть устройство аэрлифтного ферментера. Необходимо уяснить достоинства и недостатки такого способа выращивания микроорганизмов.

Пятый вопрос посвящен изучению способов непрерывного культивирования микроорганизмов. Нужно рассмотреть несколько вариантов реализации такого процесса: тубулярный, хемостатный и турбидостатный. Требуется усвоить основное различие между хемостатным и турбидостатным процессами. Требуется в общих чертах рассмотреть устройство биореакторов для непрерывного культивирования микроорганизмов. Необходимо уяснить достоинства и недостатки каждого метода выращивания микроорганизмов.

При изучении шестого вопроса следует уяснить, каким образом в промышленности реализуется процесс культивирования на твердых питательных средах.

При изучении седьмого вопроса темы рассматривают подходы к культивированию анаэробных микроорганизмов. Требуется изучить следующие подходы: регулирование состава и свойств питательной среды (использование вязких сред, сред с низким окислительно-восстановительным потенциалом); использование специальных анаэростатов – биореакторов, позволяющих удалять воздух из камеры культивирования.

Вопросы для самоконтроля:

1. Что такое культивирование микроорганизмов?
2. Какие требования предъявляются к питательным средам для культивирования микроорганизмов?
3. Каково назначение элективных и дифференциально-диагностических питательных сред?
4. Дайте определения понятиям «чистая» и «накопительная» культура.
5. Каким образом классифицируют биореакторы в зависимости от способа перемешивания культуральной среды?
6. Каким образом может быть реализовано пеногашение в биореакторе?
7. Каким образом в биореакторах осуществляется подвод и отвод тепла?
8. Представьте и опишите кривую роста микроорганизмов при периодическом глубинном культивировании.
9. На какой фазе роста микроорганизмы наиболее устойчивы к смене условий культивирования?
10. Что представляет собой тубулярная культура? Каковы ее преимущества и недостатки?
11. Как реализуются и чем различаются хемостатный и турбидостатный процессы культивирования? Каковы их преимущества и недостатки?
12. Каким образом в промышленности реализуется культивирование на твердых субстратах? Приведите примеры.
13. Что такое анаэростат? Как он устроен?

14. Какие подходы к изготовлению питательных сред позволяют избежать воздействия кислорода на анаэробные микроорганизмы при культивировании?

Тема 4. Параметры роста микроорганизмов

Ключевые вопросы темы:

1. Основные параметры, описывающие рост микроорганизмов. Абсолютная скорость роста, удельная скорость роста.
2. Кинетика потребления субстрата. Экономический коэффициент. Уравнение Моно. Уравнение Иерусалимского.

Методические рекомендации

Четвертая тема курса посвящена изучению параметров, характеризующих рост микроорганизмов. Необходимо изучить выражение удельной и абсолютной скорости роста, числа клеточных делений в единицу времени, времени генерации культуры. Нужно освоить метод определение экономического коэффициента через полученный урожай биомассы. Важным является изучение зависимости скорости роста культуры от концентрации лимитирующего субстрата по уравнению Моно, при этом необходимо освоить графический метод нахождения значения его параметров. Рассматривают зависимость скорости роста культуры от концентрации продуктов метаболизма, ингибирующих ее, по уравнению Иерусалимского. Важным является освоение графического метода определения параметров уравнения.

Вопросы для самоконтроля:

1. По какой формуле определяется абсолютная скорость роста микроорганизмов?
2. По какой формуле определяется удельная скорость роста микроорганизмов?
3. Какое уравнение описывает рост микроорганизмов в экспоненциальной фазе?
4. Что такое время генерации? Как оно определяется?
5. Что такое экономический коэффициент? В каких единицах он измеряется?
6. Дайте определение понятию «лимитирующий субстрат».
7. Какое уравнение описывает зависимость скорости роста культуры от концентрации лимитирующего субстрата? Представьте это уравнение.
8. Изобразите графическое нахождение константы Моно по методу Лайнуивера и Бэрка и методу Корниш-Боудена.

9. Изобразите графическое нахождение константы уравнения Иерусалимского.

Тема 5. Методы культивирования растительных клеток и микроводорослей

Ключевые вопросы темы:

1. Тотипотентность растительной клетки. Каллус. Особенности каллусной ткани. Фитогормоны. Ауксины, цитокинины, гиббереллины.
2. Питательные среды для культивирования растительных клеток. Среда Мурасиге и Скуга, Ганборга и Эвелега, среда Уайта. Условия культивирования: освещение, температура, влажность воздуха, аэрация.
3. Методы культивирования каллусных клеток. Твердофазное культивирование. Глубинное суспензионное культивирование.
4. Получение и культивирование растительных протопластов.
5. Растительные клетки как продуценты некоторых важных биологически активных веществ. Основные проблемы при культивировании растительных клеток.
6. Водоросли *Chlorella* и *Arthrospira*. Строение, состав. Микроводоросли как источники белка. Питательные среды для культивирования микроводорослей. Среда Заррука. Условия культивирования: освещение, температура, pH среды. Биореакторы для культивирования микроводорослей.

Методические рекомендации

Пятая тема курса посвящена изучению методов культивирования растительных клеток и микроводорослей.

При изучении первого вопроса темы необходимо ознакомиться с важным свойством растительной клетки – тотипотентностью. Нужно изучить механизмы дедифференциации растительных клеток и образования каллусной ткани. Особое внимание необходимо уделить изучению различных групп фитогормонов, индуцирующих образование каллуса у растений. Важным является изучение строение и функций некоторых представителей ауксинов (бета-индолил-3-уксусная кислота), цитокининов (кинетин, 6-бензиламинопурин, зеатин), гиббереллинов (гибберелловая кислота).

При изучении второго вопроса темы нужно ознакомиться с питательными средами, предназначенными для культивирования растительных клеток. Необходимо уделить внимание подробному изучению состава среды Мурасиге и Скуга как наиболее универсальной питательной среды. В общих чертах нужно ознакомиться с назначением и составом питательных сред Ганборга и Эвелега,

Уайта. Важным является изучение условий культивирования растительных клеток, таких, как температура, освещенность, аэрация и влажность воздуха.

Третий вопрос посвящен изучению двух применяемых на практике методов культивирования растительных клеток: твердофазного и глубинного суспензионного. Необходимо уяснить подготовительные и основные операции биотехнологического процесса.

При изучении четвертого вопроса рассматривают еще один способ культивирования растительных клеток – в виде протопластов. Необходимо ознакомиться с порядком действий при получении растительных протопластов и их культивировании.

При изучении пятого вопроса нужно уяснить целесообразность использования растительных клеток и тканей в качестве продуцентов уникальных биологически активных веществ. Необходимо рассмотреть группы веществ, обладающих фармакологической активностью, которые на сегодняшний день могут быть получены только из растительных объектов. Важно обратить внимание на сложность биотехнологического процесса культивирования растительных клеток, выделив при этом часто возникающие проблемы и пути их решения.

При изучении шестого вопроса нужно рассмотреть микроводоросли, относящиеся к родам *Chlorella* и *Arthrospira*, в общих чертах ознакомиться с их строением, составом биомассы. Необходимо уяснить определяющую подходы к культивированию данных объектов особенность – способность микроводорослей к фотосинтезу. Нужно обратить внимание на высокое содержание белка и биологически активных веществ в биомассе водорослей. Необходимо рассмотреть питательные среды для культивирования микроводоросли, подробно изучив состав среды Заррука. Следует изучить условия, необходимые для накопления биомассы микроводорослей, особенности конструкций биореакторов.

Вопросы для самоконтроля:

1. Что такое тотипотентность растительной клетки?
2. Что представляет собой каллусная ткань?
3. Каковы условия образования каллусной ткани?
4. Какие группы фитогормонов вы знаете? Приведите примеры.
5. Какие питательные среды для культивирования растительных клеток вы знаете? Какие компоненты они содержат?
6. Какие фитогормоны наиболее часто включаются в состав питательных сред для культивирования растительных клеток?

7. Опишите порядок действий при культивировании растительных клеток на твердой питательной среде.

8. Опишите порядок действия при культивировании растительных клеток на жидкой питательной среде.

9. Что представляют собой растительные протопласты? Как их получить?

10. Какие биологически активные вещества получают из выращенных в условиях *in vitro* растительных клеток?

11. Какие основные проблемы могут возникать при культивировании растительных клеток?

12. Что представляют собой *Chlorella* и *Arthrospira*? Для каких целей в промышленности получают их биомассу?

13. Из каких компонентов состоят питательные среды для культивирования микроводорослей? Приведите пример питательной среды.

Тема 6. Методы культивирования клеточных культур животных и человека

Ключевые вопросы темы:

1. Особенности клеточных культур животных и человека, определяющие подходы к их выращиванию *in vitro*. Характеристики штаммов. Продукты, получаемые при культивировании клеток животных и человека.

2. Методы культивирования клеточных культур животных и человека. Глубинное культивирование в монослое, суспензионное культивирование. Инкапсулирование клеток в микроносители. Факторы адгезии белков. Фибронектины. Оптимальные условия культивирования.

3. Питательные среды для клеточных культур животных и человека. Естественные и синтетические питательные среды. Состав питательных сред. Среда Игла, среда 199, среда Финкера.

4. Эмбриональные и другие ткани для репродукции вирусов и получения вакцин. Получение вакцин при репродукции вирусов в куриных эмбрионах.

Методические рекомендации

Изучение темы позволит сформировать у обучающихся понятия о методах и особенностях работы с клеточными культурами животных и человека при их выращивании *in vitro*.

В первом вопросе темы рассматриваются особенности строения клеток животных и человека, обусловливающие приемы их культивирования. Необходимо изучить характеристики клеток и тканей, которые являются важными при выборе объекта для культивирования и организации

биотехнологического процесса (качество исходной ткани, тип ткани, принадлежность ткани, источник ткани). Нужно кратко ознакомиться с биотехнологическими продуктами, которые получают при культивировании клеток животных и человека.

При рассмотрении второго вопроса необходимо изучить подходы к культивированию клеток животных и человека – глубинное выращивание в монослое и выращивание в виде суспензионной культуры. Особое внимание уделяют изучению фибронектинов – факторов адгезии клеток к поверхности, позволяющих вести культивирование в монослое.

Обучающиеся должны ознакомиться с питательными средами, предназначенными для культивирования клеток животных и человека, изучить их состав. Для примера рассматривают состав среды Игла, среды 199, среды Финкера.

Прежде чем приступать к изучению биотехнологического процесса репродукции вирусов для получения вакцин необходимо рассмотреть строение куриного эмбриона. Нужно зарисовать схематически его строение, уделив внимание расположению аллантоисной полости. Затем необходимо рассмотреть порядок действий при введении вирусного материала в эмбрион, его инкубировании для размножения вирусных частиц и производстве вакцины на основе полученного вирусного материала.

Вопросы для самоконтроля:

1. Чем процесс культивирования клеточных культур животных и человека принципиально отличается от выращивания микроорганизмов?
2. Назовите оптимальные условия культивирования клеток животных и человека.
3. Что такое предел Хейфлика?
4. Какие биотехнологические продукты можно получить только при культивировании клеточных линий животных и человека?
5. За счет чего осуществляется адгезия клеток к поверхности?
6. Чем по своей природе являются фибронектины?
7. Какие питательные среды для выращивания клеточных культур животных и человека вы можете назвать?
8. На основе каких компонентов изготавливаются естественные питательные среды для клеток животных и человека?
9. Какие ткани, клетки и организмы используются для репродукции вирусов?

10. В какую часть куриного эмбриона вводится вирусный материал для его репродукции? При каких условиях происходит размножение вирусных частиц в курином эмбрионе?

11. Назовите основные этапы изготовления вакцины. Какие требования предъявляются к готовым препаратам?

Тема 7. Методы выделения и очистки продуктов биотехнологии

Ключевые вопросы темы:

1. Классификация методов разделения биомассы и культуральной жидкости. Седиментация. Коагуляция и флокуляция. Преимущества и недостатки метода.

2. Центрифугирование и сепарация. Ультрацентрифугирование. Осадительные центрифуги и центробежные сепараторы. Преимущества и недостатки метода.

3. Фильтрация. Микрофильтрация. Ультрафильтрация. Фильтрация через ситовую перегородку и фильтрация через слой осадка. Фильтрование через намывной слой порошка. Барабанные вакуум-фильтры.

4. Флотация. Устройство флотатора. Флотореагенты. Барботажная и напорная флотация. Электрофлотация.

5. Классификация методов дезинтеграции клеток. Физико-механические методы. Размол, экструзия, перемешивание, декомпрессия, ультразвуковое воздействие. Преимущества и недостатки.

6. Немеханические методы дезинтеграции клеток. Лизис физический (осмотический шок, замораживание-оттаивание), химический (детергенты, антибиотики, реагенты) и ферментативный (автолиз, ферментолиз, фаголизис, обработка пенициллином). Сушка. Преимущества и недостатки.

7. Экстракционные методы выделения продуктов метаболизма. Многоступенчатое и противоточное экстрагирование. Экстрагенты. Сверхкритическая флюидная экстракция. Сверхкритические экстрагенты. Преимущества сверхкритической флюидной экстракции.

8. Сорбционные методы выделения продуктов биосинтеза. Ионообменные смолы. Катионообменники и анионообменники. Адсорбция микропористыми сорбентами.

9. Хроматография. Основные понятия. Подвижная и неподвижная фазы. Классификация методов хроматографии. Жидкостная и газовая хроматография. Эксклюзионная хроматография (гель-фильтрация). Сорбенты и элюенты. Виды сорбентов. Хроматографические колонки. Аффинная хроматография. Биоспецифическое взаимодействие продукта с лигандом. Иммуносорбция.

Методические рекомендации

Седьмая тема курса позволяет сформировать у обучающихся знания о методах выделения и очистки биотехнологических продуктов, полученных при культивировании того или иного продуцента. Вначале необходимо рассмотреть самый первый этап – отделение клеток продуцента от культуральной жидкости и различные методы его реализации.

При изучении первого вопроса обучающиеся должны изучить методы седиментации биотехнологических продуктов. Нужно рассмотреть процессы коагуляции и флокуляции, как вспомогательные операции для осаждения продукта, используемые для этих целей реагенты. Требуется выделить преимущества и недостатки данного метода.

Второй вопрос посвящен изучению методов центрифугирования при отделении биотехнологических продуктов. Обучающие должны уяснить физические основы процесса центрифугирования, усвоить понятие центробежных сил, рассмотреть влияние различных факторов (плотность жидкости и частиц, вязкость жидкости, скорость центрифугирования, радиус центрифуги) на скорость и эффективность осаждения частиц. Необходимо в общих чертах рассмотреть конструкции применяемого в промышленности оборудования: центрифуг и сепараторов. Требуется выделить преимущества и недостатки данного метода при отделении клеток и очистке продукта.

При изучении третьего вопроса необходимо ознакомиться с основными подходами при фильтровании культуральной среды. Нужно рассмотреть понятия «фильтрация», «микрофильтрация», «ультрафильтрация», уделив внимание размерам отделяемых при этих операциях частиц. Необходимо изучить методы фильтрования культуральной жидкости через ситовую перегородку, через намывной слой осадка, через намывной слой фильтровального порошка, выделив преимущества и недостатки каждого метода. Следует в общих чертах рассмотреть промышленное оборудование для фильтрации.

При изучении четвертого вопроса нужно рассмотреть понятие флотации как способа выделения клеток из культуральной жидкости. Необходимо ознакомиться с устройством флотатора, изучить такие виды флотации как пневматическая, барботажная, напорная, электрофлотация.

Пятый и шестой вопросы темы посвящены изучению методов дезинтеграции клеток для извлечения из них продуктов метаболизма. Обучающие должны рассмотреть две группы методов дезинтеграции клеток: физико-механические (размол, экструзия, перемешивание, декомпрессия, ультразвуковое воздействие) и немеханические (осмотический шок, замораживание-оттаивание, использование детергентов, антибиотиков, реагентов, автолиз, ферментолиз, фаголизис, обработка пенициллином, сушка). Нужно изучить оборудование, вспомогательные

вещества, применяемые в каждом методе, преимущества и недостатки. Важно уяснить, для каких клеток подходит тот или иной способ дезинтеграции.

Седьмой вопрос посвящен изучению методов экстракции биотехнологических продуктов. Вначале необходимо рассмотреть процесс экстракции классическими экстрагентами, выделив такие виды как экстрагирование с перемешиванием, противоточное экстрагирование, многоступенчатое экстрагирование, экстрагирование в неподвижном слое. Нужно ознакомиться с конструкциями промышленных экстракторов. Далее важно уделить внимание основам сверхкритической флюидной экстракции. При этом студенты должны изучить сверхкритические экстрагенты, в особенности диоксид углерода, для выделения продуктов биотехнологии. Важно подробно рассмотреть фазовую диаграмму диоксида углерода для закрепления понятий «флюид», «тройная точка», «критическая точка». Требуется выделить преимущества и недостатки данного метода экстрагирования.

Восьмой и девятый вопросы посвящены изучению сорбционных методов выделения и очистки биотехнологических продуктов. Вначале рассматривают процесс выделения при использовании в качестве сорбентов ионообменных смол (ионный обмен). Необходимо рассмотреть механизм ионного обмена при использовании катионообменных и анионообменных смол. Отдельно нужно изучить выделение адсорбцией при использовании микропористых сорбентов. Важно уделить внимание различным видам сорбентов, их характеристикам (размер пор).

Важным вопросом темы является изучение хроматографических методов очистки биопрепаратов, как частных вариантов сорбции. Необходимо уяснить основные понятия и определения «хроматография», «сорбент», «элюент», рассмотреть классификацию хроматографических методов. Наиболее подробно обучающиеся должны изучить два варианта: эксклюзионную и аффинную хроматографии. Нужно рассмотреть использующиеся в каждом случае сорбенты, устройство хроматографических колонок и порядок работы с ними.

Вопросы для самоконтроля:

1. Дайте определения понятиям «седиментация», «коагуляция», «флокуляция».
2. Для отделения каких клеток может применяться седиментация? В чем недостатки этого метода?
3. За счет чего происходит разделение частиц при центрифугировании? Чем различаются центрифугирование и ультрацентрифугирование?
4. Какие факторы влияют на скорость и эффективность осаждения частиц

при центрифугировании?

5. Какое оборудование используется в промышленности для разделения центрифугированием?

6. Частицы какого размера отделяются при фильтрации, ультрафильтрации и микрофильтрации?

7. В чем преимущество фильтрации через слой осадка перед фильтрацией через ситовую перегородку?

8. Из чего состоят используемые для фильтрования порошки?

9. Каким образом в промышленности реализуется фильтрация культуральной среды?

10. Что такое флотация? Опишите устройство флотатора.

11. Какие клетки целесообразно отделять флотацией?

12. Какие виды флотации вы знаете? В чем заключаются особенности каждого из них?

13. Какие физико-механические методы дезинтеграции клеток вы можете назвать? За счет какого воздействия осуществляется разрушение клеток в каждом из них?

14. Дайте определение понятию «осмотический шок». При каких воздействиях клетки будут разрушены в этом случае?

15. За счет чего происходит разрушение клеток при замораживании и последующем оттаивании?

16. Какие ферменты можно использовать для дезинтеграции клеток? В чем разница между понятиями «автолиз» и «ферментолиз»?

17. Дайте определение понятию «экстракция». Каким образом реализуется процесс экстракции в промышленности?

18. Дайте определение понятию «флюид». При каких условиях диоксид углерода находится в состоянии флюида?

19. Опишите механизм сверхкритической флюидной экстракции. Для извлечения каких веществ она применяется?

20. Какие сорбционные методы выделения и очистки продуктов биотехнологии вы знаете?

21. Дайте определение понятию «хроматография». Какие виды хроматографии вы знаете?

22. Какие вещества являются сорбентами в эксклюзионной хроматографии?

23. Опишите порядок действий при работе с хроматографической колонкой для эксклюзионной хроматографии.

24. В чем заключается особенность аффинной хроматографии? Какие вещества можно разделять с ее помощью?

Тема 8. Промышленное получение продуктов биотехнологии

Ключевые вопросы темы:

1. Микроорганизмы как источники белка, получение белковых продуктов. Биологическая ценность белка одноклеточных организмов. Применение белка одноклеточных организмов в кормовых и пищевых целях.

2. Получение белковых продуктов при культивировании микроорганизмов на углеводных субстратах. Состав питательных сред. Штаммы. Условия культивирования. Получение белка при культивировании дрожжей. Технологическая схема, оборудование. Смешанное культивирование при переработке сусла. Характеристика белковых продуктов, получаемых из углеводных субстратов.

3. Получение белковых продуктов при культивировании микроорганизмов на жидких углеводородах. Состав питательных сред. Штаммы. Условия культивирования. Получение белка в многосекционных аппаратах при утилизации парафинов. Характеристика готовых продуктов.

4. Получение белка при культивировании микроорганизмов на оксидатах углеводородов, газообразных углеводородах, углекислоте и водороде. Состав питательных сред. Штаммы. Условия культивирования. Накопление биомассы фототрофных микроорганизмов (*Chlorella, Spirulina, Scenedesmus*). Характеристика готовых продуктов.

5. Производство аминокислот. Сверхсинтез аминокислот микроорганизмами при изменении условий ферментации. Факторы, влияющие на синтез той или иной аминокислоты. Изменение генетического контроля механизма синтеза аминокислот. Ауксотрофные и регуляторные мутанты. Штаммы. Условия культивирования. Промышленное получение глютаминовой кислоты. Накопление кислоты в зависимости от стадии роста биомассы и утилизации углеводного субстрата.

6. Производство органических кислот. Условия сверхсинтеза органических кислот микроорганизмами. Штаммы. Условия культивирования. Промышленное получение лимонной кислоты методами жидкофазной поверхностной, твердофазной, глубинной ферментации. Получение лимонной кислоты при культивировании дрожжей и бактерий на углеводородах. Накопление кислоты в зависимости от стадии роста биомассы и утилизации углеводного субстрата.

7. Производство витаминов. Питательные среды. Штаммы. Условия культивирования.

8. Производство антибиотиков. Основные группы антибиотиков и микроорганизмы, которые их синтезируют. Состав питательных сред, особенности синтеза.

9. Производство полимеров. Синтез биоразлагаемых полимеров. Полигидроксиалканоаты. Питательные среды. Штаммы. Условия культивирования.

Методические рекомендации

Изучение восьмой темы позволит обучающимся сформировать знания по биотехнологии получения различных продуктов микробиологического синтеза.

Первые четыре вопроса темы посвящены изучению биотехнологических методов получения белковых продуктов при использовании различных штаммов и питательных сред. Прежде чем подробно рассматривать частные технологии белковых продуктов, необходимо в общих чертах ознакомиться с продуцентами белка (бактерии, грибы, водоросли), химическим составом биомассы, аминокислотным составом белка, определяющим его биологическую ценность. Необходимо уяснить лимитирующие факторы использования белка одноклеточных организмов в пищевых целях.

Вначале рассматривают биотехнологический процесс получения белковых продуктов при культивировании биомассы на углеводных субстратах. Необходимо изучить состав углеводных питательных сред и культивируемые на них штаммы. Студенты должны подробно рассмотреть технологические схемы культивирования дрожжей для получения кормовых препаратов и совместного культивирования *Candida utilis* и *Candida tropicalis* при утилизации пентоз и гексоз сусла.

При изучении биотехнологии получения белковой биомассы из жидких углеводородах важно уделить внимание подготовке питательных сред для культивирования. Нужно изучить штаммы микроорганизмов, способных перерабатывать дизельные фракции, парафины и другие нефтепродукты. Подробно следует рассмотреть технологическую схему культивирования *Candida maltosa* на питательной среде, содержащей парафины, в многосекционном аппарате.

При изучении четвертого вопроса рассматривают такие группы субстратов для получения белка как спирты, природный газ, водород, этанол, метан, углекислоту, а также штаммы микроорганизмов, утилизирующие их.

Пятый вопрос темы посвящен изучению биотехнологии получения аминокислот. Особое внимание следует уделить рассмотрению факторов, определяющих гиперпродукцию той или иной аминокислоты микроорганизмами. Необходимо изучить два подхода к индуцированию сверхсинтеза: изменение условий культивирования «диких» штаммов микроорганизмов (концентрация субстрата, pH среды, соотношение макро- и макроэлементов) и изменение генетического контрольного механизма – создание ауксотрофных и регуляторных мутантов. Важно подробно рассмотреть технологическую схему получения глютаминовой

кислоты при культивировании *Corynebacterium glutamaticum*, диаграмму динамики синтеза глютаминовой кислоты, накопления биомассы и расхода углеводного субстрата.

При изучении шестого вопроса темы необходимо рассмотреть штаммы микроорганизмов, продуцирующих органические кислоты и выделить условия, обеспечивающие их сверхсинтез. Важно рассмотреть несколько вариантов организации биотехнологического процесса получения лимонной кислоты: при жидкофазной поверхностной, твердофазной и глубинной ферментации. Нужно подробно изучить технологическую схему получения лимонной кислоты при культивировании микроскопического гриба *Aspergillus niger*, диаграмму динамики синтеза лимонной кислоты, накопления биомассы и расхода углеводного субстрата.

При изучении последних трех вопросов темы нужно в общих чертах рассмотреть биотехнологии получения витаминов, антибиотиков, полимеров. Особое внимание нужно уделить штаммам-продуцентам, питательным средам и условиям культивирования, обеспечивающим наибольший выход целевых продуктов.

Вопросы для самоконтроля:

1. Назовите преимущества использования белка одноклеточных организмов в кормовых целях.
2. По каким причинам ограничивается применение белка одноклеточных организмов для питания человека?
3. Какие субстраты могут быть использованы для синтеза микроорганизмов – источников белка?
4. Назовите штаммы микроорганизмов-продуцентов белка при выращивании на углеводных субстратах.
5. Опишите технологию получения кормовых дрожжей. Сколько белка содержит готовый продукт, полученный по этой схеме?
6. Приведите примеры субстратов для получения белка на основе жидких углеводородов. Какие микроорганизмы способны утилизировать эти субстраты?
7. Опишите технологическую схему производства белка при культивировании микроорганизмов на среде, содержащей парафины. Сколько белка содержит готовый продукт, полученный по этой схеме?
8. Каковы основные проблемы при производстве белковых продуктов на средах, содержащих нефтепродукты?
9. Какие микроорганизмы способны усваивать углекислоту?
10. Дайте определение понятиям «ауксотрофный мутант», «регуляторный мутант». Приведите примеры.

11. Для синтеза каких аминокислот возможно использование «диких» штаммов микроорганизмов?

12. При каком составе питательной среды достигается сверхсинтез пролина?

13. На каком этапе культивирования *Corynebacterium glutamaticum* отмечается наиболее интенсивное накопление глютаминовой кислоты?

14. Какие микроорганизмы используются для промышленного получения органических кислот?

15. Опишите процесс получения лимонной кислоты при твердофазной ферментации.

16. Опишите биотехнологический процесс получения витаминов на примере цианокобаламина.

17. Какие группы антибиотиков вы знаете? Какие микроорганизмы их продуцируют?

18. Что такое полигидроксиалканоаты? Какие микроорганизмы их продуцируют?

Тема 9. Инженерная энзимология

Ключевые вопросы темы:

1. Понятие ферментов, классификация. Роль ферментов в пищевой, химической промышленности, медицине и сельском хозяйстве. Применение ферментов в пищевой промышленности. Востребованные ферментные препараты. Способы получения ферментных препаратов из животного, растительного и микробиологического сырья.

2. Иммобилизованные ферменты. Преимущества. Носители для иммобилизованных ферментов. Требования к носителям. Природные, синтетические носители. Носители неорганической природы.

3. Методы иммобилизации ферментов. Физические (адсорбция на нерастворимом носителе, включение в гель, инкапсулирование, иммобилизация в полупроницаемые структуры) и химические методы иммобилизации.

4. Применение иммобилизованных ферментов.

5. Биосенсоры и биочипы. Устройство биосенсора. Ферментные биосенсоры. Устройство биочипа. Применение биосенсоров и биочипов.

Методические рекомендации

При изучении первого вопроса темы обучающимся необходимо уяснить понятие ферментов как важнейших биологических катализаторов. Необходимо четко усвоить 6 классов ферментов (оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы,

лиазы, изомеразы, лигазы) и катализируемые ими реакции. Нужно ознакомиться со сферами применения ферментных препаратов, уделив особое внимание пищевой промышленности.

При изучении второго вопроса знакомятся с таким понятием как иммобилизованные ферменты, рассматривают их преимущества в сравнении с классическими ферментными препаратами. Важным является изучение видов носителей для иммобилизации природного (желатин, коллаген, кератин, целлюлоза, декстран, каррагинан) и синтетического (полиметиленовые, полиамидные, полиэфирные) происхождения.

Третий вопрос посвящен изучению различных видов связи ферментов с сорбентами в препаратах иммобилизованных ферментов. Необходимо рассмотреть физические (адсорбция на нерастворимом носителе, включение в гель, инкапсулирование, иммобилизация в полупроницаемые структуры) и химические (иммобилизация на носителях, несущих гидроксигруппы, аминогруппы, сульфгидрильные группы) методы иммобилизации. Следует уделить внимание преимуществам и недостаткам изученных методов иммобилизации.

При изучении четвертого вопроса рассматривают сферы применения иммобилизованных ферментных препаратов в медицине, фармации, пищевой и биотехнологической промышленностях.

Пятый вопрос посвящен подробному изучению такой сферы применения иммобилизованных ферментов как создание биосенсоров и биочипов. При изучении вопроса необходимо ознакомиться с устройством биосенсора, уяснив роль биохимического и физического трансдьюсеров. В качестве примера нужно изучить принцип работы хеми- и биолюминесцентых датчиков с иммобилизованными ферментами пероксидазой и люциферазой. Следует рассмотреть устройство и принцип работы биочипа, его отличия от биосенсора. Требуется ознакомиться с областями применения биосенсоров и биочипов.

Вопросы для самоконтроля:

1. Что такое ферменты? Какие классы ферментов вы знаете?
2. Приведите пример использования ферментов в пищевой промышленности.
3. Из какого животного и растительного сырья промышленно производят ферментные препараты?
4. Из какого микробиологического сырья производят ферментные препараты?
5. Что такое иммобилизованные ферментные препараты? Какими преимуществами они обладают?

6. На каких природных носителях может осуществляться иммобилизация ферментов?

7. На каких синтетических носителях может осуществляться иммобилизация ферментов?

8. Какие физические методы иммобилизации ферментов вы знаете?

9. Какие химические методы иммобилизации ферментов вы знаете?

10. При использовании какого метода иммобилизации формируется наиболее прочная связь фермента с сорбентом?

11. Что такое биосенсор? Из каких элементов он состоит?

12. Что такое биочип? Опишите его устройство.

13. Для каких целей в пищевой промышленности могут применяться биосенсоры?

Тема 10. Изучение строения генома и механизмов передачи наследственной информации

Ключевые вопросы темы:

1. Строение генома. Нуклеиновые кислоты: дезоксирибонуклеиновая (ДНК) и рибонуклеиновая (РНК) кислоты. Азотистые основания, лежащие в основе нуклеиновых кислот. Пиримидиновые и пуриновые основания. Урацил, тимин, цитозин, аденин, гуанин: свойства, структурные формулы. Моносахариды, входящие в состав ДНК и РНК. Рибоза и дезоксирибоза: структурные формулы. Нуклеозиды и нуклеотиды: номенклатура, свойства, структурные формулы, биологические функции. Полинуклеотиды.

2. ДНК. Строение, свойства, локализация в клетке. Модель Уотсона-Крика. Связь нуклеотидов в молекуле ДНК. Принцип комплементарности азотистых оснований.

3. РНК. Строение, свойства, локализация в клетке. Информационная, транспортная, рибосомная РНК.

4. Репликация ДНК. Механизм, ферменты, участвующие в репликации.

5. Транскрипция ДНК. Строение гена. Промотор, терминатор, экзоны и интроны. Инициация, элонгация, терминация транскрипции. Процессинг. Сплайсинг.

6. Трансляция (синтез белка). Строение рибосом. Инициация, элонгация и терминация трансляции.

7. Генетический код. Понятие триплета. Особенности генетического кода. Вырожденность генетического кода. Триплеты инициации и терминации цепей. Мутации. Мутагены физические (радиация, ультрафиолетовое излучение) и химические (азотистая кислота, бенз(а)пирен). Репарация. Специфическая нуклеаза, ДНК-лигаза, фотолиаза как факторы восстановления ДНК.

Методические рекомендации

Успешное усвоение материала десятой темы курса позволит студентам сформировать знания, необходимые для изучения темы «Основы генетической инженерии». Студентам нужно усвоить основные понятия, касающиеся хранения и передачи наследственной информации в живых организмах.

Вначале необходимо изобразить в тетради строение и изучить свойства азотистых оснований, являющихся структурными единицами нуклеиновых кислот – ДНК и РНК (урацил, тимин, цитозин, аденин и гуанин). Затем переходят к изучению строения нуклеозидов, содержащих в своем составе азотистые основания и моносахариды. Важным является уяснение различий между нуклеозидами, входящими в состав ДНК и РНК. В заключении следует рассмотреть строение нуклеотидов – фосфорнокислых эфиров нуклеозидов и формирование связей, объединяющих их в длинные полинуклеоитидные цепи.

Во втором вопросе рассматривают строение ДНК в соответствии с моделью Уотсона-Крика. Важным является изучение принципа, по которому формируются водородные связи между азотистыми основаниями двух цепей ДНК – принципа комплементарности. Необходимо изобразить комплементарные пары азотистых оснований (аденин-тимин, гуанин-цитозин) и обозначить водородные связи между ними. Для закрепления понятия о пространственной структуре ДНК, нужно схематично представить в тетради двухцепочечную спираль, обозначить концы атипараллельных цепей.

В третьем вопросе рассматривают строение РНК, основные виды РНК: информационную (матричную), транспортную, рибосомную. Следует уделить внимание роли каждого вида РНК в процессах передачи наследственной информации.

Четвертый, пятый и шестой вопросы темы курса посвящены изучению процессов передачи наследственной информации от ДНК через РНК к белку. Первым процессом, который необходимо изучить, является репликация ДНК, то есть синтез дочерней молекулы. Важным является подробное рассмотрение каждого этапа с соответствующими схематическими изображениями в тетради. Нужно изучить ферменты, работающие на каждом этапе репликации, в особенности механизм действия ДНК-полимераз. Далее рассматривают процесс транскрипции, то есть передачи генетической информации от ДНК к информационной РНК. Для понимания сущности процесса транскрипции, нужно изучить строение гена, выделив его структуры, ответственные за инициацию и терминацию транскрипции. Важно подробно рассмотреть этапы транскрипции (инициацию, элонгацию, терминацию) и процессинг РНК. Уяснив процесс «переписывания» генетической информации с ДНК на РНК, переходят к изучению процесса синтеза белка – трансляции. Следует уделить внимание

рассмотрению строения рибосом – клеточных органелл, на которых осуществляется синтез белка. Необходимо рассмотреть три стадии трансляции: инициацию, элонгацию и терминацию синтеза полипептидной цепи.

Изучение седьмого вопроса темы позволит сформировать у обучающихся понятие генетического кода. Важным является уяснение принципа «записи» генетической информации в виде соответствия триплетов нуклеотидов определенным аминокислотам, формирующих в дальнейшем белки с различными биологическими функциями. Нужно рассмотреть так называемый «генетический словарь», выделив при этом такие особенности генетического кода как его вырожденность, наличие инициирующих и терминирующих кодонов. Следует изучить понятия «мутация» и «репарация», рассмотреть мутагенные факторы физической (радиация, ультрафиолетовое излучение) и химической природы (азотистая кислота, бенз(а)пирен) и факторы репарации клетки (специфические нуклеазы, ДНК-лигаза, фотолиаза).

Вопросы для самоконтроля:

1. Какие компоненты клетки ответственны за хранение и реализацию наследственной информации?
2. Какие азотистые основания входят в состав ДНК?
3. Какие азотистые основания входят в состав РНК?
4. Что такое нуклеозид? Опишите его строение.
5. Что такое нуклеотид? Опишите его строение.
6. Какие нуклеотиды входят в состав ДНК?
7. Какие нуклеотиды входят в состав РНК?
8. Изобразите схематично строение ДНК в соответствии с моделью Уотсона-Крика. В чем заключается принцип комплементарности азотистых оснований?
9. Назовите основной постулат молекулярной генетики.
10. Что такое репликация?
11. Какой фермент осуществляет разрушение водородных связей между двумя цепями ДНК при репликации?
12. Что такое праймер? Какова роль праймазы в процессе репликации ДНК?
13. Что такое фрагменты Оказаки?
14. Назовите участки гена, ответственные за инициацию и терминацию транскрипции.
15. Дайте определение понятиям «экзоны» и «интроны».
16. В чем заключается сплайсинг РНК?
17. В какой части клетки происходит синтез белка?
18. Что такое генетический код?

19. Дайте определение понятиям «мутация» и «репарация».

20. Какие факторы способны вызывать изменения ДНК организма?

21. Опишите механизм репарирующего действия фотолиазы.

Тема 11. Основы генетической инженерии

Ключевые вопросы темы:

1. Общая схема генно-инженерных работ. Основные понятия. Трансгеноз. Рекомбинантные ДНК. Трансгенные организмы.

2. Ферменты генетической инженерии. Эндонуклеазы рестрикции: номенклатура, классификация, механизм действия. Обратные транскриптазы и ДНК-полимеразы. Лигазы. Ферменты, изменяющие строение концевых фрагментов ДНК.

3. Методы генетической инженерии. Электрофорез. Гибридизация. Секвенирование. Блоттинг. Клонирование ДНК. Создание геномных и клоновых библиотек.

4. Амплификация ДНК *in vitro*. Полимеразная цепная реакция (ПЦР). История открытия, сущность реакции. Состав реакционной смеси. *Taq*-полимераза. Механизм реакции. Преимущества ПЦР. Применение ПЦР в пищевой промышленности.

5. Введение рекомбинантного гена в клетку. Создание векторных конструкций. Требования к векторам, их источники. Векторные системы на основе плазмид. Плазмида *pBR322*. Строение, конструирование вектора на основе плазмиды *pBR322*. Трансформация, трансдукция, трансфекция, электропорация, микроинъекции ДНК. Упаковка ДНК в липосомы. Биологическая баллистика. Отбор трансформированных клеток.

6. Генетическая инженерия растений. *Agrobacterium tumefaciens*. *Ti*-плазмида. Строение. Генетическая колонизация растений. Создание векторов на основе *Ti*-плазмиды для трансформации растительного генома. *Agrobacterium rhizogenes*. *Ri*-плазмида. Создание векторов на основе *Ri*-плазмиды для трансформации растительного генома. Достижения современной генетический инженерии растений.

7. Генетическая инженерия животных. Генетическая трансформация соматических клеток с помощью ретровирусных векторов. Генетическая трансформация половых клеток с помощью микроинъекций ДНК. Генетическая трансформация эмбриональных стволовых клеток. Основные этапы создания трансгенных особей. Клонирование. Клонирование методом переноса ядра. Основные проблемы, связанные с генетической инженерией животных. Современные достижения генетической инженерии животных.

Методические рекомендации

Освоение вопросов одиннадцатой темы курса позволит обучающимся уяснить основы генетической инженерии, ознакомиться с методами изучения генома, получения генетически модифицированных организмов для промышленного использования, в том числе в пищевой промышленности.

Первый вопрос является вводным, он посвящен изучению общей схемы генно-инженерных работ и основных понятий темы. Обучающиеся должны уяснить понятия генетический модификации организмов, трансгеноза, рекомбинантных ДНК.

При изучении второго вопроса нужно рассмотреть ферменты как важнейшие инструменты модификации ДНК. Необходимо изучить номенклатуру, механизм действия эндонуклеаз рестрикции (рестриктаз), с помощью которых возможно выделение нужных фрагментов ДНК для генно-инженерных работ. Следует уделить внимание механизму образования так называемых «тупых» и «липких» концов ДНК при их рестрикции различными ферментами. Необходимо изучить ферменты, осуществляющие синтез ДНК на матрице РНК (обратные транскриптазы) и на матрице ДНК (ДНК-полимеразы) и осуществляющие «сшивку» фрагментов ДНК (лигазы), рассмотреть ферменты, использующиеся для изменения строения концевых фрагментов ДНК (щелочная фосфатаза).

Третий вопрос посвящен изучению основных методов генетической инженерии: электрофореза, гибридизации, секвенирования. Нужно рассмотреть порядок действий, необходимые реактивы и оборудование. Необходимо изучить понятия клоновых и геномных библиотек, рассмотреть способы их создания.

При изучении четвертого вопроса студентам вначале нужно ознакомиться с реактивами и оборудованием, необходимым для амплификации ДНК *in vitro*. Особое внимание уделяют обеспечению непрерывности процесса при использовании термостабильной *Taq*-полимеразы. Необходимо подробно разобрать механизм каждого этапа полимеразной цепной реакции (денатурация, отжиг праймеров, синтез ДНК), рассмотреть их температурные режимы и продолжительность. Обучающиеся должны уяснить цели и принципы использования ПЦР для исследования пищевых продуктов, обнаружения генетически модифицированных источников.

При изучении пятого вопроса необходимо рассмотреть понятие векторов, механизмов их конструирования, требования к векторам. В качестве примера нужно изучить строение плазмиды *pBR322*, выделив гены устойчивости к антибиотикам и область начала репликации. Необходимо подробно изучить механизм введения чужеродной ДНК в плазмиду по месту рестрикции в гене устойчивости к тетрациклину. Важно уяснить различные способы введения

конструкции, несущей трансген, в клетку: трансформация, трансдукция, трансфекция, электропорация, микроинъекции ДНК, упаковка ДНК в липосомы, биологическая баллистика; рассмотреть преимущества и недостатки использования каждого способа. На примере векторной конструкции на основе плазмиды *pBR322* нужно изучить принцип отбора трансформированных клеток при выращивании на питательных средах, содержащих антибиотики.

Шестой вопрос темы посвящен изучению методов трансформации растительного генома для получения растений с новыми ценными свойствами. Необходимо изучить методы трансформации растительного генома при помощи плазмид (*Ti*-плазмида, *Ri*-плазмида), выделенных из двух видов агробактерий: *Agrobacterium tumefaciens и Agrobacterium rhizogenes*. Нужно рассмотреть группы трансгенных растений, обладающих важными свойствами для использования в сельском хозяйстве и пищевой промышленности: устойчивостью к пестицидам, неблагоприятным условиям окружающей среды,

При изучении седьмого вопроса нужно рассмотреть следующие методы трансформации животного генома: трансформация соматических клеток с помощью ретровирусных векторов, трансформация половых клеток с помощью микроинъекций ДНК, трансформация эмбриональных стволовых клеток. Следует уделить внимание особенности трансформации генома животных различных видов. При изучении клонирования методом переноса ядра требуется подробно рассмотреть процесс на примере получения овечки Долли. Важно ознакомиться с проблемами, возникающими при разработке генетически модифицированных, клонированных организмов и возможности использования таких животных для хозяйственных нужд.

Вопросы для самоконтроля:

1. Дайте определение понятию «рекомбинантная ДНК».
2. Что такое эндонуклеазы рестрикции? Каков механизм их действия?
3. Представьте реакцию рестрикции ДНК с образованием «липких» концов.
4. На чем основана номенклатура эндонуклеаз рестрикции? Приведите пример.
5. Какими способами возможно определение нуклеотидной последовательности ДНК?
6. В чем сущность блоттинга по Саузерну?
7. Опишите поэтапно процесс секвенирования ДНК.
8. Что такое гибридизация ДНК?
9. Что представляет собой геномная библиотека? В чем ее отличие от клоновой?

10. В чем сущность полимеразной цепной реакции? Представьте схему реакции.

11. Перечислите компоненты, необходимые для проведения полимеразной цепной реакции.

12. Что такое вектор? Какие требования предъявляются к векторам?

13. На чем основан принцип отбора трансформированных клеток?

14. С помощью каких способов возможно введение чужеродного материала в клетку?

15. Каким образом осуществляется трансформация растительного генома?

16. Какими свойствами можно наделить растения при трансформации их генома? Приведите примеры использования генетически модифицированных растений в питании человека.

17. Опишите порядок действий при трансформации животного генома с помощью ретровирусных векторов. Какие недостатки имеет этот метод?

18. Опишите порядок действий при трансформации животного генома методом микроинъекций ДНК в половые клетки.

19. Опишите порядок действий при трансформации эмбриональных стволовых клеток животных.

20. Опишите порядок действий при клонировании особи методом переноса ядра. В чем заключаются ограничивающие факторы и проблемы клонирования?

21. Какие генетически трансформированные животные созданы на данный момент? Каковы перспективы этого направления генетической инженерии?

Тема 12. Экологическая биотехнология

Ключевые вопросы темы:

1. Получение биогаза при утилизации органических отходов. Метановое брожение. Стадии метанового брожения. Стадия гидролиза, кислотогенная стадия, ацетогенная стадия, метаногенная стадия. Микроорганизмы, осуществляющие превращения веществ на каждой стадии. Режимы метанового брожения. Термофильный и мезофильный процесс.

2. Технологические аспекты производства биогаза. Метантенки. Виды метантенков.

3. Биотехнология очистки сточных вод. Классификация сточных вод. Механический и биологический этапы очистки сточных вод. Аэробный и анаэробный процесс очистки. Биофильтры, аэротенки. Микроорганизмы активного ила. Септиктенки.

4. Биологическая очистка газовоздушных выбросов. Физические, хими-

ческие и биологические методы очистки. Микроорганизмы, утилизирующие загрязняющие воздушную среду примеси. Биоскруббер. Биореактор с омываемым слоем.

Методические рекомендации

Последняя тема курса посвящена изучению методов экологической биотехнологии.

При изучении первого вопроса необходимо рассмотреть процесс утилизации твердых органических отходов при помощи метанового брожения с получением биогаза. Важным является изучение отдельных стадий процесса, – гидролиза, кислотогенной, ацетогенной, метаногенной стадий – микроорганизмов, осуществляющих превращения веществ на каждой стадии, уравнений химических реакций. Нужно уделить внимание рассмотрению оптимальных условий процесса получения биогаза – температуры, pH.

Второй вопрос посвящен изучению технологических аспектов получения биогаза. Нужно рассмотреть устройства метантенков различных типов, принципы их работы.

При изучении третьего вопроса обучающиеся должны рассмотреть проблему очистки сточных вод. Вначале необходимо ознакомиться с классификацией сточных вод по их происхождению и содержанию загрязняющих веществ. Затем в общих чертах нужно рассмотреть этап очистки сточных вод от физических загрязнителей. Подробно необходимо изучить биологический этап очистки сточных вод, уделив внимание аэробному (биофильтры, аэротенки) и анаэробному (септиктенки) методам. Нужно рассмотреть понятие активного ила, микроорганизмы, использующиеся для очистки сточных вод.

Четвертый вопрос посвящен изучению методов биологической очистки газовоздушных выбросов. Необходимо рассмотреть виды микроорганизмов, способных утилизировать загрязнители воздуха и устройство двух очистителей – биоскруббера и биореактора с омываемым слоем.

Вопросы для самоконтроля:

1. Что такое биогаз? Из смеси каких газов он состоит?
2. Какие субстраты могут использоваться для производства биогаза?
3. Назовите стадии метанового брожения?
4. Какие организмы осуществляют метановое брожение? При каких условиях они размножаются?
5. Что такое метантенк? Представьте схему его устройства.
6. Назовите меры предосторожности при работе с биогазом.
7. Что такое активный ил? Какие микроорганизмы населяют активный ил?
8. Какие загрязнители сточных вод удаляются на этапе биологической

очистки?

9. Опишите устройство аэротенка.

10. Какие загрязнители воздуха могут быть удалены биологической очисткой?

11. Опишите устройство биоскруббера.

2 МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПОДГОТОВКЕ К ЛАБОРАТОРНЫМ РАБОТАМ

Лабораторные работы являются важным звеном профессиональной подготовки биотехнологов пищевой промышленности. Цель лабораторных работ заключается в формировании у студентов систематизированных знаний в области современных методов исследований функциональных пищевых добавок, а также воспитании навыков самостоятельной научно-исследовательской работы.

Лабораторные работы способствуют закреплению и углублению теоретических знаний студентов по изучаемой дисциплине, развивают практические умения в работе с лабораторным оборудованием и прививают навыки анализа качества пищевых добавок и продуктов их содержащих.

В процессе подготовки и выполнения лабораторных работ студент закрепляет знания по общим принципам анализа и подготовки проб; современным методам химического, физического, физико-химического и биохимического анализа качества и безопасности функциональных пищевых добавок и продуктов их содержащих.

Общие методические рекомендации по подготовке и выполнению лабораторных работ

Со структурой и последовательностью занятий студент знакомится на первом занятии, там же проводится инструктаж обучающихся по охране труда, технике безопасности и правилам работы в лаборатории по инструкциям утвержденного образца с фиксацией результатов в журнале инструктажа.

Обучающиеся также знакомятся с основными требованиями преподавателя по выполнению учебного плана, с графиком прохождения лабораторных занятий и основными формами отчетности по выполненным работам.

Лабораторные работы выполняются в соответствии с методическими указаниями: *Агафонова, С. В. Основы биотехнологии: учебно-методическое пособие по лабораторным работам для студентов бакалавриата, обучающихся по направлению подготовки 19.03.01 – Биотехнология (профиль «Пищевая биотехнология») по дисциплине «Основы биотехнологии» / С. В. Агафонова. – Калининград: ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет», 2021. – 108 с.*

При подготовке к лабораторной работе обучающийся предварительно должен повторить теоретические знания, полученные на лекции по данной теме, а также самостоятельно изучить специальную литературу, рекомендованную преподавателем.

При оформлении лабораторной работы в тетради обучающийся должен обязательно указать номер и тему занятия, её цель и задачи, при необходимости –

перечень материалов и оборудования. Далее необходимо оформить ход лабораторной работы, оставив место в каждом опыте для экспериментальных данных, полученных непосредственно во время проведения исследований, а также расчетов. В конце каждого опыта должен делаться анализ полученных данных. В конце лабораторной работы обучающийся должен подвести итоги работы.

Для допуска студента к лабораторной работе преподаватель проверяет теоретическую подготовку обучающегося к каждому лабораторному занятию по вопросам, приведенным в конце каждой работы.

В ходе выполнения заданий у обучающихся должны сформироваться практические умения и навыки обращения с различными приборами, установками, лабораторным оборудованием, аппаратурой, которые могут составлять часть профессиональной практической подготовки, а также исследовательские умения: наблюдать, сравнивать, анализировать, устанавливать зависимости, делать выводы и обобщения, оформлять результаты. Обучающемуся необходимо обратить внимание, что полученные экспериментальные данные должны сравниваться с нормативными документами и делаться анализ о соответствии / несоответствии продукта/пищевой добавки требованиям качества и безопасности.

По результатам выполнения лабораторной работы студент должен защитить свои теоретические и практические знания.

Критерии оценки устного ответа на контрольные вопросы

«5» (отлично): обучающийся демонстрирует системные теоретические знания, владеет терминологией, делает аргументированные выводы и обобщения, приводит примеры, показывает свободное владение монологической речью и способность быстро реагировать на уточняющие вопросы.

Обучающийся на высоком уровне способен:

- организовать свою работу ради достижения поставленных целей;
- работать самостоятельно;
- к познавательной деятельности;
- применять на практике навыки проведения и описания исследований, в том числе экспериментальных;
- проводить оценку качества пищевых продуктов и функциональных пищевых добавок, обрабатывать полученные результаты;
- ориентироваться в основных проблемах пищевой биотехнологии.

«4» (хорошо): обучающийся демонстрирует системные теоретические знания, владеет терминологией, делает аргументированные выводы и обобщения, приводит примеры, показывает свободное владение монологической речью, но при этом делает несущественные ошибки, которые быстро исправляет самостоятельно или при незначительной коррекции преподавателем.

Обучающийся на базовом уровне способен:

- организовать свою работу ради достижения поставленных целей;

- работать самостоятельно;

- к познавательной деятельности;

- применять на практике навыки проведения и описания исследований, в том числе экспериментальных;

- проводить оценку качества пищевых продуктов и функциональных пищевых добавок, обрабатывать полученные результаты;

- ориентироваться в основных проблемах пищевой биотехнологии.

«3» (удовлетворительно): обучающийся демонстрирует неглубокие теоретические знания, проявляет слабо сформированные навыки анализа явлений и процессов, недостаточное умение делать аргументированные выводы и приводить примеры, показывает недостаточно свободное владение монологической речью, терминологией, логичностью и последовательностью изложения, делает ошибки, которые может исправить только при коррекции преподавателем.

Обучающийся на пороговом уровне способен:

- организовать свою работу ради достижения поставленных целей;

- работать самостоятельно;

- к познавательной деятельности;

- применять на практике навыки проведения и описания исследований, в том числе экспериментальных;

- проводить оценку качества пищевых продуктов и функциональных пищевых добавок, обрабатывать полученные результаты.

- ориентироваться в основных проблемах пищевой биотехнологии.

«2» (неудовлетворительно): обучающийся демонстрирует незнание теоретических основ предмета, не умеет делать аргументированные выводы и приводить примеры, показывает слабое владение монологической речью, не владеет терминологией, проявляет отсутствие логичности и последовательностью изложения, делает ошибки, которые не может исправить, даже при коррекции преподавателем. Отказывается отвечать на поставленные вопросы.

Обучающийся на низком уровне способен:

- организовать свою работу ради достижения поставленных целей;

- работать самостоятельно;

- к познавательной деятельности;

- применять на практике навыки проведения и описания исследований, в том числе экспериментальных;

- проводить оценку качества пищевых продуктов и функциональных пищевых добавок, обрабатывать полученные результаты;

- ориентироваться в основных проблемах пищевой биотехнологии.

Время защиты – 10–15 мин. При необходимости для обучающихся с ограниченными возможностями здоровья предоставляется дополнительное время для подготовки ответа с учетом его индивидуальных особенностей.

Тематический план лабораторных занятий представлен в таблице 2.

Таблица 2 – Объем (трудоёмкость освоения) и структура лабораторных занятий

Номер темы	Содержание практического занятия	Кол-во часов лабораторных занятий
1	Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* как биотехнологический объект. Количественный учет клеток с помощью счетной камеры	6
2	Периодическое культивирование дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в лабораторном ферментере	6
3	Получение каллусной ткани и ее суспензионное культивирование	6
4	Изучение метода разделения окрашенных жидкостей с помощью эксклюзионной хроматографии	5
5	Получение дрожжевого автолизата	6
6	Изучение методов выделения, определения активности и иммобилизации ферментов	6
7	Определение концентрации нуклеиновых кислот в биологическом материале	5
8	Определение токсичность сред с помощью биоиндикации	6
Итого		**46**

Для успешного овладения курсом необходимо обязательно посещать все лабораторные занятия. В случаях пропуска занятия студенту необходимо самостоятельно изучить материал и ответить на контрольные вопросы по пропущенной теме, отработать лабораторную работу и защитить преподавателю отчет во время его индивидуальных консультаций.

Важно своевременно осваивать лекционные материалы и выполнять предусмотренные к лабораторным работам задания. Систематическое освоение теоретического материала (лекций) и другого необходимого учебного материала позволит быть готовым для тестирования, качественного выполнения лабораторных работ, аттестации по дисциплине.

3 МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ КУРСОВОЙ РАБОТЫ

Основная цель курсовой работы – закрепление, расширение и углубление знаний, полученных в теоретическом курсе, приобретение навыков самостоятельной разработки нормативно-технической документации и определения требований к целевому продукту. Курсовая работа предполагает комплексное использование студентом знаний по основам биотехнологии. Задание на курсовую работу выдается в начале семестра, в первую половину семестра студенты готовят теоретический материал по теме курсовой работы, в течение второй половины семестра приступают к практической части работы по разработке технологической схемы для того, чтобы получать консультации преподавателя по ходу работы для успешного завершения работы.

Общие методические рекомендации по выполнению курсовой работы

Курсовая работа предполагает разработку технологической схемы производства целевого продукта методом микробного синтеза с подробным описанием каждой стадии производства. Конкретная тема работы (вариант задания) определяется преподавателем – руководителем работы, после чего студент в качестве предварительного этапа работы оформляет индивидуальное задание по ней. Примеры тем и заданий к курсовой работе, требования по оформлению приведены в учебно-методическом пособии: *Агафонова, С. В. Основы биотехнологии: учебно-методическое пособие по выполнению курсовой работы для студентов бакалавариата направления подготовки 19.03.01 – Биотехнология (профиль – Пищевая биотехнология) / С. В. Агафонова. – Калининград: ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет», 2018. – 20 с.*

Курсовая работа состоит из следующих разделов:

- Титульный лист
- Содержание
- Введение
- Основная часть
- Заключение
- Список использованных источников
- Приложения

Во введении отражается общая формулировка выбранной темы, ее актуальность, обозначается цель курсовой работы и конкретные задачи, которые автор поставил перед собой.

Основная часть курсовой работы излагается последовательно и должна включать следующие разделы:

- описание и свойства рассматриваемого продукта (вещества);
- способы получение биотехнологического продукта;
- характеристика штамма микроорганизма-продуцента и питательной среды для культивирования;
- структурная схема производства биотехнологического продукта и ее описание;
- характеристика готового продукта.

В заключении курсовой работы четко формулируются основные выводы, к которым пришел автор. Выводы должны отражать решение задач, поставленных во введении.

Готовая курсовая работа в электронном или печатном виде представляется на проверку преподавателю. Если в результате проверки обнаружены ошибки, неправильное оформление или неполное освещение темы в работе, она возвращается студенту для доработки.

Защита курсовой работы проходит в форме публичного доклада. Автору предоставляется 5–10 мин для освещения основных положений курсовой работы. Доклад сопровождается показом презентации

По результатам защиты курсовой работы (студент представляет результаты своей разработки, демонстрирует схему производства и ее описание и отвечает на вопросы преподавателей) выставляется экспертная оценка («отлично», «хорошо», «удовлетворительно» или «неудовлетворительно»), которая учитывается при промежуточной аттестации по дисциплине (на экзамене).

ГЛОССАРИЙ

Амплификация – увеличение числа копий молекулы ДНК.

Антиген – белок, индуцирующий образование в иммунной системе антител, способствующих к специфическому взаимодействию с веществом, вызывающим образование антител.

Ауксины – фитогормоны, активизирующие рост стеблей и корней, стимулирующие образование корней у проростков. Пример: бета-индолил-3-уксусная кислота.

Ауксотрофные мутанты – организмы, которые не способны синтезировать определенное органическое соединение, необходимое для роста этого организма.

Биогаз – смесь газов, образующаяся в результате анаэробного процесса брожения – биометаногенеза.

Биомасса – клеточная масса, образующаяся в результате жизнедеятельности живых организмов.

Биореактор, ферментер – устройство, в котором протекают биохимические реакции при участии живых микроорганизмов, клеточных экстрактов или ферментов. Часто этот термин относится к сосуду, в котором растут микроорганизмы.

Биоремедиация – комплекс методов очистки вод, грунтов и атмосферы с использование метаболического потенциала биологических объектов.

Биосенсоры – аналитические устройства, в которых чувствительный слой, содержащий биологический материал, реагирует на присутствие определяемого компонента и генерирует электрический сигнал, функционально связанный с наличием или концентрацией этого вещества.

Биотехнология – наука о технологиях создания и использования биологических объектов, способствующих интенсификации производств или получению новых видов продуктов различного назначения на основе методов клеточной и генетической инженерии.

Биочип – матрица с нанесенными молекулами белков, нуклеиновых кислот, биомакромолекул или биоструктур для одновременного проведения большого числа анализов в одном образце.

Блоттинг – процедура переноса денатурированной нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК) с агарозного геля на нитроцеллюлозный фильтр для последующей гибридизации.

Вектор – самореплицирующаяся (автономная) молекула ДНК, используемая в генетической инженерии для переноса генов и других

последовательностей от организма-донора в организм-реципиент, а также для клонирования нуклеотидных последовательностей.

Ген – единичная структура генетической информации, участок хромосомы (молекулы ДНК), кодирующий структуру одной или нескольких полипептидных цепей, или молекул РНК, или определенную регуляторную функцию.

Генетический код – система записи наследственной информации в виде последовательности нуклеотидов в молекулах нуклеиновых кислот. Единицей генетического кода служит кодон, или триплет. Генетический код определяет порядок включения аминокислот в синтезируемую полипептидную цепь.

Генетическая инженерия – совокупность приемов, методов и технологий, в том числе технологий получения рекомбинантных рибонуклеиновых и дезоксирибонуклеиновых кислот, по выделению генов из организма, осуществлению манипуляций с ними и введению их в другие организмы.

Геномная библиотека – набор клонированных фрагментов ДНК, содержащий весь геном.

Гиббереллины – фитогормоны, активизирующие рост стеблей, вызывающие прорастание семян. Пример: гибберелловая кислота.

Гибридизация – отжиг двух полинуклеотидных цепей, часто из разных источников, с образованием ДНК/РНК- или ДНК/ДНК-гибридов, стабилизируемых водородными связями. Используется для выявления специфических нуклеотидных последовательностей.

Дедифференциация – переход специализированных, неделящихся клеток к пролиферации, т.е. к образованию недифференцированных делящихся каллусных клеток.

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) – полимер, состоящий из дезоксирибонуклеотидов, видоспецифичный носитель генетической информации.

Зонд – соединение, меченное тем или иным способом, использующееся для выявления родственных биохимических молекул в сложном образце.

Иммобилизация – фиксация низкомолекулярных лигандов, макромолекул, клеточных органелл и клеток на определенном носителе.

Интрон – «молчащий» транскрибируемый участок гена, не содержащий кодонов и удаляющийся из молекулы РНК в ходе ее процессинга.

Каллус – группа дедифференцированных клеток, возникших *in vitro* путем неорганизованной пролиферации.

Коагуляция – процесс слипания, укрупнения и выпадения в осадок частиц вещества из коллоидного раствора.

Кодон – триплет нуклеотидов, соответствующий определенной аминокислоте или терминирующему сигналу.

Клон – большое число клеток или молекул, идентичных одной родоначальной клетке или молекуле.

Клонирование – получение генетически идентичных популяций организмов.

Клоновая библиотека генов – коллекция клонов ДНК, синтезируемых *in vitro* на матрицах мРНК, происходящих из одной ткани или клеточной популяции.

Культивирование (ферментация) – крупномасштабное выращивание микроорганизмов в специальных емкостях (биореакторах).

Культивирование хемостатное – вариант гомогенного проточного культивирования с заданным коэффициентом разбавления, к которому подстраивается скорость роста культуры.

Культура – популяция клеток или микроорганизмов, выращиваемая в контролируемых условиях *in vitro*.

Культура суспензионная – выращивание отдельных клеток или небольших их групп во взвешенном состоянии в жидкой питательной среде.

Липосома – пузырек, образуемый одно- или двухслойной мембраной, состоящей из липидных молекул. Гидрофобная часть этих молекул обращена внутрь пузырька, гидрофильная – наружу. Внутри пузырька могут находиться нуклеиновые кислоты, лекарственные вещества и др.

Меристема – образовательные ткани с активно делящимися клетками.

Мутагены – факторы, увеличивающие частоту возникновения мутаций в молекуле ДНК.

Мутация – спонтанное или индуцированное изменение гена, последовательности нуклеотидов хромосомы, генома, приводящее к изменению тех или иных признаков и сохранению их в поколениях.

Накопительная культура микроорганизмов – культура микроорганизмов, состоящая из клеток одного вида.

Нуклеозид – пуриновое или пиримидиновое азотистое основание, ковалентно связанное с пятиуглеродным сахаром (пентозой).

Нуклеотид – нуклеозид, к которому присоединена одна или более фосфатных групп по 5’-углеродному атому сахарного кольца.

Отжиг – процесс образования двухцепочечных молекул (ДНК-ДНК или ДНК-РНК) из одиночных полинуклеотидных комплементарных цепей.

Оказаки фрагменты – относительно короткие фрагменты ДНК (с РНК праймером на 5’-конце), которые образуются на отстающей цепи в процессе репликации ДНК.

Периодическое культивирование – культивирование микроорганизмов в течение ограниченного интервала времени.

Плазмида – внехромосомный генетический элемент, способный к длительному автономному существованию и репликации. Обычно это кольцевая ДНК.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – метод амплификации специфического сегмента ДНК с помощью термостабильной ДНК-полимеразы с использованием олигонуклеотидных ДНК-зондов, комплементарных последовательностям противоположных цепей ДНК, фланкирующим амплифицируемый сегмент.

Праймер – это короткий фрагмент нуклеиновой кислоты (олигонуклеотид), комплементарный ДНК или РНК мишени, служит затравкой для синтеза комплементарной цепи с помощью ДНК-полимеразы, а также при репликации ДНК.

Промотор – участок гена, ответственный за начало его транскрипции.

Протопласт – растительная клетка, лишенная клеточной стенки с помощью ферментативного или механического разрушения.

Процессинг – совокупность процессов образования зрелых молекул РНК и белков в клетке.

Регуляторные мутанты – мутанты с частично нарушенной регуляцией биосинтеза.

Рекомбинантная ДНК – молекула ДНК, полученная объединением *in vitro* разнородных, вместе нигде в природе не существующих, фрагментов ДНК.

Репарация – свойственный клеткам всех организмов процесс восстановления природной структуры ДНК, поврежденной при нормальном биосинтезе ДНК в клетке или в результате воздействия физических или химических агентов.

Репликация – копирование ДНК с образованием идентичных дочерних молекул.

Рибонуклеиновая кислота (РНК) – нуклеиновая кислота, состоящая из рибонуклеотидов, у которых сахаром является рибоза, а одним из пиримидинов – урацил (вместо тимина в ДНК).

Сайт рестрикции – нуклеотидная последовательность в молекуле ДНК, узнаваемая рестриктазой.

Сверхкритическая флюидная экстракция – процесс экстракции с использованием сверхкритического флюида в качестве растворителя.

Седиментация – оседание мелких частиц какого–либо тела в жидкости или газе под действием гравитационного поля или центробежных сил.

Секвенирование – определение нуклеотидной последовательности ДНК.

Сорбция – поглощение твердым телом или жидкостью какого-либо вещества из окружающей среды.

Сплайсинг – вырезание из предшественника мРНК интронов и ковалентное соединение экзонов с образованием зрелых молекул мРНК.

Терминатор – кодон, определяющий окончание синтеза полинуклеотидной цепи.

Тотипотентность – свойство соматических клеток растений полностью реализовывать свою наследственную программу онтогенетического развития при определенных условиях выращивания, вплоть до образования взрослых растений и семян.

Трансгенный, генетически модифицированный организм – растения, животные, микроорганизмы, вирусы с измененной наследственностью, вызванной включением в их геном чужеродных генов с помощью генно-инженерных методов.

Трансдукция – перенос генетического материала из одной бактериальной клетки в другую с помощью бактериофага.

Транскрипция – процесс, в результате которого генетическая информация, заключенная в ДНК, «переписывается» в РНК с последующим переносом РНК к рибосомам.

Трансляция – синтез полипептидной цепи рибосомой с использованием в качестве матрицы мРНК.

Трансфекция – искусственное введение в эукариотические клетки изолированных молекул ДНК.

Трансформация – перенос генетической информации в бактериальные клетки с участием плазмид или без них, но всегда – без участия вирусов; часто приводит к изменению фенотипа реципиентной клетки.

Турбидостат – метод непрерывного культивирования микроорганизмов, при котором стабильность скорости деления клеток обеспечивается системой автоматического регулирования, контролирующей оптическую плотность культуры.

Ферменты – каталитически активные белковые вещества, обладающие способность избирательно катализировать многие химические превращения в живой клетке и вне организма.

Фильтрация – задержание взвешенных частиц сетчатой или пористой перегородкой.

Флокуляция – вид коагуляции, при которой частицы дисперсной фазы образуют рыхлые хлопьевидные агрегаты (флокулы).

Флотация – выделение клеток микроорганизмов из культуральной жидкости за счет адгезии (прилипания) микроорганизмов к поднимающимся в

жидкости пузырькам воздуха и затем сбора пены и ее конденсации (коалесценции).

Химера – организм, включающий клетки, ткани и органы разных организмов.

Хроматография – метод разделения и анализа смесей веществ, а также изучения физико-химических свойств веществ, основанный на распределении веществ между двумя фазами — неподвижной (твёрдая фаза или жидкость, связанная на инертном носителе) и подвижной (газовая или жидкая фаза, элюент).

Хроматография аффинная – метод анализа, разделения, очистки и выделения биологически активных веществ, в основе которого лежит их биоспецифическое взаимодействие со стационарным лигандом, иммобилизованным на хроматографическом сорбенте.

Хроматография эксклюзионная (гель-фильтрация) – разновидность хроматографии, в ходе которой молекулы веществ разделяются по размеру за счет их разной способности проникать в поры неподвижной фазы.

Центрифугирование – разделение неоднородных систем на фракции по плотности при помощи центробежных сил.

Цитокинины – фитогормоны, активизирующие развития меристем, стимулирующие образование почек. Пример: кинетин, 6-бензиламинопурин, зеатин.

Чистая культура микроорганизмов – культура микроорганизмов одного вида, представленная потомством одной клетки.

Штамм – культура генетически однородных микроорганизмов.

Экзон – участок гена, входящий в состав первичного транскрипта, который остается в нем после процессинга. Вместе с другими экзонами образует зрелую мРНК.

Экономический коэффициент – соотношение между количеством образовавшейся биомассы и количеством потребленного субстрата.

Экспрессия – транскрипция и трансляция гена.

Экстракция – извлечение вещества из раствора или сухой смеси с помощью растворителя (экстрагента), практически не смешивающегося с исходной смесью.

Электропорация – метод переноса генов в клетки с помощью электрического разряда, вызывающего образование пор в клеточной мембране.

Элюент – газ или жидкость, применяемые в качестве подвижной фазы в хроматографической системе, которые протекают через неподвижную фазу.

Эндонуклеазы рестрикции (рестриктазы) – ферменты, которые узнают и расщепляют определенные последовательности азотистых оснований в молекуле ДНК.

in vitro – выращивание живого материала «в стекле», на искусственных питательных средах, в стерильных условиях.

in vivo – выращивание живого материала в естественных условиях.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

Основная литература:

1. Глик, Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак: пер. с англ. – Москва: Мир, 2002. – 589 с.

2. Иванова, Л. А. Пищевая биотехнология: учеб. пособие / Л. А. Иванова, Л. И. Войно, И. С. Иванова; ред. И. М. Грачева. – Москва: КолосС, 2008. – Кн. 2. Переработка растительного сырья. – 472 с.

3. Чернышева, Н. Л. Основы пищевой биотехнологии: учеб. пособие для студ. вузов, обуч. по спец. 240902.65 Пищ. биотехнология / Н. Л. Чернышева. – Калининград: ФГБОУ ВПО "КГТУ", 2012. – 91 с.

Дополнительная литература:

4. Биотехнология: теория и практика: учеб. пособие для вузов / Н. В. Загоскина [и др]. – Москва: Оникс, 2009. – 496 с.

5. Биотехнология биологически активных веществ: учебное пособие для студентов вузов / под ред. И. М. Грачевой, Л. А. Ивановой. – Москва: Элевар, 2006. – 453 с.

6. Бирюков, В. В. основы промышленной биотехнологии / В. В. Бирюков. – Москва: КолосС, 2004. – 296 с.

7. Волова, Т. Г. Введение в биотехнологию. Версия 1.0 [Электронный ресурс]: электрон. учеб. пособие / Т. Г. Волова. – Электрон. дан. (2 Мб). – Красноярск: ИПК СФУ, 2008. – 1 электрон. опт. диск (DVD). – Систем. требования: Intel Pentium (или аналогичный процессор других производителей) 1 ГГц; 512 Мб оперативной памяти; 2 Мб свободного дискового пространства; при- вод DVD; операционная система Microsoft Windows 2000 SP 4 / XP SP 2 / Vista (32 бит); Adobe Reader 7.0 (или аналогичный продукт для чтения файлов формата pdf).

8. Голубев, В. Н. Пищевая биотехнология / В. Н. Голубев, И. Н. Жиганов. – Москва: ДеЛи принт, 2001. – 123 с.

9. Егорова, Т. А. Основы биотехнологии: учеб. пособие для высш. пед. учеб. заведений / Т. А. Егорова, С. М. Клунова, Е. А. Живухина. – Москва: Академия, 2003. – 208 с.

10. Современные проблемы и методы биотехнологии [Электронный ресурс]: электрон. учеб. пособие / Н. А. Войнов [и др].; под науч. ред. Т. Г. Воловой. – Электрон. дан. (12 Мб). – Красноярск: ИПК СФУ, 2009. – 1 электрон. опт. диск (DVD). – Систем. требования: Intel Pentium (или аналогичный процессор других производителей) 1 ГГц; 512 Мб оперативной памяти; 50 Мб свободного дискового пространства; привод DVD; операционная система Microsoft Windows XP SP 2 / Vista (32 бит); Adobe Reader 7.0 (или аналогичный продукт для чтения файлов формата pdf).

11. Шлейкин, А. Г. Введение в биотехнологию: учебное пособие / А. Г. Шлейкин, Н. Т. Жилинская. – Санкт-Петербург: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. – 95 с.

Учебно-методические издания:

12. Агафонова, С. В. Основы биотехнологии: учебно-методическое пособие по лабораторным работам для студентов бакалавриата, обучающихся по направлению подготовки 19.03.01 – Биотехнология (профиль «Пищевая биотехнология») по дисциплине «Основы биотехнологии» / С. В. Агафонова. – Калининград: ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет», 2021. – 108 с.

13. Агафонова, С. В. Основы биотехнологии: учебно-методическое пособие по выполнению курсовой работы для студентов бакалавариата направления подготовки 19.03.01 – Биотехнология (профиль – Пищевая биотехнология) / С. В. Агафонова. – Калининград: ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет», 2018. – 20 с.

Локальный электронный методический материал

Светлана Викторовна Агафонова

ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

Редактор Е. Билко

Уч.-изд. л. 3,7. Печ. л. 3,2

Федеральное государственное
бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Калининградский государственный технический университет»,
236022, Калининград, Советский проспект, 1