

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Химический факультет

УТВЕРЖДАЮ

Декан химического факультета,

Акад. РАН, профессор



/С.Н.Калмыков/

«30» августа 2022 г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ
направленной на подготовку к сдаче кандидатского экзамена по специальности

Биотехнология

Biotechnology

Программа подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре
Биотехнология
(104-01-00-156-хн)

Москва 2022

Рабочая программа дисциплины разработана в соответствии с Требованиями к основным программам подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре, самостоятельно устанавливаемыми Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова (приказ №1216 от 24 ноября 2021 г.) и паспортом научной специальности **1.5.6 "Биотехнология" (химические науки)**.

1. Краткая аннотация:

Название дисциплины – Биотехнология (Biotechnology)

Цель изучения дисциплины – подготовить аспирантов к сдаче экзамена кандидатского минимума по специальности 1.5.6. Биотехнология, обучить их квалифицированному владению современным подходом в решении задач, связанных с современными направлениями исследований в биотехнологии и нанобиотехнологии.

Задачи обучения направлены на приобретение аспирантами следующих знаний и навыков:

- знаний о современных подходах исследования в области биотехнологии;
- умений применять экспериментальные и теоретические методы для обработки экспериментальных данных;
- умений выбирать метод моделирования, адекватный поставленной задаче, заданным условиям и имеющимся вычислительным средствам, и интерпретировать результаты расчетов.

2. Уровень высшего образования – подготовка кадров высшей квалификации

3. Научная специальность: **1.5.6** Биотехнология, область науки: 1. Естественные науки

4. Место дисциплины (модуля) в структуре Программы аспирантуры: Дисциплины (модули), направленные на подготовку к кандидатским экзаменам - курс по специальности, может быть прослушан как факультативный.

5. *Объем дисциплины (модуля) составляет 3 зачетные единицы, всего 108 часов, из которых 62 часа составляет контактная работа аспиранта с преподавателем (30 часов- занятия лекционного типа, 24 часа – занятия семинарского типа, 6 часов групповые консультации, 2 часа мероприятия промежуточной аттестации), 46 часов – самостоятельная работа.*

6. Входные требования для освоения дисциплины (модуля), предварительные условия.

На предыдущих уровнях высшего образования должны быть освоены общие курсы:

1. «Математический анализ»
2. «Физика»
3. «Физическая химия»,
4. «Органическая химия»
5. Спецкурсы, в которых излагались основы биотехнологии и нанобиотехнологии.

7. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам:

Наименование и краткое содержание разделов и тем дисциплины (модуля), форма промежуточной аттестации по дисциплине (модулю)	Всего (часы)	В том числе								
		Контактная работа (во взаимодействии с преподавателем), часы из них						Самостоятельная работа, часы из них		
		Занятия лекционного типа	Занятия семинарского типа	Групповые консультации	Индивидуальные консультации	Проведение текущего контроля успеваемости, промежуточной аттестации	Всего	Выполнение домашних заданий	Подготовка к коллоквиумам	Всего
Блок 1. Ферменты в биотехнологии (п. 7, 8, 10 Паспорта специальности)	12	5	4				9	3		3
Блок 2. Имобилизованные ферменты (п. 7, 8, 10, 11 Паспорта специальности)	15	5	4	2			11	4		4
Блок 3. Иммуноферментный анализ (п. 11 Паспорта специальности)	14	5	4				9	5		5
Блок 4. Микробиология. Особенности микробиологических производств. (п. 1, 2, 3, 4, 5 Паспорта специальности)	19	5	4	2			11	8		8
Блок 5. Методы геномной инженерии (п. 9 Паспорта специальности)	14	5	4				9	5		5
Блок 6. Аналитическая биотехнология. Медицинские аспекты биотехнологии (п. 6, 8 Паспорта специальности)	18	5	4	2			11	7		7
Промежуточная аттестация <u>зачёт</u>	16					2	2	14		14
Итого	108	30	24	6		2	62	46		46

Содержание блоков

Блок 1. Ферменты в биотехнологии.

1. Биотехнология: предметная область, цели и задачи. Традиционная и генноинженерная энзимология. Современные достижения в биотехнологии и нанобиотехнологии. Практическое применение ферментов в пищевой промышленности, аналитической химии, экологии, медицине, бытовой химии и тонком органическом синтезе.

2. Стабильность ферментов. Ингибирование и термоинактивация ферментов. Методы стабилизации ферментных препаратов в водных и неводных средах. Мицеллярные системы: типы и структуры фермент-содержащих мицелл. Мицеллярный катализ.
3. Влияние ПАВ на каталитическую активность ферментов в мицеллярных системах. Простые и сложные ферменты. Применение мицеллярных систем с солюбилизированными ферментами для целей тонкого органического синтеза, биохимического и иммуноферментного анализов и терапии заболеваний человека.
4. Обращенные мицеллы как нанореакторы. Молекулярная и супрамолекулярная белковая инженерия. Обращенные мицеллы как инструмент получения ферментных препаратов с заданными характеристиками.

Блок 2. Иммобилизация ферментов.

1. Иммобилизация белков и ферментов. Общие определения. Преимущества иммобилизованных ферментных препаратов. Проблемы и перспективы применения ферментных препаратов. Области применения химически иммобилизованных белков (ферментов)
2. Классификация носителей для иммобилизации белков (ферментов). Примеры активации носителей. Критерии выбора носителя для заданного ферментативного процесса.
3. Физическая иммобилизация. Адсорбция ферментов на носителе. Инкапсуляция ферментов в гель. Сравнительный анализ типов физической иммобилизации.
4. Химическая иммобилизация. Химические реакции, приводящие к созданию связей белок-линкер-носитель. Основные реакции модификации amino групп, гидроксильных и карбоксильных групп, тио-групп белка.
5. Особенности катализа иммобилизованными ферментами. Конформационное состояние иммобилизованного фермента. Эффекты распределения компонентов системы с иммобилизованными ферментами. Понятие о кинетическом и диффузионных режимах протекания ферментативной реакции.
6. Молекулярные причины инактивации ферментов. Механизмы стабилизации ферментов при иммобилизации.

Блок 3. Иммуноферментный анализ

1. Иммунитет. Структура, типы и функции антител. Моноклональные антитела. Использование антител в качестве лекарственных препаратов. Антигены.
2. Физико-химические параметры взаимодействия антиген-антитело. Количественная оценка специфичности. Аффинность и авидность. Перекрестные реакции. Методы определения аффинности антител. Расчет констант связывания антиген-антитело (метод Скетчарда, координаты Хилла). Анализ кинетических закономерностей взаимодействия антиген-антитело. Способы определения прямой и обратной кинетических констант.
3. Методы иммунохимического анализа. Особенности взаимодействия поливалентных антигенов с антителами. Методы иммунопреципитации. Реакция радиальной иммунодиффузии по Манчини. Реакции преципитации и кольцепреципитации. Реакция связывания комплемента. Реакция агглютинации и реакция гемагглютинации. Способы повышения чувствительности анализа. Метод Ухтерлони. Иммуноэлектрофорез. Двумерный иммуноэлектрофорез. Методы иммуноблоттинга.
4. Теоретические основы иммуноферментного анализа. Неконкурентные и конкурентные методы. Общий вид калибровочных кривых. Факторы, влияющие на предел обнаружения (концентрация компонентов, время анализа, чувствительность регистрации метки, аффинность антител). Основные способы повышения чувствительности для неконкурентного и конкурентного видов иммуноферментного анализа.

Блок 4. Микробиология. Особенности микробиологических производств.

1. Микроорганизмы. Место микроорганизмов в природе (животные, растения, протисты). Общие свойства микроорганизмов, (размеры, особенности метаболизма, высокая скорость размножения и т.д.). Строение клетки. Отличие прокариот от эукариот. Строение и функции плазматической мембраны, цитоплазмы, мембранных и немембранных органелл. Основные морфологические группы бактерий. Строение клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий. Строение муреинового слоя. Механизм антибактериального действия лизоцима и пенициллина. Протопласты и сферопласты.
2. Питание и рост микроорганизмов. Автотрофные и гетеротрофные микроорганизмы. Питательные среды. Влияние кислорода, факторов роста, температуры, ионов водорода, концентрации солей на рост микроорганизмов. Селективные методы культивирования. Получение накопительных культур. Чистая культура. Смешанная культура.
3. Физиология роста микроорганизмов. Методы определения числа бактерий (общее число клеток, число живых клеток). Кинетическое описание экспоненциального роста. Рост бактерий в периодической культуре. Характеристика фаз кривой роста бактериальной культуры. Параметры кривой роста (урожай, скорость роста, длительность лаг-фазы).
4. Подавление роста и гибель микроорганизмов. Бактериостатическое и бактерицидное действие различных агентов. Стерилизация и дезинфекция. Техника безопасности при работе с микроорганизмами.
5. Основные типы брожений, вызываемые микроорганизмами: спиртовое, молочнокислое, пропионовокислое, маслянокислое, ацетоно-бутиловое, муравьиное. Общие схемы. Применение процессов брожения.
6. Анаэробное дыхание (нитратное, сульфатное, серное, карбонатное). Соответствующие неорганические акцепторы электрона. Значение бактерий в круговороте веществ в природе.
7. Нуклеиновые кислоты. Репликация ДНК. Генетический код. Трансформация. Трансдукция. Трансмиссия (конъюгация). Строение генома бактерий. Хромосомы и плазмиды. Генетическая основа эффективных экспрессирующих систем рекомбинантных белков *E.coli*.

Блок 5. Методы генетической инженерии

1. Принцип и области применения ПЦР. Требования к ферментам, используемых в полимеразной цепной реакции. Праймеры. Оптимизация условий проведения ПЦР. ДНК-полимераза *E.coli*. Параметры, характеризующие эффективность ДНК-полимераз.
2. Эндонуклеазы и экзонуклеазы: свойства и особенности механизма действия. ДНК-зонды. Типы, способы получения и области применения. Метки, используемые для детекции ДНК зондов. Их преимущества и недостатки.
3. Системы экспрессии рекомбинантных белков. Особенности экспрессии эукариотических белков в *E.coli*. Строение и принцип регулирования *lac*-промотора *E.coli*. Преимущества и недостатки по сравнению с эукариотическими системами экспрессии. Очистка белков.
4. Получение белков генноинженерным и традиционными путями. Направленный и неупорядоченный мутагенез. Преимущества и недостатки. Клонирование генов. Получение геномных и кДНК библиотек.
5. Секвенирование ДНК. Принципы химического и ферментативного секвенирования ДНК. Саузерн и Нозерн-блот анализ. Принципы и особенности. Особенности проведения электрофореза при секвенировании ДНК. Методы скрининга геномных и кДНК библиотек.

Блок 6. Аналитическая биотехнология. Медицинские аспекты биотехнологии

1. Основные методы исследования ферментов (спектроскопия, хроматография, электрофорез и др.) Высокоскоростные лабораторные методы забора проб, аликвотирования, качественного и количественного анализа, быстрое титрование, расшифровка последовательности биомакромолекул.
2. Биосенсоры: строение и области применения. Биосенсорные технологии. Флуоресцентные зонды и «квантовые точки». Хемилюминисценция.

Традиционные и новые методы иммуноанализа (тестовые полоски и иммуночипы). Традиционные и современные ПЦР методы. Биочипы. Концепция «лаборатория на чипе».

3. Микроскопия (конфокальная, сканирующая зондовая, микрофлюидная). Методы анализа сложных смесей («биоэлектронный нос», «биоэлектронный язык», нейросетевые алгоритмы, кластерный анализ). Методы секвенирования ДНК. Методы статистической обработки научных данных.

4. Нанофармацевтика. Ферменты (белки) в медицине. Проблемы и перспективы применения. Принципы конструирования лекарственных форм пролонгированного действия. Нестабильность ферментов в физиологических средах, антигенность, токсичность. Методы конструирования биокаталитических систем с улучшенными биофармацевтическими свойствами. Доставка лекарств через биологические барьеры.

5. Биофармацевтические препараты и ферменты заместительной терапии. Ферменты в диагностике и лечении онкологических, нейродегенеративных, эндокринологических, сердечно-сосудистых, инфекционных и других серьезных заболеваний. Примеры терапии ферментами и их ингибиторами.. Системы адресной доставки препаратов. Системы свертывания крови. Факторы свертывания крови. Болезни, связанные с нарушением свёртываемости крови. Гемофилия. Тромбоэмболия. Фибринолитические ферменты.

6. Инфекционные заболевания. Классификация антибиотиков и антибактериальных препаратов. Бета – лактамные антибиотики: структура и механизм действия. Механизмы формирования приобретённой резистентности бактерий к бета-лактамам. Биокаталитическая трансформация антибиотиков.

8. Образовательные технологии.

Проводятся традиционные лекции с использованием мультимедийных презентаций.

9. Учебно-методические материалы для самостоятельной работы по дисциплине (модулю):

Аспирантам предоставляется программа курса, план занятий и перечень заданий для самостоятельной работы. По теме каждой лекции указывается материал в источниках из списков основной и вспомогательной литературы, а также из интернет-ресурсов.

10. Ресурсное обеспечение:

Основная литература

1. Ленинджер, А. Биохимия / А. Ленинджер. – М. : [Мир], 2010. – [850] с.
2. Страйер, Л. Основы биохимии / Л. Страйер. – М. : Мир, [1984–1985]. – [Т. 1–3].
3. Биотехнология. Кн. 1 : Проблемы и перспективы. – М. : Высшая школа, 1987. – [320] с. – (Серия «Биотехнология»).
4. Варфоломеев, С. Д. Кинетические методы в биохимических исследованиях / С. Д. Варфоломеев, С. В. Зайцев. – М. : Изд-во МГУ, 1982. – [344] с.
5. Биосенсоры: основы и приложения / под ред. Э. Тернера, И. Карубе, Дж. Уилсона ; пер. с англ. – М. : Мир, 1992. – [614] с.
6. Нетрусов, А. И. Микробиология / А. И. Нетрусов, И. Б. Котова. – М. : Академия, 2007. – [352] с.
7. Жимулев, И. Ф. Общая и молекулярная генетика / И. Ф. Жимулев. – Новосибирск : Сибирское университетское издательство, 2003. – [480] с.
8. Чемерис, А. В. Секвенирование ДНК / А. В. Чемерис, Э. Д. Ахунов, В. А. Вахитов. – М. : Наука, 1999. – 427 с.
9. Маниатис, Т. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук ; пер. с англ. под ред. А. А. Баева, К. Г. Скрыбина. – М. : Мир, 1984. – 479 с.
10. Глик, Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак ; пер. с англ. – М. : Мир, 2002. – 589 с.
11. Ленгелер, Й. Современная микробиология. Прокариоты / Й. Ленгелер, Г. Древис, Г. Шлегель. – М. : Мир, [2005]. – [656] с.
12. Биотехнология. Кн. 7 : Имобилизованные ферменты. – М. : Высшая школа, 1987. – [288] с. – (Серия «Биотехнология»).
13. Кудряшова, Е. В. Функционирование и структура белков на поверхностях раздела фаз. Новые методы исследования / Е. В. Кудряшова. – Saarbrücken : Palmarium Academic Publishing, 2013. – [220] с.
14. Теория и практика иммуноферментного анализа / А. М. Егоров, А. П. Осипов [и др.]. – М. : Высшая школа, 1991. – [288] с.
15. Нанолечения. Концепции доставки лекарств в нанонауке. – М. : Научный мир, 2010. – [472] с.
16. Pasut, G. PEG conjugates in clinical development or use as anticancer agents: An overview / G. Pasut, F. M. Veronese // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2009. – Vol. 61, № 13. – P. 1177–1188.
17. Андрусенко, С. Ф. Общая и медицинская энзимология : учебник / С. Ф. Андрусенко. — Москва : КноРус, 2023. — 240 с. — ISBN 978-5-406-10814-7.
18. Иммуно- и нанобиотехнология : учебное пособие / Э. Г. Деева и др.. — Санкт-Петербург : Проспект Науки, 2024.

Дополнительная литература

1. Биохимические методы анализа. Ред. Б.Б.Дзантиев. – М.: Наука. 2010
2. Иммунология. В.Г. Галактионов. – М.: Изд. центр «Академия», 2004.

3. Основы медицинской иммунологии. А.Рабсон, А.Ройт, П.Делвз. Пер. с англ. – М.: Мир, 2006.
4. Analytical Biotechnology. A.M.Krall, T.G.M.Schalkhammer. 2002.
5. R.A. Guijt-van Duijn et al. Miniaturized analytical assay in biotechnology// Biotechnology Advances 21 (2003), 431-444.
6. Шлегель Г. Общая микробиология. М. Мир, 1987. Периодическая научная литература.

Описание материально-технической базы

— ноутбук, мультимедийный проектор, демонстрационная доска.

11. Язык преподавания – русский

12. Преподаватели:

д.х.н. проф. Кудряшова Е.В.

д.х.н. проф. Клячко Н.Л.

д.х.н. проф. Савицкий А.П.

к.х.н. Белогурова Н.Г.

Фонды оценочных средств, необходимые для оценки результатов обучения

Вопросы к зачету

Вопросы к разделу «Ферменты в биотехнологии»

1. Биотехнология: предмет и задачи. Классическая (традиционная) и "современная" (генноинженерная) биотехнология.
2. Задачи и возможности инженерной энзимологии.
3. Примеры практического использования ферментов (ферментных препаратов) для целей тонкого органического синтеза (получение аминокислот, пептидов, антибиотиков, стероидов и других биологически-активных веществ).
4. Пути регуляции положения равновесия в ферментативных реакциях - контроль. Выхода целевого продукта.
5. Пути получения стабильных и технологичных катализаторов на основе ферментов и их препаратов.
6. Принципы стабилизации ферментов в неводных средах.
7. Принцип пространственного разделение фермента и органического растворителя и возможности его практической реализации.
8. Примеры используемых на практике систем, их достоинства и недостатки. Мицеллярные системы, способы включения ферментов в системы обращенных мицелл. Типы и структуры фермент-содержащих мицелл.
9. Регуляция каталитической активности ферментов в мицеллярных системах варьированием степени гидратации и концентрации ПАВ. Случаи простых и сложных ферментов.
10. Использование мицеллярных систем с солюбилизированными белками (ферментами) для целей тонкого органического синтеза, химического (биохимического, иммуноферментного) анализа и медицины (терапии).
11. Обращенные мицеллы как нанореакторы контролируемой формы и размеров: возможности молекулярной и супрамолекулярной белковой инженерии.
12. Обращенные мицеллы как инструмент получения ферментных препаратов с заданными характеристиками.

Вопросы к разделу «Иммобилизованные ферменты»

1. Носители для иммобилизации белков (ферментов). Классификация. Приемы активации носителей. Носители, применяемые в медицине.
2. Иммобилизация белков (ферментов). Общие определения. Преимущества

иммобилизованных препаратов биокатализаторов. Области применения. Проблемы и перспективы.

3. Типы иммобилизации. Физическая иммобилизация. Сравнительный анализ типов физической иммобилизации.

4. Химическая иммобилизация. Химические реакции, приводящие к созданию связей белок-носитель. Ковалентная модификация ферментов. Основные реакции модификации аминокрупп, карбоксильных групп и тио-групп фермента. Области применения химически иммобилизованных белков (ферментов); применение ковалентно модифицированных ферментов.

5. Кинетические закономерности катализа иммобилизованными ферментами. Конформационное состояние иммобилизованного фермента. Эффекты распределения компонентов системы с иммобилизованными ферментами. Понятие о кинетическом и диффузионных режимах протекания ферментативной реакции.

6. Структура и стабильность ферментов. Молекулярные причины инактивации ферментов. Механизмы стабилизации ферментов при иммобилизации.

Вопросы к разделу «Иммуноферментный анализ»

1. Физико-химические закономерности взаимодействия антиген-антитело

2. Количественная оценка специфичности. Аффинность, авидность.

Перекрестные реакции. Гетерогенность антител. Методы определения аффинности антител. Графические способы расчета констант связывания (метод Скетчарда, координаты Хилла). Взаимодействие двух субпопуляций антител с моновалентным антигеном. Анализ кинетических закономерностей взаимодействия антиген-антитело. Способы определения прямой и обратной кинетических констант.

3. Методы иммунохимического анализа.

4. Особенности взаимодействия поливалентных антигенов с антителами. Влияние соотношения реакционных компонентов на процессы комплексообразования. Методы иммунопреципитации. Реакция радиальной иммунодиффузии по Манчини. Реакция преципитации. Реакция кольцепреципитации. Реакция связывания комплемента. Реакция агглютинации и реакция гемагглютинации. Способы повышения чувствительности анализа. Метод Ухтерлони. Иммуноэлектрофорез. Двумерный иммуноэлектрофорез. Методы иммуноблотинга.

5. Теоретические основы иммуноферментного анализа.

6. Неконкурентные методы. Факторы, влияющие на предел обнаружения (концентрация компонентов, время анализа, чувствительность регистрации метки, аффинность антител), уменьшение неспецифического связывания. Конкурентные методы. Общий вид калибровочных кривых. Влияние аффинности антител и концентрации меченых антител на предел обнаружения в анализе. Основные способы повышения чувствительности для неконкурентного и конкурентного видов иммуноферментного анализа.

Вопросы к разделу «Микробиология. Особенности микробиологических производств»

1. Место микроорганизмов в природе (животные, растения, протисты). Общие свойства микроорганизмов, (размеры, особенности метаболизма, высокая скорость размножения и т.д.).

2. Строение прокариотической клетки (отличия от эукариотической).

1) Плазматическая мембрана, клеточная стенка, ядерный аппарат, рибосомы, фотосинтетические ламеллы, включения.

2) Основные морфологические группы бактерий.

3. Клеточная стенка грамположительных и грамотрицательных бактерий. Строение муреинового слоя. Механизм действия лизоцима и пенициллина. Протопласты и сферопласты.

4. Питание и рост микроорганизмов.

- 1) Потребность в химических элементах (макро- и микроэлементы).
- 2) Источники углерода и энергии (автотрофные и гетеротрофные микроорганизмы). Факторы роста (понятие ауксотрофии).
- 3) Отношение к кислороду (облигатные, факультативные аэробы, анаэробы). Аэрация (способы увеличения поверхности раздела между газовой и жидкой фазами). Анаэробные культуры. Техника Хангейта.
5. Питание и рост микроорганизмов.
 - 1) Питательные среды (синтетические, сложные, твердые и т.д.).
 - 2) Отношение к концентрации ионов водорода.
- 3 Отношение к температуре (мезофильные, термофильные и психрофильные микроорганизмы).
- 4) Селективные методы культивирования. Получение накопительных культур. Чистая культура. Смешанная культура.
6. Физиология роста микроорганизмов.
 - 1) Основные понятия (концентрация и плотность бактерий, константы скорости деления и роста, время генерации и удвоения).
 - 2) Методы определения числа бактерий (общее число клеток, число живых клеток).
 - 3) Методы определения бактериальной массы (прямые и косвенные).
 - 4) Кинетическое описание экспоненциального роста.
7. Физиология роста микроорганизмов.
 - 1) Рост бактерий в периодической культуре. Характеристика фаз кривой роста бактериальной культуры. Параметры кривой роста (урожай, скорость роста, длительность лаг-фазы).
 - 2) Рост в непрерывной культуре. Характеристика роста в хемостате. Различие между периодической и непрерывной культурами.
 - 3) Синхронизация клеточного деления.
8. Подавление роста и гибель микроорганизмов. Бактериостатическое и бактерицидное действие различных агентов. Действие на поверхностные структуры клетки (этанол, детергенты и т.д.). Дезинфекция. Ферментные яды. Механизм действия сульфониламидов, антибиотиков (хлорамфеникол, пенициллин, стрептомицин). Методы стерилизации. Техника безопасности при работе с микроорганизмами.
9. Основные типы брожений, вызываемые микроорганизмами. Понятие брожения как способа регенерации АТФ. Основные реакции фосфорилирования. Характерные конечные продукты различных брожений.
10. Спиртовое брожение, вызываемое дрожжами и бактериями. Общая схема. Применение дрожжей в пищевой промышленности.
11. Молочнокислое брожение. Общая схема. Основные представители (гомо- и гетероферментативное брожение). Применение и распространение молочнокислых бактерий.
12. Пропионовокислое брожение. Краткая характеристика пропионовокислых бактерий, их использование в сыроделии.
- Маслянокислое и ацетонобутиловое брожения. Краткая характеристика бактерий родов *Bacillus* и *Clostridium*.
13. Муравьинокислое брожение. Основные роды бактерий, осуществляющие брожение по этому пути. Патогенные представители. Светящиеся бактерии.
14. Анаэробное дыхание (нитратное, сульфатное, серное, карбонатное). Соответствующие неорганические акцепторы электрона. Значение бактерий в круговороте веществ в природе.
15. Нуклеиновые кислоты: первичная и вторичная структуры. Репликация ДНК. Транскрипция. Трансляция. Способы реализации генетической информации. Генетический код.
16. Обмен генетической информацией между микроорганизмами в природе. Трансформация. Трансдукция. Трансмиссия (конъюгация).
17. Модификация нуклеиновых кислот. Системы рестрикции-модификации ДНК и их роль

в природе. Репарация ДНК.

18. Строение генома бактерий. Хромосома. Плазмиды. их классификация (группы "несовместимости"), регуляция копияности.

19. Понятие "ген".

20. Генетическая основа эффективных экспрессирующих систем рекомбинантных белков *E.coli*.

Вопросы к разделу «Аналитическая биотехнология. Медицинские аспекты биотехнологии»

1 Аналитическая спектроскопия (ЯМР, флуоресцентная и др.).

2 Масс-спектрометрия.

3 Хроматография.

4 Капиллярный электрофорез.

5 Высокоскоростные лабораторные методы забора и разделения проб, аликвотирования, качественного и количественного анализа.

6 Быстрое типирование и расшифровка последовательности биомакромолекул.

7 Биосенсорные технологии (основные типы детекторов и элементов «селекторов»).

8 Флуоресцентные зонды, «квантовые точки».

9 Хемолюминесценция.

10 Клиническая биохимия, экологический мониторинг (традиционные методы, автоматизация анализа, миниатюризация анализа, концепции «лаборатория на чипе» и «у постели больного»).

11 Традиционные методы иммуноанализа. Новые платформы иммуноанализа (тестовые полоски, иммуночипы).

12 Методы ПЦР (традиционные подходы, online ПЦР, ПЦР на чипе).

13 Биочипы (МАГИК-чип (Матрица Гель-Иммобилизованных Компонентов на микрочипе), биочипы на основе жидких кристаллов ДНК, анализ на основе аптамерной ДНК, «клетка на чипе», «лаборатория на чипе»).

14 Конфокальная микроскопия.

15 Сканирующая зондовая микроскопия.

16 Микрофлюидные технологии.

17 Иммобилизация биомакромолекул, клеточных органелл и целых клеток.

18 Методы анализа сложных смесей («биоэлектронный нос», «биоэлектронный язык», нейросетевые алгоритмы, кластерный анализ).

19 Концепция «лаборатория на чипе»

20 Нанофармацевтика

21 Нанобиоэлектроника и биомолекулярная электроника

22 Ферменты (белки) в медицине. Проблемы и перспективы применения. Принципы конструирования лекарственных форм пролонгированного действия.

23 Методы статистической обработки результатов

24 Методы секвенирования ДНК

25 Методы статистической обработки научных данных

26 Проблемы и перспективы применения ферментов в медицинской биотехнологии. Три основных направления исследований в области медицинской энзимологии: энзимопатология, энзимодиагностика и энзимотерапия.

27 Ферменты в диагностике и лечении онкологических, нейродегенеративных, эндокринологических, сердечно-сосудистых, инфекционных и других серьезных заболеваний. Примеры терапии ферментами и их ингибиторами.

28 Биофармацевтические препараты и ферменты заместительной терапии. Лизосомальные болезни. Заболевания, связанные с нарушением липидного обмена. Ожирение и атеросклероз.

29 Система свертывания крови. Факторы свертывания крови. Болезни, связанные с нарушением свёртываемости крови. Гемофилия. Тромбоэмболия. Фибринолитические

ферменты

30 Ферменты в онкотерапии.

31 Проблемы использования ферментов в медицине. Нестабильность в физиологических условиях, антигенность, токсичность.

32 Конструирование биокаталитических систем с улучшенными биофармацевтическими свойствами. Методы создания лекарств пролонгированного действия. Модификация белковых препаратов для придания им эффективности как лекарственных средств.

33 Наноматериалы медицинского назначения и нанолечения. Разработка и физико-химические свойства. Доставка лекарств через биологические барьеры.

34 Системы адресной доставки лекарств. Направленный транспорт белковых лекарственных веществ.

35 Инфекционные заболевания. Классификация антибиотиков. Бета лактамные антибиотики - пенициллины и цефалоспорины. Механизмы формирования приобретённой резистентности бактерий к бета-лактамам антибиотикам. Биокаталитическая трансформация антибиотиков.

36 Биосенсорные устройства, основанные на различных методах детекции. Электрохимические биосенсоры. Полупроводниковые биосенсоры. Оптические квантовые системы (поверхностный плазмонный резонанс, дифракционные решетки, эффект полного отражения и т.д.) Амплификационные системы преобразования сигнала.

Примеры билетов к зачету

Билет 1.

1. Полимеразная цепная реакция - принцип и области применения.
2. Оптимизация структуры ДНК-зондов, получаемых на основе аминокислотной последовательности.
3. Принципы химического секвенирования ДНК.

Билет 2.

1. Требования к ферментам, используемых в полимеразной цепной реакции.
2. Метки, используемые для детекции ДНК зондов. Их преимущества и недостатки.
3. Принципы ферментативного секвенирования ДНК.

Билет 3.

1. Выбор праймеров и оптимизация условий полимеразной цепной реакции.
2. Клонирование генов. Получение геномных и к ДНК библиотек.
3. Особенности экспрессии эукариотических белков в *E.coli*.

Билет 4.

1. Области применения полимеразной цепной реакции.
2. Назовите ферменты модификации ДНК и РНК и опишите их активности
3. Методы скрининга геномных и к ДНК библиотек.

Билет 5.

1. Ферменты, используемые для секвенирования ДНК и требования, предъявляемые к ним.
2. Что такое направленный и неупорядоченный мутагенез. Преимущества и недостатки каждого из подходов.
3. Требования, предъявляемые к системам экспрессии рекомбинантных белков.

Билет 6.

1. Эндонуклеазы рестрикции второго типа. Свойства и особенности механизма действия.
2. ДНК-зонды. Типы, способы получения и области применения.
3. Экспрессия рекомбинантных белков в *E.coli*. Преимущества и недостатки по сравнению с эукариотическими системами экспрессии.

Билет 7.

1. ДНК-полимераза I *E.coli*. Строение и особенности механизма действия.
2. Достоинства и недостатки метода направленного мутагенеза.
3. Опишите структурные элементы экспрессионного вектора, необходимые для

высокоэффективной экспрессии белков в *E.coli*.

Билет 8.

1. Параметры, характеризующие эффективность ДНК-полимераз.
2. Достоинства и недостатки метода «направленной эволюции».
3. Опишите строение и принцип регулирования *lac*-промотора

Билет 9.

1. Назовите основные типы ферментов, гидролизующих ДНК и РНК, и опишите их специфичность.
2. Особенности проведения электрофореза при секвенировании ДНК.
3. Какие методы аффинной очистки рекомбинантных белков вы знаете?

Билет 10.

1. Параметры, характеризующие эффективность ДНК-полимераз.
2. Достоинства и недостатки клонирования генов в плазмидах и фагах.
3. Преимущества способов получения белков генно-инженерным путем по сравнению с традиционными методами.

Билет 11.

1. ДНК-полимераза *E.coli*. Строение и особенности механизма действия.
2. Особенности проведения электрофореза при секвенировании ДНК.
3. Опишите структурные элементы экспрессионного вектора, необходимые для высокоэффективной экспрессии белков в *E.coli*.

Билет 12.

1. Назовите основные типы ферментов, гидролизующих ДНК и РНК и опишите их специфичность.
2. Типы и способы введения меток при ферментативном секвенировании.
3. Что такое направленный и неупорядоченный мутагенез. Преимущества и недостатки каждого из подходов.

Билет 13.

1. Ферменты, используемые для секвенирования ДНК и требования, предъявляемые к ним.
2. Вектора, используемые для создания геномных и к ДНК библиотек.
3. Преимущества способов получения белков генно-инженерным путем по сравнению с традиционными методами.

Билет 14.

1. Назовите основные типы ферментов, гидролизующих ДНК и РНК и опишите их специфичность.
2. Секвенирование ДНК. Особенности проведения электрофореза при секвенировании ДНК.
3. Преимущества способов получения белков генно-инженерным путем по сравнению с традиционными методами.

Билет 15.

1. Назовите основные типы ферментов, гидролизующих ДНК и РНК и опишите их специфичность.
2. Достоинства и недостатки клонирования генов в плазмидах и фагах.
3. Опишите структурные элементы экспрессионного вектора, необходимые для высокоэффективной экспрессии белков в *E.coli*.

Билет 16.

1. Параметры, характеризующие эффективность ДНК-полимераз.
2. Вектора, используемые для создания геномных и к ДНК библиотек.
3. Опишите структурные элементы экспрессионного вектора, необходимые для высокоэффективной экспрессии белков в *E.coli*.

Билет 17.

1. Эндонуклеазы рестрикции второго типа. Свойства и особенности механизма действия.
2. Саузерн и Нозерн-блот анализ. Принципы и особенности

3. Какие методы аффинной очистки рекомбинантных белков вы знаете?

Билет 18.

1. ДНК-полимеразы и проявляемые ими типы активности. Требования к ДНК-полимеразам, используемых в полимеразной цепной реакции.
2. Достоинства и недостатки клонирования генов в плазидах и фагах.
3. Опишите структурные элементы экспрессионного вектора, необходимые для высокоэффективной экспрессии белков в *E.coli*.

Билет 19.

1. Назовите ферменты модификации ДНК и РНК и опишите их активности
2. Саузерн и Нозерн-блот анализ. Принципы и особенности
3. Преимущества способов получения белков генно-инженерным путем по сравнению с традиционными методами.

Билет 20.

1. Параметры, характеризующие эффективность ДНК-полимераз.
2. Принципы химического секвенирования ДНК.
3. Особенности экспрессии эукариотических белков в *E.coli*.

Билет 21.

1. Типы и способы введения меток при ферментативном секвенировании.
2. Саузерн и Нозерн-блот анализ. Принципы и особенности
3. Направленный и неупорядоченный мутагенез. Преимущества и недостатки каждого из подходов.

Билет 22.

1. ДНК-полимераза *E.coli*. Строение и особенности механизма действия.
2. Принципы ферментативного секвенирования ДНК.
3. Требования, предъявляемые к системам экспрессии рекомбинантных белков.

Билет 23.

1. Назовите основные типы ферментов, гидролизующих ДНК и РНК и опишите их специфичность.
2. Принципы химического секвенирования ДНК
3. Опишите структурные элементы экспрессионного вектора, необходимые для высокоэффективной экспрессии белков в *E.coli*.

Билет 24.

1. Назовите ферменты модификации ДНК и РНК и опишите их активности.
2. Полимеразная цепная реакция - принцип ПЦР.
3. Опишите строение и принцип регулирования *lac*-промотора

Билет 25.

1. Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Требования к ферментам, используемых в ПЦР.
2. Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Требования к ферментам, используемых в ПЦР.
3. Направленный и неупорядоченный мутагенез. Преимущества и недостатки каждого из подходов.

Билет 26.

1. ДНК-зонды. Типы, способы получения и области применения.
2. Вектора, используемые для создания геномных и кДНК библиотек.
3. Преимущества и недостатки экспрессии рекомбинантных белков в *E.coli* по сравнению с эукариотическими системами экспрессии.

**Методические материалы
для проведения процедур оценивания результатов обучения**

Зачет проходит по билетам, каждый из которых включает три теоретических вопроса. Уровень знаний аспиранта оценивается по каждому вопросу на «отлично», «хорошо», «удовлетворительно», «неудовлетворительно». В случае если на все вопросы был дан

ответ, оцененный не ниже, чем «удовлетворительно», аспирант получает общую оценку «зачтено».

ШКАЛА И КРИТЕРИИ ОЦЕНИВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю)				
Оценка Результат	Незачёт (2)	Зачёт (3)	Зачёт (4)	Зачёт (5)
Знания	Отсутствие базовых знаний о современных проблемах биотехнологии	Общие, но неглубокие знания о современных проблемах биотехнологии	Общие, но не структурированные знания о современных проблемах биотехнологии	Сформированные систематические знания о современных проблемах биотехнологии
Умения	Отсутствие умения применять знания о современных проблемах биотехнологии	В целом успешное, но не систематическое умение применять знания о современных проблемах биотехнологии для решения научных задач	В целом успешное, но содержащее отдельные пробелы умение применять знания о современных проблемах биотехнологии для решения научных задач (допускает неточности не принципиального характера)	Успешное и систематическое умение применять знания о современных проблемах биотехнологии
Навыки (владения)	Отсутствие навыков применения аппарата современной биотехнологии	Наличие навыков применения аппарата современной биотехнологии, не всегда верно используемых	В целом сформированные навыки применения аппарата современной биотехнологии, но не в активной форме	Сформированные навыки применения аппарата современной биотехнологии при решении научных задач