Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»
Факультет наук о материалах

УТВЕРЖДАЮ

И.о. декана факультета наук о материалах,
акад. РАН, профессор

/ Солнцев К.А. /

«28» апреля 2022 г.

ПРОГРАММА-МИНИМУМ

кандидатского экзамена по специальности

1.5.6 Биотехнология

Шифр и наименование укрупненной группы научных специальностей:

1.5. Биологические науки

Наименование отраслей науки, по которым присуждаются ученые степени: химические науки

Рабочая программа рассмотрена и одобрена
Учебно-методической комиссией факультета
(протокол № 01 от 16 марта 2022 г.)

Москва 2022

I. Описание программы:

Аналитическая биотехнология - совокупность технологий и методов, которые обеспечивают исследования и проведение различного сорта измерений в следующих областях:

- геномика,
- протеомика,
- исследование метаболизма,
- поиск новых лекарственных препаратов,
- скрининг, анализ структуры и функционального поведения биомакромолекул (ДНК, РНК, белки) и микрорганизмов
- скрининг, анализ структуры и функционального поведения низкомолекулярных метаболитов и физиологически активных веществ,
- создание аналитических платформ на основе иммобилизованных и стабилизированных форм биомакромолекул, клеточных органелл, целых клеток и тканей,
- создание неинвазивных технологий для анализа сложных смесей молекул и организмов.

Нанобиотехнология это мультидисциплинарная область, объединяющая достижения физики, химии, биологии, инженерных наук и медицины. Нанобиотехнология изучает процессы, включающие в себя использование биоматериалов, приборов и методологий с размеров функциональных компонент в диапазоне между размерами молекул и длинами волн видимого света (0,1 – 600 нм). Основные направления исследований связаны с:

-исследованием явлений самосборки и самоорганизации биомолекул , клеточных мембран, вирусов с целью использования в производстве и создания наноструктур,

- исследованием возможностей применения достижений нанотехнологии для изучения биосистем и создания новых биоаналитических платформ.

II. Основные разделы и вопросы к экзамену:

I. Аналитическая биотехнология– мультидисциплинарная область. Основные методы и подходы.

- Аналитическая спектроскопия (ЯМР, флуоресцентная и др.).
- Масс-спектрометрия.
- Хроматография.
- Капиллярный электрофорез.

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

- Быстрое типирование и расшифровка последовательности биомакромолекул.

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

- Флуоресцентрные зонды, «квантовые точки».

- Хемолюминесценция.

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

- Традиционные методы иммуноанализа.

- Новые платформы иммуноанализа (тестовые полоски, иммуночипы).

- Методы ПЦР (традиционные подходы, on line ПЦР, ПЦР на чипе).

- 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»).

- Конфокальная микроскопия.

- Сканирующая зондовая микроскопия.

- Микрофлюидные технологии.

- Иммобилизация биомакромолекул, клеточных органелл и целых клеток.

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

II. Пищевая биотехнология.

Пищевое сырьё, структура и химический состав. Химические изменения в процессе хранения и обработки пищевого сырья. Ферментативные методы анализа пищевых продуктов. Процессы (био)предобработки и ферментации растительного и животного сырья. Пищевые добавки, биологически активные добавки (БАД). Заменители (белков, жиров и углеводов) в производстве продуктов питания. Нетрадиционные источники питания.

III.Иммобилизованные ферменты

1. Иммобилизованные ферменты: определение и основные преимущества при использовании в биотехнологических процессах.

2. Носители для иммобилизации ферментов. Общая классификация. Полисахариды и белки как природные полимерные органические носители. Представление о других типах органических носителей. Силикагели, алюмосиликаты, уголь, оксиды металлов и другие неорганические носители. Основные преимущества и недостатки носителей различной природы, критерии подбора носителя.

3. Активация носителей - введение электрофильной группировки, доступной для взаимодействия с ферментом. Основные группы носителей, используемые для активации. Приемы активации гидроксильных, амино и карбоксильных групп.

4. Химическая иммобилизация. Принципы конструирования систем с химически иммобилизованными ферментами. Критерии выбора групп в составе фермента для взаимодействия с активированным носителем. Примеры химических реакций между группами активированного носителя и фермента. Область применения химически иммобилизованных ферментов.

5. Физическая иммобилизация. Основные типы биокаталитических систем: ферменты, абсорбированные на твердых носителях, фермент содержащие гели, системы с полупроницаемыми мембранами, двухфазные системы «жидкось-жидкость». Способы приготовления, преимущества и недостатки систем разных типов. Область применения физически иммобилизованных ферментов.

6. Кинетические закономерности катализа иммобилизованными ферментами. Эффекты распределения субстрата. Представление о кинетическом и диффузионном режимах. Внешне- и внутридиффузионные ограничения, экспериментальные подходы к выявлению типа диффузионных ограничений. Эффекты распределения и ограничения диффузии прочих компонентов (на примере протонов) в системе с иммобилизованным ферментом.

7. Стабильность ферментов. Представление об обратимой денатурации и необратимой инактивации белков. Основные механизмы инактивации. Стабилизация ферментов и белков других классов путем иммобилизации.

8. Примеры эффективного использования препаратов иммобилизованных ферментов в различных областях науки и производства: пищевой промышленности, медицине, химическом анализе, защите окружающей среды.

III. Экологическая биотехнология.

Экологическая биотехнология и ее положение в современной биотехнологии. История экологической биотехнологии. Значимость

биотехнологических методов для защиты окружающей среды в современном обществе. Глобальные экологические проблемы.

Основополагающие понятия, используемые в области защиты окружающей среды. Классификация основных типов загрязнений и методов, применяемых для их конверсии, удаления или предотвращения

Роль биотехнологии в экологическом мониторинге и создании новых высокочувствительных методов анализа загрязнений. Биотехнологические методы обработки сточных вод. Удаление из них соединений углерода, азота, фосфора, серы и тяжелых металлов.

Биотехнологические методы обработки и утилизации твердых отходов: бытовых, промышленных и сельскохозяйственных.

Биоремедиация почв, загрязненных нефтью, тяжелыми металлами, ксенобиотиками.

Обессеривание природного газа, угля и нефти

Возможностями экологической биотехнологии в области замещения ископаемых топлив на возобновляемые источники энергии биологической происхождения – биомассу, биогаз, этанол, водород и др.

Современное состояние в области микробиологических методов повышения нефтеотдачи и выделения металлов из низкоконцентрированных руд и сточных вод.

Экологическая биотехнологии как мощный инструмент интенсификации, экологизации и революционизации традиционных технологий

Нанобиотехнология

Основы нанотехнологии. Физические основы нанотехнологии. Наноструктурированные материалы. Тонкие пленки. Наночастицы (нанотрубки, квантовые точки, фуллерены, фуллериты).

Нанобиосенсоры

Нанофлюидики

Наносборка, нано- и микроэлектромеханические системы (НЭМС и МЭМС)

Клеточная и тканевая инженерия

Нанофотоника (взаимодействие света с биологически активными наноструктурами)

Зондовая микроскопия

Молекулярные «моторы», наноразмерная биомеханика

Концепция «лаборатория на чипе»

Нанофармацевтика

Нанобиоэлектроника и биомолекулярная электроника

Иммунобиотехнология

Основы иммунологии, иммунохимии и иммунобиотехнологии. Два исторических этапа иммунологии –классическая и современная. Зарождение экспериментальной иммунологии. Работы Дженнера, Эрлиха, Беринга, Мечникова, Пастера. Компоненты крови (клеточные элементы, плазма, сыворотка). Способы защиты организма против чужеродных веществ. Фагоцитоз, система комплемента, клетки киллеры. Клетки крови (гранулоциты, моноциты, лимфоциты). Т- и В-клетки, продуцирование антител, иммунологическая память. Антигены. Лимфатическая система и селезенка. Клетки миеломы и гибридомы. Моноклональные антитела. Получение моноклональных антител. Структура и функции иммуноглобулинов. Классы антител. Трехмерная структура иммуноглобулинов. Области связывания антигенов. Получение иммунной сыворотки и очистка антител. Иммуносорбенты. Области применения моноклональных антител. Вакцины. Методы иммунохимического анализа. Реакция радиальной иммунодиффузии по Манчини. Реакция преципитации. Реакция кольцепреципитации. Иммуноэлектрофорез. Реакция агглютинации и реакция гемагглютинации. Методы иммунохимического анализа, основанные на введении в молекулы антител или антигенов различных меток. Радиоиммунологический анализ (достоинства и недостатки). Иммуноферментный анализ. Общая классификация медов иммунохимического анализа с использованием меченых реагентов. Физико-химические закономерности взаимодействия антиген-антитело. Иммунологическая специфичность, методы определения аффинности антител. Авидность. Способы определения кинетических констант взаимодействия антиген-антитело. Методы иммуноферментного анализа (ИФА). Классификация гетерогенных и гомогенных методов ИФА. Сравнительная оценка различных схем проведения ИФА. Получение и свойства иммобилизованных антител и антигенов. Методы получения конъюгатов для иммуноферментного анализа (синтез конъюгатов гаптенов с носителями для получения антител, получение конъюгатов фермент-белок, гаптен-фермент). Нековалентные способы введения ферментной метки. Теоретические основы гетерогенного и гомогенного методов ИФА. Оценка пределов обнаружения веществ с использованием конкурентного и неконкурентного вариантов проведения анализа. Технология производства наборов реагентов для ИФА. Проточные методы иммунохимического ИФА. Новые направления в развитии методов иммуноанализа.

Медицинская биотехнология

1. Основы антибиотикотерапии.
2. Энзимотерапия, транспортные и регуляторные белки:
    1) заместительная терапия;
    2) тромболитическая и антифибринолитическая терапия
    3) противоопухолевая терапия;
    4) наружное применение.
3. Генотерапия и антисмысловая терапия.
4. Системы доставки лекарственных средств:
    1) водорастворимые полимерные коньюгаты;
    2) полимерные комплексы;
    3) искусственные клетки, микро и наночастицы, микро и нанокапсулы, полимерные мицеллы;
    4) полимерные гидрогели;
    5) направленный транспорт лекарств, используемые векторы;
    6) создание препаратов локального действия.
5. Высокопроизводительный скрининг лекарств. Молекулярные основы заболеваний. Модели заболеваний человека на животных.
6. Визуализация ферментативных процессов в живых организмах. Контрастирующие препараты для ЯМР и оптической томографии.

Микробиология

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

Сравнение строения прокариотической и эукариотической клеток. (плазматическая мембрана, клеточная стенка, ядерный аппарат, рибосомы, фотосинтетические ламеллы, включения.

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

Питание и рост микроорганизмов. Потребность в химических элементах (макро- и микроэлементы). Источники углерода и энергии (автотрофные и гетеротрофные микроорганизмы). Факторы роста (понятие ауксотрофии). Отношение к кислороду (облигатные, - факультативные аэробы, анаэробы). Аэрация (способы увеличения поверхности раздела между газовой и жидкой фазами). Анаэробные культуры. Техника Хангейта. Питательные среды (синтетические, сложные, твердые и т.д.). Отношение к концентрации ионов водорода. Отношение к температуре (мезофильные, термофильные и психрофильные микроорганизмы). Селективные методы

культивирования. Получение накопительных культур. Чистая культура. Смешанная культура.

Физиология роста микроорганизмов. Основные понятия (концентрация и плотность бактерий, константы скорости деления и роста, время генерации и удвоения). Методы определения числа бактерий (общее число клеток, число живых клеток). Методы определения бактериальной массы (прямые и косвенные). Кинетическое описание экспоненциального роста.

Физиология роста микроорганизмов. Рост бактерий в периодической культуре. Характеристика фаз кривой роста бактериальной культуры. Параметры кривой роста (урожай, скорость роста, длительность лаг-фазы). Рост в непрерывной культуре. Характеристика роста в хемостате. Различие между периодической и непрерывной культурами. Синхронизация клеточного деления.

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.

Основные типы брожений, вызываемые микроорганизмами. Понятие брожения как способа регенерации АТФ. Основные реакции фосфорилирования. Характерные конечные продукты различных брожений.

Спиртовое брожение, вызываемое дрожжами и бактериями. Общая схема. Применение дрожжей в пищевой промышленности.

Молочнокислое брожение. Общая схема. Основные представители (гомо- и гетероферментативное брожение). Применение и распространение молочнокислых бактерий.

Пропионовокислое брожение. Краткая характеристика пропионовокислых бактерий, их использование в сыроделии.

Маслянокислое и ацетоно-бутиловое брожения. Краткая характеристика бактерий родов Bacillus и Clostridium.

Муравьинокислое брожение. Основные роды бактериий. осуществляющие брожение по этому пути. Патогенные представители. Светящиеся бактерии.

Анаэробное дыхание (нитратное, сульфатное, серное, карбонатное). Соответствующие неорганические акцепторы электрона. Значение бактерий в круговороте веществ в природе.

Нуклеиновые кислоты: первичная и вторичная структуры. Репликация ДНК. Транскрипция. Трансляция. Способы реализации генетической информации. Генетический код.

Обмен генетической информацией между микроорганизмами в природе. Трансформация. Трансдукция. Трансмиссия (конъюгация).

Модификация нуклеиновых кислот.Системы рестрикции-модификации ДНК и их роль в природе. Репарация ДНК.

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

Кругооборот веществ в природе и реутилизация промышленных и сельскохозяйственных отходов. Представление о круговороте веществ и циклах элементов в природе. Понятие о биосфере. Микроорганизмы как агенты биогеохимических и почвенных преобразований. Реутилизация промышленных и сельскохозяйственных отходов. Методы очистки сточных вод (механические, физико-химические, биологические), обработка и утилизация осадков сточных вод. Методы обработки и утилизации биомассы. Обеззараживание газовых выбросов. Создание замкнутых технологических схем безотходного производства.

Хромосомы бактерий и вирусов. Доказательство роли ДНК в передаче наследственной информации.

Процессы, ведущие к рекомбинации у одноклеточных эукариотов. Изо-тамия и гетерогамия. Конъюгация у простейших. Процессы, ведущие к рекомбинации прокариот. Явление конъюгации у бактерий. Генетическая детерминация различий штаммов — доноров и реци-пиентов. Половой фактор. Эписомы и плазмиды.

Способы рекомбинаций. Перенос генов при трансформации у бактерий. Природа трансформации у бактерий. Природа трансформирующего агента. Трансдукция у бактерий.

Процессы, ведущие к рекомбинации у бактериофагов. Множественная инфекция бактериальной клетки. Особенности рекомбинации у бактериофагов. Молекулярные механизмы и модели рекомбинации. Универсальность процесса рекомбинаций носителей наследственной информации на разных уровнях рекомбинации живого.

Генетическая инженерия

Ферменты, модификации ДНК и РНК: полимеразы, обратные транскриптазы, нуклеазы и рестриктазы, лигазы, полинуклеотидкиназы. Анализ фрагментов ДНК с помощью электрофореза.

ДНК-зонды. Размеры, способы получения. Оптимизация структуры ДНК-зондов, получаемых на основе аминокислотной последовательности. Метки, используемые для детекции ДНК зондов. Саузерн и Нозерн-блот анализ.

Клонирование - генов. Получение геномных. и к-ДНК_ библиотек. Вектора, используемые для создания геномных и кДНК библиотек. Методы скриннига.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Принцип ПЦР. Требования к ферментам, используемым в ПЦР. Выбор праймеров и оптимизация условий ПЦР. Области применения ПЦР.

Секвенирование ДНК. Принципы методов химического и ферментативного секвенирования. Требования к ферментам, используемым для секвенирования. Подходы и стратегия, используемые при секвенировании по Сэнгеру. Секвенирование с помощью радиоактивных и нерадиоактивных меток.

Мутации, их классификация. Молекулярный механизм генных мутаций. Процессы репарации ДНК. Значение ошибок репликации, рекомбинации и репараций в возникновении мутаций. Генетический контроль мутационного процесса.

Мутагены. Проблема специфичности мутагенов. Закономерности индуцированного мутационного процесса. Мутагены окружающей среды и методы их тестирования.

Селекция. Генетические основы селекции.

Генетическая основа эффективных экспрессирующих систем рекомбинантных белков E.coli.

Белковая инженерия.

Основные направления в инженерии ферментов. Методы проведения мутагенеза белков и ферментов. Способы повышения стабильности ферментов.

Трансгенные животные и растения. Этические и экономические аспекты.

Биоинформатика.

Понятие биоинформатики. Области применения.

Компьютерное моделирование структуры биомолекул. Анализ последовательностей генов и аминокислотрых последовательностей.

Базы данных. Поиск информации в этих базах.

Критерии оценивания

Критерии и показатели оценивания ответа на экзамене			
Не-удовлетворительно	**Удовлетворительно**	**Хорошо**	**Отлично**
2 балла	**3 балла**	**4 балла**	**5 баллов**
Фрагментарные знания актуальных проблем и тенденций в развитии современной биотехнологии	Неполные знания актуальных проблем и тенденций в развитии современной биотехнологии	Сформированные, но содержащие отдельные пробелы знания актуальных проблем и тенденций в развитии современной биотехнологии	Сформированные и систематические знания актуальных проблем и тенденций в развитии современной биотехнологии

III. Рекомендуемая основная литература:

III. Рекомендуемая основная литература:

1. Современная микробиология. Прокариоты. / Под ред. Й.Ленглера, Г.Древса, Г.Шлегеля/, Изд-во Мир, 2005, т.1 стр. 18-70, 117-144, т.2 стр. 150-206.

2. Микробиология. А.И.Нетрусов, И.Б.Котова, М. Издательский центр «Академия», 2007, стр. 6-100.

3. Гены по Льюину. Дж.Кребс, Э.Голдштейн, С. Килпатрик, Из-во М.Лаборатория знаний, 2018.

3. Д. Нельсон, М. Кокс. Основы биохимии Ленинджера. Т. 1,2,3. — М. : Лаборатория знаний, 2017.

6. Биотехнология под редакцией Н.С. Егорова и В.Д. Самуилова, том 1, 7 и 8. Москва, «Высшая школа» 1987

7. Шульц, Ширмер. Принципы структурной организации белков.

8. Биохимия. Под редакцией Е.С. Северина. «ГЕОТАР-Медиа» 2019

IV. Дополнительная литература:

1. Mendelsohn R., Flach C.R. Infrared reflection-absorption spectroscopy of lipids, peptides, and proteins in aqueous monolayers // Cur-rent Topics in Membranes, 2002, Vol. 52, 57-88

2. Кудряшова Е.В., Гладилин А.К., Левашов А.В. Белки (ферменты) в надмолекулярных ансамблях: исследование структурной организации

методом разрешенно-временной анизотропии. // Усп. биол. химии. 2002. Т. 42. С. 257–294.

3. Manning MC. Use of infrared spectroscopy to monitor protein structure and stability. // Expert Rev Proteomics. 2005 2(5):731-43. Review

4. Кудряшова Е.В. Функционирование и структура белков на поверхностях раздела фаз. Новые методы исследования. 2013. Изд-во «Palmarium Academic Publishing» AV Akademikerverlag GmbH & Co., KG. Germany.
5. Lakowicz J.R. // Principles of Fluorescence Spectroscopy (2-nd Ed.). N.Y.: Plenum Press 1999.
6. Дж.Лакович «Основы флуоресцентной спектроскопии» «Мир», Москва, 1979
7. R.Hagland Handbook of fluorescent probes and research chemicals. Molecular Probes, Inc. http://www.probes.com

V. Авторы временной программы:

1. д.х.н., проф., зав. кафедрой химической энзимологии Клячко Наталья Львовна
2. д.х.н., проф. Кудряшова Елена Вадимовна