

## ПРОГРАММА «Биотехнология»

Лектор – проф. С.Н. Загрельный. (32 час.)

### I. Организационно-методический раздел.

#### 1.1. Название курса. **Биотехнология.**

Курс реализуется в рамках направления «химия», относится к разделу стандарта «естественнонаучные дисциплины», вузовская компонента.

#### 1.2. Цели и задачи курса.

Дисциплина «**Биотехнология**» предназначена для студентов факультета естественных наук Новосибирского государственного университета, специальность «химия». Курс может быть использован и студентами специальностей «биология» и «экология», а также слушателями курсов повышения квалификации преподавателей.

Основной целью освоения дисциплины является изучение основ биотехнологии и ее связи с другими областями знаний (химия, молекулярная биология, экология, биохимия, физическая и органическая химия).

Для достижения поставленной цели выделяются задачи курса:

1. Дать студентам основные представления о продуцентах, используемых в биотехнологии, способах их культивирования и управления процессами биосинтеза продуктов;
2. Дать студентам основные представления о технологии выделения и очистки продуктов биосинтеза, структуре и организации биотехнологического процесса и современных методах фракционирования сложных смесей компонентов биологического материала

#### 1.3. Требования к уровню освоения содержания курса (дисциплины).

По окончании изучения указанной дисциплины студент должен

- **иметь представление об основных физико-химических закономерностях, лежащих в основе биотехнологических процессов;**
- **знать основные технологические приемы культивирования продуцентов и очистки продуктов биосинтеза;**
- **уметь оценить состав и последовательность мероприятий, необходимых для разработке и осуществления биотехнологического процесса;**

#### 1.4. Формы контроля

**Итоговый контроль.** Для контроля усвоения дисциплины учебным планом предусмотрен **дифференцированный зачет.**

**Текущий контроль.** В течение семестра в ходе лекций студентам предлагаются вопросы для проверки усвоения материала и для установления связи изучаемого материала с ранее прочитанными им курсами, которые необходимы для понимания материала.

### 2. Содержание дисциплины.

2.1. Новизна курса (научная, содержательная; сравнительный анализ с подобными курсами в России и за рубежом) его актуальность - для дисциплин специальной подготовки.

Актуальность курса обусловлена тем, что биотехнология является одной из наиболее интенсивно развивающихся областей знаний и промышленности.

В курс включены разделы и темы, основанные на журнальных публикациях, посвященных современным методам фракционирования экстрактов биоматериалов и применению ферментов в качестве каталитических агентов для осуществления промышленных технологических процессов, не вошедшие в учебники. В подобных

случаях даются ссылки на оригинальные научные публикации и сайты в Интернете, где можно ознакомиться с соответствующими оригинальными статьями.

## 2.2. Тематический план курса (распределение часов).

Наименование разделов и тем	Количество часов				
	Лекции и	Семинары	Лабораторные работы	Самостоятельная работа	Всего часов
Культивирование продуцентов и очистка продуктов	16	-	-	8	18
Инженерная энзимология	16	-	-	8	18
Итого по курсу:	32	-	-	16	48

## 2.3. Содержание отдельных разделов и тем.

**Тема 1.** Предмет биотехнологии. Биотехнология как отрасль науки и как отрасль хозяйственной деятельности. История становления и развития биотехнологии. Стихийный и научный этапы развития биотехнологии. Общая характеристика процессов и продуктов биотехнологии. Основная и тонкая биотехнология. Сходство и различие химической технологии и биотехнологии.

**Тема 2.** Основные сведения о составе живой материи и характеристика основных компонентов живых организмов. Функциональная роль основных химических элементов в составе живой материи. Основные классы химических соединений, входящих в состав живой материи, и функциональная роль этих компонентов.

**Тема 3.** Основные сведения о строении живой клетки. Функциональное назначение клеточных органелл. Эукариотические и прокариотические клетки, основные различия.

**Тема 4.** Питание клеток. Основные компоненты питательных сред. Источники основных элементов в питательных средах. Источники углерода, азота, фосфора. Микроэлементы, витамины.

**Тема 5.** Культивирование микроорганизмов - продуцентов биологически активных веществ. Конструирование питательных сред. Основные требования к составу полноценных питательных сред для микроорганизмов и культур эукариотических клеток. Принципиальные различия в подходах к конструированию питательных сред для микробных культур и культур эукариотических клеток. Стерилизация питательных сред: цель и методы.

**Тема 6.** Кинетика роста микробных культур. Основные кинетические параметры: удельная скорость, время удвоения. Экономический и метаболический коэффициенты, их смысл и значение для выбора режима культивирования. Основные фазы роста культуры: лаг-фаза (фаза задержки роста), экспоненциальная (логарифмическая) фаза, предстационарная и стационарная фазы, фаза отмирания культуры.

**Тема 7.** Периодическое и непрерывное культивирование. Реакторы идеального смешения и идеального вытеснения в культивировании микроорганизмов. Хемостат как система непрерывного культивирования. Хемостатная система селекции штаммов микроорганизмов по скорости роста и продуктивности.

**Тема 8.** Аппаратурное оформление процесса культивирования микроорганизмов. Основные требования к аппаратам для культивирования. Основные конструктивные элементы технологической схемы процесса. Отделение биомассы продуцента от культуральной жидкости. Сепарация, фильтрация.

**Тема 9.** Использование смешанных культур микроорганизмов для производства отдельных видов продуктов. Основные закономерности роста смешанных культур.

**Тема 10.** Выделение и очистка продуктов. Внеклеточные и внутриклеточные продукты. Основные приемы фракционирования клеточных экстрактов и культуральных жидкостей. Физико-химические основы способов разделения компонентов клеточных экстрактов. Фракционное осаждение солями, органическими растворителями, полимерными осадителями.

**Тема 11.** Распределение компонентов между различными фазами. Обобщенное представление о коэффициентах распределения. Противоточное распределение. Хроматографические методы фракционирования (распределительная хроматография, адсорбционная хроматография, ионообменная хроматография, гель-фильтрация, ион-парная хроматография, хроматография на обращенных фазах, аффинная хроматография). Структура основных хроматографических материалов, конструирование сорбентов.

Физико-химическое описание хроматографического процесса, теория тарелок. Аппаратурное оформление хроматографического процесса. Элюция растворами с переменной концентрацией элюирующего агента. Техника создания градиентов концентрации элюентов, способы задания формы градиента.

**Тема 12.** Мембранные технологии во фракционировании клеточных экстрактов. Физико-химическое описание систем с полупроницаемыми перегородками. Осмотическое давление, обратный осмос, ультрафильтрация, мембранные системы с потоком через последовательность мембран с различным размером пор.

**Тема 13.** Выделение очищенных компонентов из растворов. Удаление элюирующих компонентов. Концентрирование (упаривание, мембранные технологии концентрирования, флотация осадков из разбавленных суспензий). Сушка растворов биологически активных веществ. Физико-химические основы процесса сушки. Распылительная сушка. Лиофильная сушка. Характеристика физико-химических свойств продуктов, подвергнутых сушке различными методами.

**Тема 14.** Готовые формы продуктов биотехнологических процессов. Добавки, используемые для придания конечному продукту необходимых потребительских качеств. Добавки, применяемые для предотвращения слеживаемости продукта при хранении. Добавки, обеспечивающие удерживание продукта на поверхности. Добавки, повышающие растворимость основного компонента продукта. Добавки, обеспечивающие стабильность продукта в течение заданного срока хранения. Конструирование рецептуры готовой формы продукта.

**Тема 15.** Международные правила организации биотехнологических процессов. Правила GMP, GLP, GAP.

**Тема 16.** Предмет инженерной энзимологии. Основные преимущества использования биокатализаторов в химической промышленности по сравнению с традиционными катализаторами.

**Тема 17.** Основы энзимологии. Классификация ферментов. Классы ферментов и особенности реакций, катализируемых ферментами различных классов.

**Тема 18.** Основы учения о специфичности ферментов. Стереоспецифичность ферментативных реакций. Асимметрия активного центра ферментов. Зависимость специфичности ферментов от условий реакции (рН, температура, структура субстрата).

**Тема 19.** Получение ферментных препаратов. Грубые (технические) ферментные препараты, выпускаемые микробиологической промышленностью. Высокоочищенные препараты. Способы тонкой очистки и характеристики препаратов. Аффинные методы очистки ферментов.

**Тема 20.** Применение ферментативного катализа в промышленности. Технологические применения ферментативного катализа. Формы применения ферментов в технологии. Иммуобилизация ферментов как способ повышения технологической эффективности ферментов. Методы иммуобилизации ферментов.

**Тема 21.** Процессы основной биотехнологии с использованием ферментных катализаторов. Получение глюкозо-фруктозных сиропов. Получение жирных кислот ферментативным гидролизом природных жиров. Повышение пищевой ценности жиров с помощью переэтерификации, катализируемой липазами. Получение безлактозного молока. Получение аминокислотных гидролизатов белков. Применение ферментов в кожевенном производстве.

**Тема 22.** Процессы тонкой биотехнологии с использованием ферментов. Получение полусинтетических антибиотиков. Получение продуктов тонкой химической технологии с помощью ферментов. Получение аминокислот, оксикислот путем ферментативного присоединения аммиака и воды как пример стереоспецифических процессов. Использование ферментов в двухфазных системах для синтеза гидрофобных полупродуктов для фармацевтической промышленности. Иммуобилизованные кофакторы для кофактор-зависимых ферментов в системах с мембранными технологиями.

**Тема 23.** Применение ферментов в анализе вещества. Ферменты, используемые в качестве детекторов целевых аналитов. Чувствительность и специфичность ферментативных аналитических реакций. Общие принципы построения наборов реагентов для ферментативных методов анализа.

2.4. Перечень примерных контрольных вопросов и заданий для самостоятельной работы (в объеме часов, предусмотренных образовательным стандартом и рабочим учебным планом данной дисциплины).

Контрольные вопросы и задания по теме 1.

1. Опишите принципы организации биотехнологического процесса и его основные стадии.
2. Охарактеризуйте сходство и различие процессов основной и тонкой биотехнологии.
3. Сравните химическую технологию и биотехнологию, укажите их сходство и различия.

Контрольные вопросы и задания по теме 2.

1. Укажите основные химические элементы, входящие в состав живой материи, и охарактеризуйте их роль в процессах жизнедеятельности.
2. Укажите основные классы химических соединений, составляющих живую материю, опишите их основные функции.
3. Назовите основные классы биополимеров, входящих в состав живой материи, и охарактеризуйте их функциональное назначение.

Контрольные вопросы и задания по теме 3.

1. Опишите устройство живой клетки. Укажите сходство и различия строения прокариотических и эукариотических клеток.
2. Назовите клеточные органеллы, укажите их основные функции.
3. Опишите строение и биохимический состав клеточной стенки бактерий. Укажите различия в строении клеточной стенки между Грам-положительными и Грам-отрицательными бактериями.

Контрольные вопросы и задания по теме 4.

1. Опишите классификацию организмов по типам питания.

2. Охарактеризуйте наиболее распространенные источники углерода, используемые при культивировании микроорганизмов.
3. Охарактеризуйте источники азота, наиболее часто используемые при культивировании микроорганизмов.
4. Объясните биохимические причины использования большинством микроорганизмов солей аммония в качестве основного источника азота. Укажите возможности использования молекулярного азота в качестве альтернативного азотного питания и охарактеризуйте их биохимические основы.
5. Охарактеризуйте роль микроэлементов как компонентов питательных сред.

Контрольные вопросы и задания по теме 5.

1. Объясните смысл термина "конструирование питательных сред".
2. Опишите состав минимальной питательной среды.
3. Объясните различия в составе питательных сред для культивирования микроорганизмов и эукариотических клеток, укажите причины этих различий.
4. Приведите примеры управления продукцией целевого продукта культурой микроорганизма путем изменения состава питательной среды.
5. Укажите преимущества и недостатки использования сложных питательных сред для культивирования микроорганизмов.
6. Опишите методы стерилизации питательных сред. Объясните основы метода пастеризации.
7. Объясните различия в требованиях к стерильности питательных сред при культивировании прокариотов и эукариотических клеток.

Контрольные вопросы и задания по теме 6.

1. Напишите кинетическое уравнение роста микробной культуры. Назовите основные параметры роста культуры, сформулируйте их физико-химический смысл.
2. Охарактеризуйте основные фазы роста культуры в периодическом процессе. Изобразите полную кривую изменения концентрации биомассы в периодическом процессе без добавления питательных компонентов в ходе культивирования. Объясните, к какой из этих фаз относится основное кинетическое уравнение роста микробной культуры. Ответ обоснуйте.
3. Объясните процессы, происходящие в культуре на стадии лаг-фазы. Приведите причины, вызывающие появление этой фазы развития культуры, и пути их преодоления.
4. Предложите возможности использования культуры в стационарной фазе для получения целевого продукта.

Контрольные вопросы и задания по теме 7.

1. Охарактеризуйте технологические варианты непрерывного культивирования. Укажите основные различия режимов идеального вытеснения и идеального смешения.
2. Проанализируйте кинетические уравнения роста культуры в непрерывном режиме. Объясните условия возникновения устойчивого стационарного режима.
3. Объясните принципы селекции штаммов микроорганизмов по скорости роста в хемостате.
4. Объясните принципы аппаратного оформления хемостатного режима культивирования микроорганизмов.
5. Охарактеризуйте процессы культивирования отъемно-доливным способом.

Контрольные вопросы и задания по теме 8.

1. Объясните основные элементы конструкции ферментера периодического действия. Укажите типичные источники отклонений хода роста

- культуры от теоретических представлений и обоснуйте пути их предотвращения.
2. Объясните важность организации эффективного массообмена в ферментере и инженерные способы его обеспечения.
  3. Объясните принципы действия центрифуг в процессе отделения биомассы продуцента от культуральной среды.
  4. Укажите основные виды технологических устройств для фильтрации суспензий продуцента.
  5. Разъясните смысл явления "концентрационная поляризация" в фильтрационном процессе; охарактеризуйте влияние этого явления на производительность фильтрационных устройств и способы борьбы со отрицательным влиянием концентрационной поляризации.

Контрольные вопросы и задания по теме 9.

1. Охарактеризуйте технологические задачи, для решения которых используются смешанные культуры микроорганизмов.
2. Объясните взаимодействие между продуцентами в смешанной культуре.

Контрольные вопросы и задания по теме 10.

1. Охарактеризуйте общую схему фракционирования сложных смесей на примере культуры микроорганизмов.
2. Объясните основные технологические приемы фракционирования клеточных (тканевых) экстрактов и культуральных жидкостей.
3. Охарактеризуйте понятие специфичной стадии технологического процесса. Коэффициент специфичности технологической стадии. Фазы технологического процесса. Характеристика стадий, используемых на различных фазах (грубое фракционирование, собственно очистка, финишная очистка).
4. Объясните физико-химические основы фракционного осаждения компонентов белковых смесей солями, органическими растворителями, высокополимерными осадителями. Конструирование специфических осадителей; аффинные осадители.

Контрольные вопросы и задания по теме 11.

1. Физико-химические закономерности распределения вещества между фазами. Обобщенное представление о коэффициенте распределения.
2. Объясните теоретические основы противоточного распределения.
3. Объясните принципы различных вариантов хроматографического разделения. Укажите, какие величины играют роль коэффициента распределения в разных видах хроматографии.
4. Опишите методы синтеза ионообменных материалов.
5. Опишите методы синтеза аффинных сорбентов.
6. Введите понятие теоретической тарелки и опишите с позиций теории тарелок ход хроматографического процесса.
7. Опишите аппаратное оформление хроматографического процесса, охарактеризуйте основные элементы хроматографической установки.
8. Выведите общее уравнение формирования градиента концентраций на примере двух сообщающихся цилиндрических сосудов разного поперечного сечения.

Контрольные вопросы и задания по теме 12.

1. Дайте физико-химическое описание систем с полупроницаемыми перегородками. Объясните физический смысл осмотического давления.
2. Объясните возможности использования мембранных технологий для получения обессоленной воды (обратный осмос).

3. Укажите различия в понятиях "микрофльтрация", "ультрафльтрация", "нанофльтрация".
4. Укажите возможности использования мембранных технологий для осуществления ферментативных реакций в непрерывном режиме.

Контрольные вопросы и задания по теме 13.

1. Опишите способы концентрирования растворов целевых продуктов после завершения процесса очистки.
2. Опишите способы высушивания готовых продуктов и физико-химические основы различных способов сушки.
3. Укажите особенности получения сухих форм биопрепаратов. Охарактеризуйте лиофильное высушивание. Дайте экономическую оценку различных способов сушки.
4. Охарактеризуйте физико-химические свойства продуктов, полученных при использовании разных способов высушивания.

Контрольные вопросы и задания по теме 14.

1. Охарактеризуйте понятие "готовый продукт".
2. Охарактеризуйте понятие "рецептура".
3. Объясните причины, побуждающие вводить в состав готового продукта различные добавки.

Контрольные вопросы и задания по теме 15.

1. Объясните необходимость введения международных правил организации биотехнологических производств.
2. Объясните требования, предъявляемые к персоналу, занятому на производстве.
3. Укажите особенности организации производств лекарственных препаратов различных категорий. Обоснуйте повышенные требования к производственной санитарии на производствах препаратов инъекционного применения.
4. Обоснуйте требования к планировке помещений для производств фармацевтического профиля.
5. Обоснуйте требования к организации вентиляционных потоков в помещениях биотехнологических производств.
6. Обоснуйте общие требования к обеспечению гигиены персонала в биотехнологических и фармацевтических производствах.

Контрольные вопросы и задания по теме 16.

1. Охарактеризуйте предмет инженерной энзимологии.
2. Объясните причины снижения энергоемкости процессов при использовании ферментных катализаторов.
3. Объясните причины снижения материалоемкости процессов при использовании ферментных катализаторов.
4. Приведите примеры использования ферментов в промышленности.

Контрольные вопросы и задания по теме 17.

1. Объясните принципы классификации и построения номенклатуры ферментов.
2. Объясните различия между классами, подклассами и подподклассами ферментов.
3. Опишите принципы построения формальной кинетики ферментативных реакций.
4. Объясните смысл основных параметров кинетики ферментативных реакций.

5. Объясните причины колоколообразной формы зависимости скорости ферментативных реакций от температуры.
6. Объясните причины колоколообразной формы зависимости скорости ферментативных реакций от pH.
7. Объясните различия между различными типами ингибирования ферментативных реакций.
8. Объясните различия между типами активаторов ферментативных реакций.
9. Объясните смысл аллостерического регулирования скорости ферментативных реакций

#### Контрольные вопросы и задания по теме 18

1. Объясните структурные основы специфичности ферментов.
2. Объясните причины стереоспецифичности активного центра ферментов.
3. Объясните причины влияния физико-химических условий на специфичность ферментов.

#### Контрольные вопросы и задания по теме 19

1. Опишите основные технологические приемы очистки ферментов.
2. Охарактеризуйте технические ферментные препараты, выпускаемые промышленностью.
3. Опишите основные технологические приемы получения высокоочищенных ферментных препаратов.
4. Объясните основные принципы конструирования аффинных сорбентов.

#### Контрольные вопросы и задания по теме 20

1. Укажите основные направления использования ферментов в промышленности.
2. Приведите примеры крупномасштабных технологических процессов с использованием ферментных катализаторов.
3. Укажите основные формы применения ферментов в технологических процессах.
4. Объясните смысл термина «иммобилизованные ферменты».
5. Укажите преимущества использования ферментов в иммобилизованном состоянии.
6. Опишите основные методы получения иммобилизованных ферментов.
7. Приведите примеры технологических процессов с использованием иммобилизованных ферментов.

#### Контрольные вопросы и задания по теме 21

1. Опишите технологическую схему производства глюкозо-фруктозных сиропов.
2. Укажите, какие виды сырья могут использоваться в производстве глюкозо-фруктозных сиропов и какие системы ферментов используются в каждом случае.
3. Охарактеризуйте направления использования липолитических ферментов в промышленности.
4. Опишите технологическую схему получения «безлактозного» молока.
5. Объясните цели и технологию производства ферментативных гидролизатов белковых веществ.
6. Охарактеризуйте основные направления использования ферментов в кожевенно-меховом производстве.

#### Контрольные вопросы и задания по теме 22

1. Опишите основные направления использования ферментов в тонкой биотехнологии.
2. Опишите применение ферментов в производстве полусинтетических антибиотиков.

3. Опишите применение ферментов для получения аминокислот и оксикислот. Объясните причины стереоспецифичности этих процессов.
4. Объясните возможности синтетического применения ферментов в синтезе пептидных производных.
5. Объясните возможности регенерации кофакторов в технологических процессах.

#### Контрольные вопросы и задания по теме 23

1. Объясните основные идеи использования ферментов в качестве аналитических реагентов.
2. Объясните преимущества аналитических реакций, основанных на применении ферментов.
3. Объясните принципы построения аналитических наборов реагентов с применением ферментов.
4. Опишите основные методы детектирования, используемые в методах анализа с применением ферментов.
5. Объясните основные требования к ферментативным реакциям, используемым в качестве детектирующих.
6. Объясните основные принципы конструирования ферментных электродов.

### **3. Учебно-методическое обеспечение дисциплины**

#### **3.2. Темы рефератов (курсовых работ) – учебным планом не предусмотрены.**

#### **3.3. Образцы вопросов для подготовки к дифференцированному зачету**

- 3.3.1. Кинетика роста микробной культуры
- 3.3.2. Конструирование питательных сред
- 3.3.3. Кинетика роста культуры в хемостате
- 3.3.4. Фазы роста микробной культуры. Процессы в стационарной фазе
- 3.3.5. Методы и технология стерилизации питательных сред
- 3.3.6. Общие принципы фракционирования. Специфичность технологических стадий
- 3.3.7. Противоточное распределение
- 3.3.8. Селективное осаждение белков
- 3.3.9. Хроматографическое разделение белковых смесей
- 3.3.10. Расчет градиента концентрации элюента
- 3.3.11. Химические методы иммобилизации ферментов
- 3.3.12. Производство глюкозо-фруктозных сиропов
- 3.3.13. Ферментативные процессы в мембранных реакторах
- 3.3.14. Ферментативные реакции в двухфазных системах
- 3.3.15. Регенерация кофакторов в ферментативном синтезе

#### **3.4. Список основной и дополнительной литературы**

- 3.4.1. С. Дж. Перт. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. Изд-во МИР, М. 1978
- 3.4.2. Г. Шлегель. Общая микробиология. Изд-во МИР, М. 1972
- 3.4.3. Л.И. Воробьева. Техническая микробиология. Изд-во МГУ, М. 1987
- 3.4.4. Л.И. Воробьева. Промышленная микробиология. Изд-во МГУ, М. 1989
- 3.4.5. Скоупс. Методы очистки белков. Изд-во МИР, М. 1987

- 3.4.6. Биотехнология. Принципы и применение. Под редакцией И. Хиггинса, Д. Беста, Дж. Джонса. Изд-во МИР, М. 1988
- 3.4.7. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Изд-во МИР, М., 2002
- 3.4.8. Биотехнология (в 8 томах, тт. 7,8). Изд-во Высшая Школа, М. 1987
- 3.4.9. Я. Туркова. Аффинная хроматография. Изд-во МИР, М. 1980
- 3.4.10. П.-А. Альбертсон. Разделение клеточных частиц и макромолекул. Изд-во МИР, М. 1974
- 3.4.11. Ф. Уэбб. Биохимическая технология и микробиологический синтез. Изд-во Медицина, М. 1969
- 3.4.12. Дж. Бейли, Д. Оллис. Основы биохимической инженерии, тт.1,2. Изд-во МИР, М. 1989
- 3.4.13. О.В. Бахвалов. Биотехнология. Учебное пособие. Изд-во НГУ, Новосибирск, 1982
- 3.4.14. Т.Г. Волова. Экологическая биотехнология. Учебное пособие для университетов. Изд-во "Сибирский хронограф", Новосибирск, 1997
- 3.4.15. Г.К. Лиепиньш, М.Э. Дунце. Сырье и питательные субстраты для промышленной микробиологии. Изд-во "Зинатне", Рига, 1986
- 3.4.16. С.Н. Загрельный. Биотехнология. Ч.1: Культивирование продуцентов и очистка продуктов: Учебное пособие/ Новосибирский государственный университет. Новосибирск, 2000.
- 3.4.17. С.Н. Загрельный. Биотехнология. Ч.2. Инженерная энзимология: Учебное пособие/ Новосибирский гос. ун-т. Новосибирск, 2001.
- 3.4.18. Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств. Руководящий нормативный документ РД 64-125-91. Москва, 1991

Автор курса \_\_\_\_\_ проф. Загрельный С.Н.