

- *Билет № 1*
- /1-1/
- **Биотехнология** –кешенді ғылым, яғни ғылымды және өндірісті спецификалық жабдықтармен өңдеу арқылы үйлестіреді
- **Биообъект** биотехнологиялық өндірістің негізгі және міндетті элементі. Аяққы өнімнің толық биосинтезін жүргізетін биообъектіні – продуцент деп атайды.
- Биообъект функциясы – мақсатты өнім алудағы түрлі ферментативті реакцияларды құрайтын толық биосинтезді жүргізу.
- **Геном**([ағылшынша genome](#), [грекше genos](#) — шығу, тек) — [хромосомалардың гаплоидты](#) (сыңар) жиынтығында шоғырланған гендердің бірлестігі.
- Прокариот ұғымы “ядроға дейінгі”, ал эукариот – “жақсы немесе анық ядросы бар” дегенді көрсетеді.
- Прокариоттарды, сондай-ақ, бактериялар деп те атайды. Прокариоттарға көк-жасыл балдырлар, актиномицеттер, бактериялар, спирохеттер, микоплазмалар, хламидиялар жатады.
- Прокариот клеткаларының эукариот жасушаларынан айырмашылығы – олардың генетикалық материалы – сақиналы ДНҚ құрамына ақуыздар кіретін күрделі хромосомаларға жинақталмаған және де мембранамен қапталмаған. Прокариоттарда белгілі бір қызметтер атқаратын мембраналық құрылымдары болмайды.
- Эукариоттарға – көпшілік балдырлар, саңырауқұлақтар мен қыналар, өсімдік пен жануарлар жатады.
- Эукариот клеткаларының прокариоттардан негізгі ерекшелігі – олар жеке-жеке компартменттерге бөлшектенген, яғни көптеген мембраналық органеллалары болады. Эукариоттардың ақуызбен байланысқан ДНҚ-ы хромосомаларға жинақталып, қос мембранамен қапталған ядрода орналасады.
-
- /1-2/В соответствии с разделом 2 ГОСТа Р GMP Валидация – оценка и документальное подтверждение соответствия производственного процесса и качества продукта установленным требованиям. Она обязательна для каждого нового технологического процесса. Повторная (ревалидация) обязательно проводится при любых, в т.ч. частичных изменениях в технологии.

- *Билет №2*
- **/2-1/Биотехнологиялық нысаналар ретінде**
- *вирустар,*
- *бактериялар,*
- *өсімдік,*
- *жануар клеткалары*
- құрамдас заттар мен молекулалар
-
- /2-2/Подготовительные этапы:
- подготовка и стерилизация воздуха
- герметизация и стерилизация оборудования
- стерилизация питательной среды
- подготовка посевного материала
- Основные этапы:
- биосинтез одно или многоциклический в зависимости от продуцента и технологии и утилизация отходов.
-

- *Билет №3*
- /3-2/ Наперстянки синтезируют дигитоксин, обладающий повышенной токсичностью.
- При биотрансформации каллусных клеток получают недифференцированную
- суспензионную культуру. Имобилизованные клетки культуры с постоянной
- скоростью долгое время трансформируют 12-метилдигитоксин в 12-метилдигитоксин за счет реакции 12-гидроксилирования, катализируемой ферментом клеток.
- /3-1/ К сфере экологической биотехнологии относятся следующие направления:
 - ● биологическая очистка сточных вод;
 - ● биообработка твердых отходов (утилизация, переработка ТБО, обезвреживание и ликвидация опасных промышленных отходов, очистка сточных вод);
 - ● биологическая очистка воздуха от ароматических веществ;
 - ● биodeградация ксенобиотиков в окружающей среде;
 - ● биологическая рекультивация земель, почв, загрязненных отходами органической химией и нефтью:
 - ● обеспечение возобновляемыми источниками энергии и сырья на основе органических отходов и биомассы (получение биогаза и других видов вторичного топлива, трансформация органических удобрений и др.);
 - ● создание безопасных и эффективных средств биологической борьбы с болезнями и вредителями аграрных культур, альтернативных химическим пестицидам и гербицидам.

Билет №4

/4-2/ Препараты нормальной микрофлоры – пробиотики – бифидобактерии.

Бифидобактерии – лиофилизированные микробные массы живых антагонистически активных штаммов бифидобактерий. Поэтому сухие препараты можно получать только щадящими способами сушки – методом сублимации. Ампулы помещают в морозильные камеры под углом 750 град., замораживают при температуре –40,0С, выдерживают 18-24 часа, проводят сублимацию жидкости из состояния льда, нагревают до +20 короткое время для удаления остаточной влаги и запаивают с газовой защитой.

Можно ли получить вышеуказанное ЛС методом биотехнологии. Проведите сравнения с другими методами получения данного ЛС в соответствии с таким параметром, как рентабельность производства.

Левомецетин или Хлорамфеникол выделяют из культуральной жидкости актиномицета *Streptomyces venezuelae*. Относится к производным паранитробензо-ла. Имеет 4 пространственных изомера DL-трео и DL-эритро.

Чаще получают синтетическим путем, выделяя на определенных этапах синтеза необходимые изомеры. Наиболее экономичным и доступным источником синтеза является паранитроацетофенон.

/4-1/ Существует два способа культивирования микроорганизмов – продуцентов ферментов: поверхностный и глубинный.

Поверхностный способ применяемый для культивирования микроскопических грибов, характеризуется развитием мицелия на поверхности твердого или жидкого субстрата.

Глубинную культуру микроорганизмов выращивают на жидкой питательной среде при энергичной аэрации в герметически закрытых аппаратах и в стерильных условиях.

Билет №5

/5-2/ Беталактамы антибиотиктер – пенициллиндер жана цефалоспорины. Предшественники – аминокислоты. беталактамы молекула синтезируется из 4 D-пептида и 3-L-аминокислот: аминокислоты адипиновой, цистеина и Валина. Полусинтетические антибиотики получают оргсинтезом (метициллин и оксациллин) после ферментативного гидролиза бензилпенициллина с помощью пенициллиназы с получением 6-АПК. Ацилированием 6АПК получают указанные препараты.

Для получения новых антибиотиков используют трансформацию беталактамазы, получая структуры с повышенной резистентностью. Они не должны инактивировать структуру беталактама

/5-1/ Метод проточного непрямого культивирования пришел в микробиологию из химической технологии. Непрерывные процессы имеют значительные преимущества перед периодическими: возможность специализации аппаратуры для каждой стадии непрерывного процесса, стабилизации его во времени, улучшение качества продукции, легкость регулировки и, главное, возможность автоматизации. Этими преимуществами объясняется тенденция в биотехнологии к переходу от периодических процессов к непрерывным. Принцип непрерывного (проточного) культивирования микробов состоит в том, что в сосуд, где размножаются микроорганизмы, непрерывно подается свежая питательная среда и одновременно втекает такой же объем культуры. По такому принципу организуются две разновидности технического процесса непрерывного культивирования: процесс (технология) полного вытеснения и технология полного смещения.

- Билет №6
-
- 1.Для работы с биологическим материалом необходимы следующие составляющие:
 - чистая посуда и биореактор (ферментёр);
 - стерильная питательная среда;
 - оптимальное освещение;
 - оптимальная температура;
 - оптимальная влажность;
 - аэрация.
- 2.При получении стероидов ферменты – дегидрогеназы – представлены лабильными белками. Их выделение трудоемко и дорого. Имобилизованные ферменты более стабильны. Также иммобилизация решает проблемы связанные с нерастворимостью стероидных субстратов. Кроме того иммобилизация дает возможность многократного использования иммобил. клеток – соответственно уменьшение затрат.

- Билет №7
-
- 1. Выделяют ферменты так же, как и другие белки, хотя есть приемы, применяемые преимущественно для ферментов. Из них можно **отметить экстракцию глицерином**, в котором сохраняются нативные свойства ферментов, а также **метод ацетоновых порошков**, состоящий в осаждении и быстром обезвоживании при температуре не выше -10°C тканей или вытяжек из них, содержащих ферменты. К их числу относится также получение ферментов путем **адсорбции с последующей элюцией** (снятием) с **адсорбента**. Этот метод был введен в химию ферментов А. Я. Данилевским и дал мощный толчок развитию ферментологии. Сейчас адсорбционный метод выделения и очистки ферментов разработан детально. Наряду с ним широко применяют метод ионообменной хроматографии, метод молекулярных сит, электрофорез и особенно изоэлектрофокусирование. Одна из модификаций адсорбционного метода - афинная хроматография, где адсорбентом служит вещество, с которым фермент взаимодействует избирательно. В результате лишь один этот фермент задерживается на колонке, а все сопутствующие ему выходят с током проявителя. Изменяя характер проявителя, исследуемый фермент элюирует с колонки. Этим методом достигают очистки фермента в несколько тысяч раз, применяя всего лишь одноэтажную (аффинная сорбция - элюция) схему выделения.

- Билет №8
- 1. Требования, предъявляемые к препаратам нормофлорам: Соответствие здоровой микрофлоре человека Высокая жизнеспособность и биологическая активность Антагонизм по отношению к условно-патогенной и патогенной флоре Устойчивость к физико-химическим факторам (кислотность, осмотический шок, температура, действие желчных кислот и т.п.) Антибиотикоустойчивость Наличие в препарате симбиотных штаммов [1] Препараты нормофлоры подразделяются на пробиотики, пребиотики и синбиотики, применяемых для лечения и профилактики микробиологических нарушений кишечника. К пробиотикам отнесены лечебно-профилактические препараты, конструируемые на основе бактерий представителей родов *Bifidobacterium* , *Lactobacillus* , *Escherichia* , *Enterococcus* , апатогенных спорообразующих бацилл и сахаромицет стабилизирующих многообразные функции его нормальной микрофлоры и иммунные реакции[3]. Пробиотики Пробиотики это живые микроорганизмы и вещества микробного происхождения, оказывающие при естественном способе введения позитивные эффекты на физиологические, биохимические и иммунные реакции организма хозяина через стабилизацию и оптимизацию функции его нормальной микрофлоры.
- Прежде всего, это бифидосодержащие препараты: бифидумбактерин, бифидумбактерин форте, пробифор, бифилиз, бифиформ.
- 2. Биообъекты совершенствуют: мутагенезом селекцией клеточной инженерией генетической инженерией с целью получения продуцентов, суперпродуцентов или биокатализаторов, обладающих повышенным биосинтезом целевого продукта, устойчивостью при хранении и т.п.

- Билет №9
- 1.. Для введения генов в бактерии фрагменты геномной ДНК изменяют, удаляя из них некодирующие области и участки соседних генов, в следующей последовательности:
 1. Для введения генов в клетки прокариот подбирают соответствующий вектор, способный проникнуть в клетку реципиента. Чаще всего используют ДНК-фаг или плазмидубактерий.
 2. Плазмиду разрезают рестриктазой для образования «липких концов».
 3. При необходимости производят надстройку концов ДНК у вектора, чтобы они были комплементарны концам ДНК вводимого гена.
 4. ДНК донора разрушают рестриктазами для выделения генов.
 5. Для введения генов в бактерии фрагменты геномной ДНК изменяют, удаляя из них некодирующие области и участки соседних генов.
 6. При объединении в одном растворе ДНК вводимого гена и ДНК вектора, комплементарные концы «слипаются» и образуются водородные связи. С помощью ДНК-лигазы сшивают цепи гибридной ДНК.
 7. Образованная гибридная молекула вводится в клетку бактерии-реципиента.
 8. У прокариот структурный ген представляет собой непрерывный участок молекулы ДНК, а включение и выключение транскрипции обеспечивается дополнительными факторами транскрипции, которые связываются с соответствующими участками ДНК.
В бактериальной клетке содержится 2-3 тысячи различных белков, каждая из которых составляет в среднем 0,04% от их общей массы
- 2.-Микроорганизм должен обладать умеренной патогенностью
- -Способен расти в условиях производства на недифицитных и доступных средах

Билет №10

1. Бактериальный геном состоит из генетических элементов, способных к самостоятельной репликации, т.е. репликонов. Репликонами являются бактериальная хромосома и плазмиды. Наследственная информация хранится у бактерий в форме последовательности нуклеотидов ДНК, которые определяют последовательность аминокислот в белке. Каждому белку соответствует свой ген, т. е. дискретный участок на ДНК, отличающийся числом и специфичностью последовательности нуклеотидов.

Свойства микроорганизмов, как и любых других организмов, определяются их **генотипом**, т. е. совокупностью генов данной особи. Термин «геном» в отношении микроорганизмов — почти синоним понятия «генотип».

Фенотип представляет собой результат взаимодействия между генотипом и окружающей средой, т. е. проявление генотипа в конкретных условиях обитания. Фенотип микроорганизмов хотя и зависит от окружающей среды, но контролируется генотипом, так как характер и степень возможных для данной клетки стрессовых изменений определяются набором генов, каждый из которых представлен определенным участком молекулы ДНК.

В состав бактериального генома, как в бактериальную хромосому, так и в плазмиды, входят подвижные генетические элементы. К подвижным генетическим элементам относятся вставочные последовательности и транспозоны.

2. Центральный процесс биотехнологического производства биосинтез в фермен-тере. Классификация по принципу организации материальных потоков: 1. периодический 2. полунепрерывный 3. непрерывный 4. отъемно-доливной 5. многоциклический по типу целевого продукта: 1. биомасса 2. высокомолекулярное индивидуальное вещество (фермент) 3. низкомолекулярный первичный или вторичный метаболит 1-й прост, часто используется, но не является оптимальным. Все компоненты совершают полный цикл. В конце культ. жидкость сливают выделяют и очищают целевой продукт. 2-й – более прогрессивен. Имеет возможность корреляции процесса при его отклонениях 3-й используют когда целевой продукт – сама биомасса 4-й промежуточный 5-й вариант периодической ферментации. Достоинства – не требует нового посевного материала.

Билет №11

1. Ген вирулентности – участок ДНК, вызывающий развитие инфекционного процесса.

IVET – выявление и выделение генов в бесклеточных системах отбора ингибиторов. Геном с помощью рестриктаз делят на фрагменты, которые включают в плазмиды, вводят в *E. coli* и вносят в организм животного. Спустя сутки высевают и исследуют.

2. Применяемые антибиотики с геномом микроорганизма непосредственно не взаимодействуют. Однако в популяциях микроорганизмов происходят спонтанные мутации отдельных генов. Одни и те же антибиотики при постоянном и непрерывном применении играют роль селективных факторов отбора резистентности к ним мутантных микроорганизмов – госпитальная инфекция в отдельном ЛПУ – не поддающаяся лечению ранее применяемыми антибиотикам

Антибиотикорезистентность — это устойчивость микробов к антимикробным химиопрепаратам. Бактерии следует считать резистентными, если они не обезвреживаются такими концентрациями препарата, которые реально создаются в макроорганизме. Резистентность может быть природной и приобретенной.

Природная устойчивость. Некоторые виды микробов природно устойчивы к определенным семействам антибиотиков или в результате отсутствия соответствующей мишени (например, микоплазмы не имеют клеточной стенки, поэтому не чувствительны ко всем препаратам, действующим на этом уровне), или в результате бактериальной непроницаемости для данного препарата (например, грамотрицательные микробы менее проницаемы для крупномолекулярных соединений, чем грамположительные бактерии, так как их наружная мембрана имеет «маленькие» поры).

Приобретенная устойчивость. Приобретение резистентности — это биологическая закономерность, связанная с адаптацией микроорганизмов к условиям внешней среды. Она, хотя и в разной степени, справедлива для всех бактерий и всех антибиотиков. К химиопрепаратам адаптируются не только бактерии, но и остальные микробы — от эукариотических форм (простейшие, грибы) до вирусов. Проблема формирования и распространения лекарственной резистентности микробов особенно значима для внутрибольничных инфекций, вызываемых так называемыми «госпитальными штаммами», у которых, как правило, наблюдается множественная устойчивость к антибиотикам (так называемая полирезистентность).

2.

Глюкоза ослабляет биосинтез антибиотиков. Глюкоза, фруктоза и галактоза – сильные репрессоры этого процесса. Лактоза репрессором не является. Высокое содержание фосфора (в виде солей) неблагоприятно для большинства антибиотиков. Обогащение клетки фосфором (АТФ) повышает скорость роста мицелия, а образование LLD-трипептида – ключевое соединение с которого начинается синтез пенициллинов и цефалоспоринов – ингибируется глюкозо-6-фосфатом. Но фосфор не может быть полностью исключен. Азот усиливает рост беталактамных продуцентов, при избытке азота наблюдается замедление роста, связанное с уровнем глютаминсинтетазы, но механизм этого до конца не выяснен

Билет №13

группа медицинских продуктов биологического происхождения, в том числе [вакцины](#), препараты [крови](#), [аллергены](#), [соматические клетки](#), [ткани](#), рекомбинантные белки.

В состав биологических препаратов могут входить [сахара](#), [белки](#), [нуклеиновые кислоты](#) или сложные комбинации этих веществ; биологические препараты могут представлять собой биологические объекты — например, [клетки](#) и [ткани](#). Биологические препараты получают из различных природных источников — [животных](#), [микроорганизмов](#), также биологические препараты могут быть синтезированы методами [биотехнологии](#). Активно исследуется потенциал медицинского применения клеточных и генных биологических препаратов для лечения многих заболеваний, неизлечимых в настоящий момент.

2. Синтезируются актиномицетами.

Предшественник – глюкоза.

В биосинтезе участвует не менее 20 аминокислот.

Генотип – генетическая конструкция организма. Набор всех его аллелей (одна из 2-х или нескольких альтернативных форм).

Фенотип – совокупность всех признаков особи, формирующаяся в процессе взаимодействия ее генотипа и внешней среды

Антибиотики — химиотерапевтические вещества, продуцируемые микроорганизмами, животными клетками, растениями, а также их производные и синтетические продукты, которые обладают избирательной способностью угнетать и задерживать рост микроорганизмов, а также подавлять развитие злокачественных новообразований.

Существует три основных способа получения антибиотиков:

- биологический синтез (так получают природные антибиотики — натуральные продукты ферментации, когда в оптимальных условиях культивируют микробы-продуценты, которые выделяют антибиотики в процессе своей жизнедеятельности);
- биосинтез последующими химическими модификациями (так создают полусинтетические антибиотики). Сначала путем биосинтеза получают природный антибиотик, а затем его первоначальную молекулу видоизменяют путем химических модификаций, например, присоединяют определенные радикалы, в результате чего улучшаются противомикробные и фармакологические характеристики препарата;
- химический синтез (так получают синтетические аналоги природных антибиотиков, например хлорамфеникол/левомицетин). Это вещества, которые имеют такую же структуру,

В основу главной классификации антибиотиков положено их химическое строение.

По спектру действия антибиотики делят на пять групп в зависимости от того, на какие микроорганизмы они оказывают воздействие. Кроме того, существуют противоопухолевые антибиотики, продуцентами которых также являются актиномицеты. Каждая из этих групп включает две подгруппы: антибиотики широкого и узкого спектра действия.

Антибактериальные антибиотики составляют самую многочисленную группу препаратов. Преобладают в ней антибиотики широкого спектра действия, оказывающие влияние на представителей всех трех отделов бактерий. К антибиотикам широкого спектра действия относятся аминогликозиды, тетрациклины и др. Антибиотики узкого спектра действия эффективны в отношении небольшого круга бактерий, например полимиксины действуют на грациликотные, ванкомицин влияет на грамположительные бактерии.

В отдельные группы выделяют противотуберкулезные, противолепрозные, противосифилитические препараты.

Противогрибковые антибиотики включают значительно меньшее число препаратов. Широким спектром действия обладает, например, амфотерицин В, эффективный при кандидозах, бластомикозах, аспергиллезах; в то же время нистатин, действующий на грибы рода *Candida*, является антибиотиком узкого спектра действия.

Антипротозойные и противовирусные антибиотики насчитывают небольшое число препаратов.

Противоопухолевые антибиотики представлены препаратами, обладающими цитотоксическим действием. Большинство из них применяют при многих видах опухолей, например митомицин С.

Действие антибиотиков на микроорганизмы связано с их способностью подавлять те или иные биохимические реакции, происходящие в микробной клетке.

В зависимости от механизма действия различают пять групп антибиотиков:

1. антибиотики, нарушающие синтез клеточной стенки. К этой группе относятся, например, β -лактамы. Препараты этой группы характеризуются самой высокой избирательностью действия: они убивают бактерии и не оказывают влияния на клетки микроорганизма, так как последние не имеют главного компонента клеточной стенки бактерий — пептидогликана. В связи с этим β -лактамы являются наименее токсичными для макроорганизма;
2. антибиотики, нарушающие молекулярную организацию и синтез клеточных мембран. Примерами подобных препаратов являются полимиксины, полиены;
3. антибиотики, нарушающие синтез белка; это наиболее многочисленная группа препаратов. Представителями этой группы являются аминогликозиды, тетрациклины, макролиды, левомицетин, вызывающие нарушение синтеза белка на разных уровнях;
4. антибиотики — ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот. Например, хинолоны нарушают синтез ДНК, рифампицин — синтез РНК;
5. антибиотики, подавляющие синтез пуринов и аминокислот. К этой группе относятся, например, сульфаниламиды.

Билет №14

- 2 Технология приготовления питательных сред для биосинтеза.
- Основу питательных сред для культивирования микроорганизмов составляют
- источники углерода. Кроме углерода клетки микроорганизмов в процессе
- роста испытывают потребность в азоте, фосфоре, макро- и микроэлементах.
- Все вещества этого рода находятся в питательных средах в виде солей,
- исключение составляют среды, где азот и фосфор могут усваиваться
- растущими культурами из органических источников, например автолизатов
- или гидролизатов микробного или животного происхождения.
- Жидкие и твердые источники углерода обычно вводят в уже готовую
- питательную среду непосредственно перед ферментацией, так как это
- устраняет опасность заражения посторонней микрофлорой, вероятность
- которого возрастает при хранении готовой питательной смеси. При
- периодической ферментации в начале процесса инокулят (засевная доза
- микроорганизмов) вносится в уже готовую питательную среду, содержащую
- все компоненты. Поэтому источники углерода вводят непосредственно перед
- засевом или отдельные компоненты среды вводят по мере потребления их
- культурой, поддерживая в ферментере некоторую оптимальную их
- концентрацию, которая на разных этапах ферментации может меняться по
- определенному закону.

Иммунные реакции используют при диагностических и иммунологических исследованиях у больных и здоровых людей. С этой целью применяют *серологические методы*, т. е. методы изучения антител и антигенов с помощью реакций антиген—антитело, определяемых в сыворотке крови и других жидкостях, а также тканях организма.

Обнаружение в сыворотке крови больного антител против антигенов возбудителя позволяет поставить диагноз болезни.

Серологические исследования применяют также для идентификации антигенов микробов, различных биологически активных веществ, групп крови, тканевых и опухолевых антигенов, иммунных комплексов, рецепторов клеток и др.

При выделении микроба от больного проводят идентификацию возбудителя путем изучения его антигенных свойств с помощью иммунных диагностических сывороток, т. е. сывороток крови гипериммунизированных животных, содержащих специфические антитела. Это так называемая *серологическая идентификация* микроорганизмов.

Особенности взаимодействия антитела с антигеном являются основой диагностических реакций в лабораториях.

Реакция *invitro* между антигеном и антителом состоит из специфической и неспецифической фазы. В *специфическую фазу* происходит быстрое специфическое связывание активного центра антитела с детерминантой антигена. Затем наступает *неспецифическая фаза* — более медленная, которая проявляется видимыми физическими явлениями, например образованием хлопьев (феномен агглютинации) или преципитата в виде помутнения. Эта фаза требует наличия определенных условий (электролитов, оптимального рН среды).

2 Технологическая схема получения рибофлавина:

ВР-1. Подготовка биообъекта продуцента: генно-инженерного штамма

Bacillus subtilis

ВР-2. Подготовка и стерилизация оборудования и коммуникаций

ВР-3. Подготовка и стерилизация субстрата

ВР-4. Подготовка и стерилизация газового потока

ТП-5. Культивирование биообъекта

ТП-6. Выделение целевого продукта

ТП-6.1. Обработка культуральной суспензии

ТП-6.2. Разделение культуральной суспензии

ТП-6.3. Выделение индивидуального вещества по растворимости в щелочах и кислотах

ТП-7. Обезвоживание целевого продукта

ТП-8. Анализ целевого продукта

УМО-9. Фасовка, упаковка, маркировка лекарственной субстанции

ПО-10. Биологическая очистка отходов

- **Билет №16**

- **1, Культивирование** – выращивание микроорганизмов на специальных питательных средах. Культивирование проводят в лабораторных и производственных условиях с целью:

- - количественного и качественного анализа микрофлоры различных объектов: пищевых продуктов, воды, воздуха и т.д.;
- - изучения свойств микроорганизмов и их идентификации;
- - выращивания полезных микроорганизмов (приготовление заквасок, получение продуктов микробиологического синтеза, ферментов, белка и т.д.).

Различают три вида культивирования микроорганизмов:

- 1. **Периодическое** – используется при получении заквасок; характерны закономерности статической культуры до фазы отмирания, включает стадии выращивания, концентрирования клеток путем отделения от питательной среды сепарированием, сублимационной сушки, для которой используются специальные защитные среды.
- 2. **Непрерывное**, целью которого является продление фазы роста, для этого используют два способа – многократный пересев на новую питательную среду и непрерывное введение питательного раствора при одновременном удалении продуктов метаболизма и части бактериальной суспензии. Осуществляют в специальных аппаратах двух типов: **хемостатах** (рост микроорганизмов регулируется концентрацией лимитирующих веществ питательного субстрата – источников С, азота, витаминами, микроэлементами и т.п.) или **втурбидостатах** (процесс контролируется по изменению концентрации микроорганизмы путем измерения оптической плотности, мутности в прозрачных питательных средах).
- 3. **Синхронное** – одновременное деление клеток, применяется в научных целях для изучения циклов клеточного деления; нужны клетки одного возраста, этого добиваются путем изменения температуры, поступления кислорода, питательных веществ, использования бактериальных фильтров.

Билет №16

2..1. Аскорбиновая кислота (вит.С) получают в промышленности по методу Рейхштейна.

2. Согласно данному методу, процесс состоит из 6 стадий:

1 стадия — получение D-сорбита из D-глюкозы (полученной из крахмала) методом каталитического восстановления водородом.

2 стадия — Получение L-сорбозы из D-сорбита методом глубинного аэробного окисления уксуснокислыми бактериями (биотехнологическая)

3 стадия - получение диацетон-L-сорбозы из L-сорбозы путем ее ацетонирования. 61

4 стадия — получение гидрата диацетон-2-кето-L-гулоновой кислоты путем окисления диацетон-L-сорбозы

5 стадия — получение L-аскорбиновой кислоты из гидрата диацетон-2-кето-L-гулоновой кислоты (деацетонирование, этерификация, енолизация, лактонизация).

6 стадия — перекристаллизация технической аскорбиновой кислоты до медицинской.

3. Микробиологический метод осуществляют уксуснокислые бактерии рода *Acetobacter*, культивируемые на питательной среде, состоящей из D-сорбита и дрожжевого экстракта и гидролизата дрожжей, выполняющего роль биостимулятора за счет содержания аминокислот и витаминов группы В.

Использование иммобилизованных клеток *Gluconobacter oxydans* предпочтительнее, так как они непосредственно из сорбозы осуществляют синтез 2-кето-L-гулоновой кислоты.

Для получения сорбозы культуру продуцентов *Gluconobacter* выращивают в ферментаторах периодического действия при усиленной аэрации в течение 20-40 часов.

- **Билет №17**

- 1.«Национальный центр биотехнологии Республики Казахстан» был создан путем реорганизации согласно постановлению Правительства Республики Казахстан от 2 августа 2005 года № 802. Целью деятельности которого является развитие научных исследований в области биотехнологии, разработка основных направлений научных исследований на основе государственных приоритетов научно-технического развития с учетом их социально-экономической значимости для государства. НЦБ является головной и координирующей организацией по выполнению следующих прикладных научно-технических программ:
 - «Разработка современных технологий для формирования кластера по биотехнологии в Республике Казахстан на 2006-2008 годы».
 - «Грипп птиц: изучение, разработка средств и методов борьбы на 2006 - 2008 годы».
 - «Научно-техническое обеспечение биологической и химической безопасности Республики Казахстан на 2006-2008 годы».
 - «Научно-техническое обеспечение мониторинга и генетического картирования возбудителей особо опасных инфекций растений и животных для биобезопасности Республики Казахстан на 2004-2006 годы».
- 2. Бифидобактерии бифидум (лат. *Bifidobacterium bifidum*) — вид грамположительных анаэробных бактерий, относящихся к роду [бифидобактерии](#) (лат. *Bifidobacterium*). Антидиарейный эффект бифидобактерий бифидум основан на том, что они являются антагонистами широкого спектра патогенных ([шигеллы](#), [сальмонеллы](#), [золотистый стафилококк](#) и др.) и условно патогенных микроорганизмов ([протей](#), [клебсиеллы](#) и др.) Антитоксическое действие бифидобактерий бифидум обеспечивается быстрым заселением [кишечника](#), восстановлением нормальной микрофлоры, которая препятствует проникновению токсинов во внутреннюю среду организма и, являясь естественным биосорбентом, аккумулирует в значительном количестве попадающие извне или образующиеся в организме токсические вещества. Бифидобактерии в высокой концентрации активизируют пристеночное пищеварение кишечника, синтез витаминов и аминокислот, усиливают защитную функцию кишечника и иммунную защиту организма.

Билет №18

1. Роль системы качества (GLP-GCP ИGMP) при производства и контроля качества лекарственных средств, полученных биотехнологическими методами.

2. Преимущества биотехнологических методов производства стероидов перед методами химического синтеза.

1..GLP – (Good Laboratory Practice)–надлежащая лабораторная практика– правила организации лабораторных направлений.

Стандарт GLP («Good Laboratory Practice»,

Надлежащая лабораторная практика) — система норм, правил и указаний, направленных на обеспечение согласованности и достоверности результатов лабораторных исследований. **В комплексе со стандартами GMP**

(Надлежащая производственная практика) и GCP (Надлежащая клиническая практика) призван стандартизовать некоторые аспекты качества медицинского обслуживания населения. **GCP – (Good**

Clinical Practice) – Надлежащая клиническая практика– правила организации клинических испытаний.

GMP – (Good Manufacturing Practice) – надлежащая производственная практика – правила организации производства и контроля качества лекарственных средств, это единая система требований к производству и контролю. Правила GMP – это руководящий, нормативный документ, которому и производство и фирма обязаны подчиняться. Правила GMP обязательны для всех предприятий, выпускающих готовые лекарственные формы (ГЛФ), продукцию медицинского назначения, а также субстанции. К экспортерам лекарственных средств, предъявляются следующие требования2. Целевой продукт, синтезируемый биологическим способом, присутствует в довольно сложной смеси, что обуславливает необходимость разделения его от примеси ненужных веществ.

3. Биотехнологические производства требуют больших количеств воды, которую в итоге необходимо удалять, сбрасывая в окружающую среду.

4. Биопроцессы обычно идут медленнее в сравнении со стандартными химическими процессами.

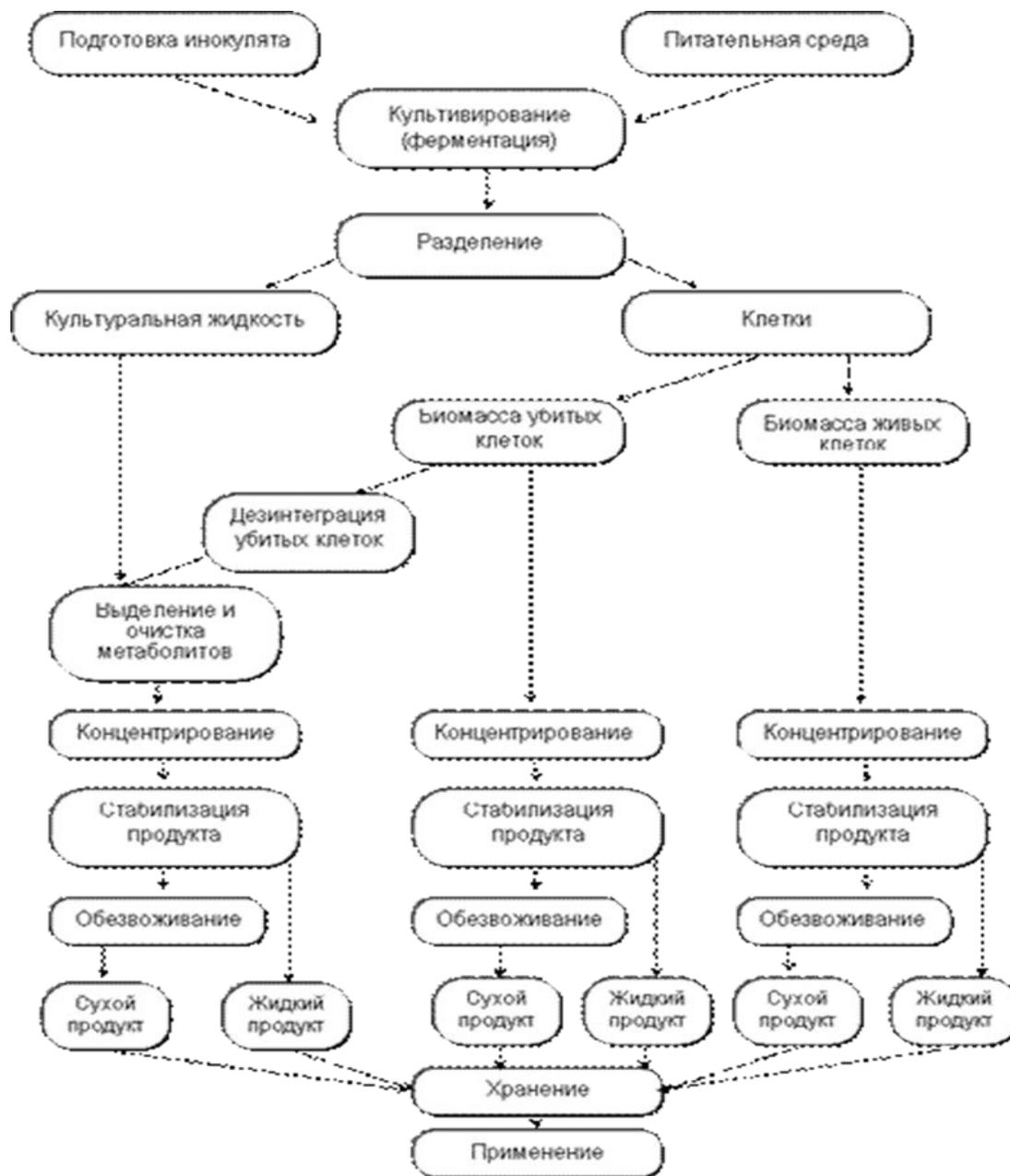
Любой биотехнологический процесс (лабораторный или промышленный) реализуют условно в три основных этапа. Первый из них – подготовительный (предферментация), когда необходимо выполнить все подготовительные работы (подготовка и стерилизация питательных веществ (субстрата для культивирования микроорганизмов-продуцентов), наработка (накопление) используемого продуцента, стерилизация и подготовка основного оборудования (реактора – ферментера). Второй этап – основной (ферментация) включает в себя стадию культивирования соответствующего микроорганизма-продуцента и накопления (наработки) целевого продукта. На третьем этапе – постферментационном осуществляется выделение и очистка целевого продукта.

- **Билет №19**

- 1. Получение лекарственных веществ на основе растительных культур тканей. Культивирование растительных клеток.
- 2. Какие этапы включает процесс получения продуцента для препаратов нормофлоры?
- 1. **Культивирование** — разведение, выращивание растений, злаков, растительных клеток, тканей, микроорганизмов, животных или органов в искусственных условиях. Культуры клеток высших растений. Можно выделить две основные тенденции применения культур клеток высших растений : 1. Изучение биологии клетки, существующей вне организма, обуславливающее ведущую роль клеточных культур в фундаментальных исследованиях по генетике и физиологии, молекулярной биологии и цитологии растений. 2. Культивируемые клетки высших растений могут рассматриваться как типичные микрообъекты, достаточно простые в культуре, что позволяет применять к ним не только аппаратуру и технологию, но и логику экспериментов, принятых в микробиологии. Основным типом культивируемой растительной клетки является каллусная. Каллусная клетка, в результате деления которой возникает каллусная ткань или каллус, представляет один из типов клеточной дифференцировки, присущей высшему растению. Для растения каллус является тканью, возникающей под действием «раневых гормонов» путем неорганизованной пролиферации де дифференцированных клеток при исключительных обстоятельствах (обычно при травмах) и функционирующей непродолжительное время. Эта ткань защищает травмированное место, накапливает питательные вещества для анатомической регенерации или генерации утраченного органа. Образование каллуса не всегда связано с травматическим воздействием. Каллус может возникнуть и в результате пролиферации внутренних тканей эксплантат без связи с поверхностью среза из-за нарушения гормонального баланса. Растущий каллус разрывает слои ткани и развивается на поверхности.
- 2. Микроорганизмы, составляющие нормофлору, представляют собой четкую морфологическую структуру в виде биопленки. Толщина ее 0,1 – 0,5мм. В ней содержится от нескольких сотен до нескольких тысяч микроколоний, образующихся как из анаэробных, так и аэробных бактерий [2].
- Формирование биопленки создает для бактерий дополнительную защиту. Внутри биопленки бактерии более устойчивы к действию химических и физических факторов, влияющих на состояние нормальной микрофлоры. К ним относятся:
 - 1)эндогенные:
 - а)секреторная функция организма;
 - б)гормональный фон;
 - в)кислотно-основное состояние;
 - 2)экзогенные: условия жизни (климатические, бытовые, экологические).
- Любые количественные или качественные изменения типичной для данного биотопа нормофлоры человека, возникающие в результате воздействия на макро- или микроорганизм различных неблагоприятных факторов приводят в дисбактериозу.
- Для коррекции дисбактериоза необходимо устранить причину, вызвавшую его, затем использовать зубиотики(пробиотики) и пребиотики и симбиотики.
- Пребиотики – это препараты немикробного происхождения, способные оказывать позитивный эффект на организм хозяина через селективную стимуляцию роста или метаболической активности нормальной микрофлоры кишечника, стимулирующие рост и размножение так называемых дружественных человеку бактерий. Это низкомолекулярные углеводы (фруктозо-олисахариды, инулин, лактулоза и др.), которые не должны подвергаться гидролизу пищеварительными ферментами.

- **Билет №20**

- 1. Аналитическая экспертиза иммуннобиологических препаратов при государственной регистрации, перерегистрации в регуляторном органе.
- 2. Сколько стадий биотехнологического производства Вы знаете? Назовите их и охарактеризуйте происходящие в них процессы.
- 1. Иммунология в наши дни приобрела общебиологическое и общемедицинское значение. Как и всякая наука, иммунология делится на отрасли по методам познания и объектам изучения. Одним из важнейших направлений иммунологии является иммунобиотехнология, изучающая способы и методы конструирования, биотехнологического получения, стандартизацию и оценку свойств иммуннобиологических препаратов. Эти препараты играют существенную роль в снижении инфекционной заболеваемости и находят все более широкое применение в неинфекционной патологии – в онкологии, иммунологии, трансплантологии, в решении проблем репродукции и др. В настоящее время разработано и используется в практике более 500 ИБП. В России ранее производилось 750 ИБП, в настоящее время их количество сократилось и составило – около 500 ИБП, обеспечивающих эпидемиологическое благополучие по многим инфекционным болезням. ИБП можно разделить на 5 больших групп: 1 вакцины и другие микробные лечебные и профилактические препараты (анатоксины, фаги, эубиотики); 2 препараты на основе антител (иммуноглобулины, иммунные сыворотки); 3 иммуномодуляторы; 4 адаптогены; 5 диагностические препараты. Эта классификация является наиболее обоснованной и современной. ИБП адаптогенов оправдывается их влиянием на иммунную систему через эндогенные регуляторы, хотя они и обладают более широким спектром действия.
- 2. Процессы промышленной биотехнологии разделяют на 2 большие группы: производство биомассы и получение продуктов метаболизма. *Существует 5 стадий биотехнологического производства.* Две начальные стадии включают подготовку *сырья* и *биологически действующего начала*. В процессах инженерной энзимологии они обычно состоят из приготовления раствора субстрата с заданными свойствами (рН, температура, концентрация) и подготовки партии ферментного препарата данного типа, ферментного или иммобилизованного. При осуществлении микробиологического синтеза необходимы стадии приготовления питательной среды и поддержания чистой культуры, которая могла бы постоянно или по мере необходимости использоваться в процессе.



20
билет

- Лекарственные средства, полученные на основе рекомбинантных микроорганизмов. Тромболитики и антикоагулянты.
- **Гепарин** является непрямым ингибитором тромбина. (>и способен тормозить активность тромбина (фактор IIa) только в присутствии плазменных кофакторов и особенно антитромбина III. Гепарин даже в небольших дозах при подкожном введении оказывает выраженный антитромботический эффект: уменьшение частоты тромбоза глубоких вен нижних конечностей и тромбоэмболии легочной артерии, предупреждение инфаркта у больных с нестабильной стенокардией, при инфаркте миокарда — уменьшение частоты образования тромбов в левом желудочке и артериальных тромбоэмболий и даже восстановление кровотока в инфаркт-связанной артерии.
- **Тромболитические препараты** растворяют (лизируют) фибриновые тромбы и восстанавливают кровоток. Современные тромболитики являются активаторами плазминогена, то есть усиливают образование плазмина из эндогенного плазминогена. Основными показаниями для назначения тромболитических препаратов являются: острый инфаркт миокарда (особенно в первые 4-6 ч), массивная тромбоэмболия легочной артерии и острый тромбоз глубоких вен нижних конечностей.
- Получен витамин рибофлавин В2. 1. Технологическая схема получения рибофлавина: ВР-1. Подготовка биообъекта продуцента: генно-инженерного штамма *Bacillus subtilis* ВР-2. Подготовка и стерилизация оборудования и коммуникаций ВР-3. Подготовка и стерилизация субстрата ВР-4. Подготовка и стерилизация газового потока ТП-5. Культивирование биообъекта ТП-6. Выделение целевого продукта ТП-6.1. Обработка культуральной суспензии ТП-6.2. Разделение культуральной суспензии ТП-6.3. Выделение индивидуального вещества по растворимости в щелочах и кислотах ТП-7. Обезвоживание целевого продукта ТП-8. Анализ целевого продукта УМО-9. Фасовка, упаковка, маркировка лекарственной субстанции ПО-10. Биологическая очистка отходов. 2. Методами генной инженерии в России сконструирован штамм продуцента *Bacillus subtilis*. Для получения штамма с нарушенной регуляцией синтеза витамина В2 отбирали клоны, устойчивые к аналогу целевого продукта. В качестве аналога использовали розеофлавин. Штаммы, устойчивые к розеофлавинолу, обладают способностью к сверхсинтезу витамина В2. В эти мутанты дополнительно введены мутантные гены, влияющие на эффективность усвоения углеводов и пуриновых метаболитов. Штамм *Bacillus subtilis* содержит структурные гены, контролирующие биосинтез витамина В2, и их операторы в пределах одного оперона. Генно-инженерный штамм *Bacillus subtilis* синтезирует рибофлавин в три раза быстрее, чем другие продуценты и более устойчив к экзогенной контаминации. 3. Для промышленного получения витамина В2 используют также сильные сверхпродуценты - дрожжеподобные грибы группы аскомицетов *Eremothecium ashbyii*, *Ashbya gossypii*. *Ashbya gossypii* усовершенствован методами химического мутагенеза и селекции. Вместе с тем, культура *Ashbya gossypii* имеет существенный недостаток, а именно, нестабильность при хранении на твердых средах во всем диапазоне температур (от комнатной до температуры лиофилизации), что выражается в потере способности к сверхсинтезу витамина. Для сохранения активности штамма постоянно проводится селекция наиболее окрашенной в оранжевый цвет колонии.

- 22
- Методы эффективного использования средства защиты растений и уменьшение загрязнения окружающей среды .
- Руководствуясь этим, авторский коллектив стремился на [основе материала](#), накопленного наукой и практикой, [дать представление](#) учащимся сельскохозяйственных техникумов о химическом и биологическом методах защиты растений. [\[с.2\]](#)

Биологические методы защиты растений от болезней, основанные на явлениях [природного антагонизма](#) в качестве [альтернативы химическим](#) средствам, следует рассматривать как неотъемлемую компоненту интегрированной [системы защиты](#) в современном растениеводстве, а в ряде случаев и как единственное [средство защиты](#) от фитопатогенов. [\[с.5\]](#)

- 1. витамин B12 - цианокобаламин 2. нет 3. Также Витамин B12 получают с использованием в качестве продуцентов пропионовокислых бактерий (Propionibacterium freudenreichii 42 и Propionibacterium shermanii), Pseudomonas denitrificans, с помощью метаногенных бактерий и с помощью продуцентов стрептомицетов. 4. В качестве продуцентов используют различные мутантные штаммы Propionibacterium freudenreichii и Propionibacterium shermanii. Предпочтение отдается штаммам, способным к самостоятельному синтезу 5,6-диметилбензимидазола. Технологически процесс при этом является периодическим и состоит из двух стадий. На первой стадии культуру выращивают в анаэробных условиях до полной утилизации сахаров. Через 72 часа на второй стадии включают аэрацию и создают условия для синтеза 5,6-ДМБ или вводят 5,6-ДМБ и соли кобальта в питательную среду. Питательная среда содержит глюкозу или инвертированную мелассу, сульфат аммония как источник азота, кукурузный экстракт, содержащий молочную и пантотеновую кислоты и усиливающий рост бактерий. Ферментацию ведут в одном биореакторе, если стадия осуществляется в разных биореакторах, то анаэробные выросшие клетки отделяют путем центрифугирования и переводят в другой биореактор с аэрацией. Процесс происходит при температуре 30°C, рН= 6,5-7. Основными направлениями совершенствования штаммов микроорганизмов-продуцентов цианокобаламина являются: увеличение продуктивности штаммов микроорганизмов методами мутагенеза и селекции; увеличение продуктивности штаммов микроорганизмов методом слияния протопластов; увеличение продуктивности штаммов-продуцентов методом генной инженерии; создание штаммов-продуцентов, секретирующих витамин в культуральную жидкость; создание штаммов-продуцентов, растущих на средах из непищевого сырья. 5. Целевой продукт экстрагируют подкисленной водой при температуре 85-90°C и рН = 4,5-5,0 в качестве стабилизатора добавляя нитрит натрия. Водный раствор витамина охлаждают, доводят рН до нейтральных значений, коагулируют белки и фильтруют. Очистку раствора проводят методом ионообменной хроматографии с последующим элюированием раствором аммиака. Дополнительная очистка проводится хроматографическим методом на колонках с окисью алюминия с элюацией цианокобаламина водным раствором ацетона.

- *Билет №23*

-
- Основные принципы промышленного осуществления биотехнологических процессов.
- Большое разнообразие биотехнологических процессов, нашедших промышленное применение, приводит к необходимости рассмотреть общие, наиболее важные проблемы, возникающие при создании любого биотехнологического производства. Процессы промышленной биотехнологии обычно разделяют на две большие группы по признаку целевого продукта — производство биомассы и получение продуктов метаболизма. При таком подходе удачно освещается цель производства, которая в первом случае заключается в получении клеточной массы продуцента, вне зависимости от того, будет ли далее использоваться живая культура (например, сахаромицеты для пищевых целей, споры с токсинами в целях защиты растений) или биомасса нежизнеспособных клеток как источник белка, витаминов и других ценных веществ для кормопроизводства. Ко второй группе относят все процессы, где целевым продуктом становится один или несколько метаболитов, а клетки продуцента не нужны или даже вредны после завершения фазы биосинтеза; это, например, получение продуктов брожения, ферментов, аминокислот, антибиотиков и всевозможные виды микробных трансформаций.
- У инженера-технолога такая классификация по целевому продукту не вызывает возражений, однако она не отражает наиболее существенных с технологической точки зрения аспектов промышленных биотехнологических процессов, которые, с одной стороны, роднят их с химической технологией, а с другой — резко отличают от последней. В этом плане наиболее эффективно рассмотреть, какие стадии включает в себя типичный процесс промышленной биотехнологии, каковы общие черты и различия этих стадий в зависимости от конечной цели производства.
- Основными стадиями биотехнологического производства можно считать пять операций, которые взаимосвязаны, но различаются по целям и принципам их достижения. Две начальные стадии включают подготовку сырья и биологически действующую-
-
- 2. Возможно ли получение указанного выше лекарственного вещества (хинин) биотехнологическим методом. В чем заключается специфика этого метода. Природный источник получения хинина – кора хинного дерева, содержащая 24 алкалоида 2-15%. Природные источники - различные виды хинного дерева, произрастающие в Южной Америке и культивируемые на острове Ява. В России не культивируется. Проблему производства хинина можно решить при использовании культуры клеток растения, выращенных методом суспензионного культивирования. (Смотреть особенности получения вторичных метаболитов в задаче № 4).

- 24 билет
- Invitro метод выращивания клеток и тканей растения и животных.
- Культивирование фрагментов ткани или одного растения - *эксплантов*, а тем более отдельных клеток, требует соблюдения полной асептики. Микроорганизмы, которые могут попасть в питательную среду, выделяют *токсины*, тормозящие рост клеток и приводящие культуру к гибели. Поэтому все манипуляции с клетками и тканями при культивировании *in vitro* проводят с соблюдением определенных правил асептики в *ламинар-боксе* или в асептических комнатах. Асептика достигается подачей пропущенного через фильтры стерильного воздуха, направленного из ламинар-бокса наружу. На поверхности растительных тканей всегда находится *эпифитная микрофлора*. Поэтому необходима поверхностная стерилизация, которая достигается путем обработки участков растений, из которых будут выделять *экспланты*, дезинфицирующими веществами (перекись водорода, сулема).
- Биотехнологическое производство ЛС основано на использовании биообъектов, функции которых на разных этапах процессов биосинтеза различны. Рассмотрите варианты их использования.
- Биообъект – обязательный элемент биотехнологического процесса. Он может существовать как организм (одно и многоклеточный) или изолированные клет- ки, вирусы или мультиферментные комплексы или ферменты (биокатализато- ры) Биообъект осуществляющий полный синтез – продуцент. Индивидуальный фермент или биообъект, выполняющий функцию одной ферментной реакции – биокатализатор. Отсюда - функции биообъекта – полный синтез целевого про- дукта, включающий ряд последовательных ферментативных реакций или ката- лиз лишь одной реакции, которая имеет ключевое значение для получения це- левого продукта.

- *Билет №25*
-
- Лекарственные средства, полученные на основе рекомбинантных микроорганизмов. L- аскорбиновая кислота.
- **Аскорби́новая кислота́** — [органическое соединение](#), родственное [глюкозе](#), является одним из основных веществ в человеческом рационе, которое необходимо для нормального функционирования соединительной и костной ткани. Выполняет биологические функции восстановителя и [кофермента](#) некоторых [метаболических процессов](#), является [антиоксидантом](#). Биологически активен только один из изомеров — L-аскорбиновая кислота, который называют **витамином С**. В природе аскорбиновая кислота содержится во многих [фруктах](#) и [овошах](#)^[3]. [Авитаминоз](#) аскорбиновой кислоты приводит к [цинге](#).
- Как можно оценить антибиотическую активность ЛС, поступивших на контроль с целью проверки их концентрации?
- Определение антимикробной активности основано на их способности угнетать рост микроорганизмов. Определение проводят методом диффузии в агар на плотной питательной среде путем сравнения размеров зон угнетения роста тест-микробов, образующихся при испытании растворов ГСО и испытуемого препарата.
-
-

Билет №26

Оптимизировать БТ процесс можно:

- использованием различных биотехнологических режимов;
- методами иммобилизации или биотрансформации для повышения выхода целевого продукта (вторичных метаболитов);
- оптимизацией физических факторов (температура 26С, влажность 60-70%);
- аэрацией;
- перемешиванием;
- подбором ингредиентов питательной среды

Приведите сравнительную характеристику каллусных и суспензионных культур при использовании их в качестве субстрата для получения БАВ биотехнологическими методами.

Каллусные культуры выращивают на малых площадях на твердых культурах и в дальнейшем используют для синтеза соединений всех классов. Выход продуктов более высок, чем при синтезе в самих растениях.

Технология каллусных клеток имеет такие преимущества, как надежность и стабильность при выходе биомассы и продуктов вторичного метаболизма, а также возможностью использования каллусной системы для иммобилизации с последующей биотрансформацией.

Недостаток – применение ручного труда.

По сравнению с суспензионными культурами выход продуктов метаболизма выше именно у каллусных систем, но управление процессом культивирования легче при работе с суспензионными культурами.

Однако выращивание культур в биореакторах глубинным способом дает получение большой биомассы.

- *Билет №27*

-
- Определение чувствительности к антибиотикам диско-диффузионным методом.
- При определении чувствительности ДДМ на поверхность агара в чашке Петри наносят бактериальную суспензию тестируемого микроорганизма определенной плотности, затем помещают диски, содержащие антибиотик. Диффузия антибиотика в агар приводит к формированию зоны подавления роста микроорганизмов вокруг дисков [2].
- Результат учитывается по величине диаметра зоны подавления роста вокруг диска, измеренной в миллиметрах (рис. 1).

-
-
-
- 2. Известно, что в условиях промышленного производства природные продуценты БАВ должны быть генетически модифицированы. Как решается данная проблема в плане эффективности и безопасности получения ЛС?

-
- Безопасность на генетическом уровне означает, что в геном продуцента чужеродного белка вносится еще одно изменение – удаляются гены, участвующие в синтезе определенной аминокислоты. Поэтому вне среды без этой кислоты микроорганизм не размножается и опасность заражения мала.
- Эффективность генномодифицированных продуцентов при ферментации и наработке вторичных метаболитов доказана повышением выхода целевых продуктов.
-

Определение стерильности иммунобиологических препаратов .

определение стерильности препаратов проводят с применением тиогликолевой среды, которая выпускается отечественной промышленностью в виде сухого препарата по утвержденной НТД.

Контроль отсутствия специфической микрофлоры, которая в силу особенностей технологии производства может контаминировать некоторые препараты, должен осуществляться в соответствии с методиками, изложенными в НТД на конкретные препараты.

"Входной" контроль каждой новой серии сухой тиогликолевой среды и контроль каждой партии среды, приготовленной из компонентов (включая случаи приготовления среды из сухого порошка, но с добавлением тиогликолевой кислоты или тиогликолята extempore), должен предусматривать оценку качества среды по стерильности, ростовым и нейтрализующим свойствам.

Контроль качества каждой их последующих партий тиогликолевой среды,готавливаемых из одной серии сухого препарата (прошедшей полный "входной" контроль), должен предусматривать оценку качества только по стерильности и ростовым свойствам.

Для проверки стерильности препаратов без ртутного консерванта (мертиолята) тиогликолевая среда может быть использована в течение двух недель со дня приготовления. Среду после приготовления следует хранить в защищенном от света месте при комнатной температуре.

Для проверки стерильности препаратов, содержащих мертиолят, готовая к употреблению тиогликолевая среда должна быть использована не позднее 1-3 суток со дня приготовления. Конкретные сроки годности (1, 2, 3 суток) каждой партии тиогликолевой среды устанавливают путем испытания ее нейтрализующих свойств через сутки, двое, трое - соответственно.

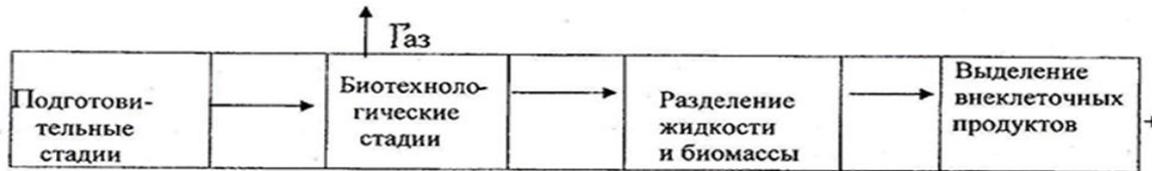
В случае использования сухой тиогликолевой среды срок годности для всех партий среды,готавливаемых из одной серии сухого препарата, устанавливают в процессе осуществления "входного" контроля.

В процессе ферментации растительных клеток для увеличения выхода целевого продукта (например, шиконина) было предложено значительно увеличить объем ферментера (более 2000 л), использовать трехлопастную мешалку,увеличить подачу кислорода и повысить влажность с 50% до 60-70%. Определите какие ошибки были допущены при выборе условий ферментации.

Шиконин получают из каллусной ткани культуры клеток воробейника краснокорневого. Увеличение влажности до 60-70% показано для каллусных культур.

А из-за низкой интенсивности дыхания необходимость интенсивной аэрации экономически и технически не обоснована, т.к. каллусные культуры выращивают на твердых средах на малых площадях – использовать реактор большого объема нецелесообразно, также как и интенсивное перемешивание.

- *Билет №29*
-
- Виды ферментеров. Выделение, концентрирование и очистка биотехнологических продуктов.
- Типы биореакторов (аферментеров)
- Биореакторы подразделяют на три основные группы:
- реакторы с механическим перемешиванием;
- барботажные колонны, через которые для перемешивания содержимого пропускают воздух;
- эрлифтные реакторы с внутренней или внешней циркуляцией;
-
- Получение субстанции аскорбиновой кислоты является многостадийным процессом, в котором сочетаются методы органического и микробиологического синтеза. Какой предшественник аскорбиновой кислоты получают с использованием биотехнологии и каково значение этого этапа для всего процесса в целом?
-
- Производство аскорбиновой кислоты – трудоемкий процесс, включающий одну
- микробиологическую и несколько химических стадий.
- Исходным субстратом по 1 способу – является D-глюкоза. На последнем этапе
- оргсинтеза 2 кето L гулоновая кислота превращается в кислых условиях в L-
- аскорбиновую кислоту.
- 2KLG можно получить биотехнологическим способом трансформацией клеток
- *Erwinia herbicola*. При этом D-глюкоза активно превращается в L-
- аскорбиновую кислоту.
- 2-ой способ – биотрансформация D-сорбита в L-сорбозу при участии ацетатных
- бактерий методом глубоинной ферментации. Это позволяет сократить стадии
- химического производства.

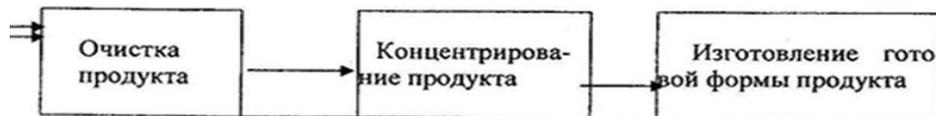


Приготовление среды
 Стерилизация среды
 Подготовка и стерилизация газов (воздуха)
 Подготовка посевного материала
 Приготовление биокатализатора
 Предварительная обработка сырья

Ферментация
 Биотрансформация
 Биокатализ (реакции с ферментами)
 Биоокисление
 Метановое брожение
 Биокомпостирование
 Биосорбция
 Бактериальное выщелачивание
 Биодеградация

Отстаивание
 Фильтрация
 Сепарация
 Центрифугирование
 Микрофильтрация
 Ультрафильтрация
 Коагуляция
 Флотация

Выделение внутриклеточных продуктов
 Экстракция и экстрагирование
 Осаждение
 Центрифугирование
 Адсорбция
 Ионный обмен
 Отгонка, ректификация
 Дезинтеграция
 Гидролиз
 Ферментализация
 Ультрафильтрация



Экстракция
 Осаждение
 Адсорбция
 Ионный обмен
 Хроматография
 Диализ
 Ультрафильтрация
 Обратный осмос
 Ферментализация
 Кристаллизация
 Ректификация

Выпаривание
 Сушка
 Осаждение
 Кристаллизация
 Фильтрация
 Ультрафильтрация
 Нанофильтрация

Гранулирование
 Дражирование
 Таблетирование
 Розлив
 Фасовка
 Ампулирование

29
 билет

Билет №30

Определение эндотоксинов у вакцин фармакопейным методом.

Для выполнения количественного анализа бактериальных эндотоксинов лаборатория оборудована современными приборами: прибор для автоматического определения бактериальных эндотоксинов турбидиметрическими методами LAL 5000 («Associates of Cape Cod, Inc.», США), микропланшетном ридер ELx808 («BioTek Instruments Inc.» США) на базе спектрофотометра HP 8453 UV-VIS («Hewlett Packard», США).

Кроме того, на базе лаборатории выполняется количественное определение бактериальных эндотоксинов с помощью хромогенного кинетического метода и хромогенного метода конечной точки.

Хромогенный метод относится к инструментальным спектрофотометрическим методам количественного определения бактериальных эндотоксинов. Главной отличительной особенностью хромогенного метода от турбидиметрических является использование специфического лизата, в котором коагулоген - белок, который может сворачиваться, - полностью или частично замещен на искусственный хромогенный пептид.

Принцип хромогенного кинетического метода основан на измерении времени реакции, необходимого для развития определенной интенсивности окрашивания после освобождения красителя благодаря лизису хромогенного пептида в присутствии эндотоксинов. Концентрация бактериальных эндотоксинов в растворе определяется по логарифмам времени реакции с помощью калибровочного графика. Чем выше концентрация эндотоксина, тем быстрее протекает биохимическая реакция, и тем меньше требуется времени для того, чтобы оптическая плотность достигла предельного значения. Измерения проводятся с помощью спектрофотометра при длине волны 405 нм.

В производстве пенициллина в начале ферментации было добавлено в питательную среду определенное количество фенилуксусной кислоты, что привело к снижению выхода целевого продукта. Какая ошибка была допущена в данном процессе?

Фенилуксусная кислота участвует в процессе образования бензилпенициллинов в результате чего образуются новые связи, замыкающие пептиды с образованием беталактамного кольца, при этом выделяется аминокадипиновая кислота и кофермент А.

Внесение фенилуксусной кислоты в начале процесса тормозит протекание взаимосвязанных превращений, т.к. данный агент участвует только в заключительной стадии процесса.