

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»  
Биологический факультет



## ПРОГРАММА ВСТУПИТЕЛЬНОГО ЭКЗАМЕНА

(для осуществления приема на обучение по образовательным  
программам высшего образования - программам подготовки  
научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре)

### 1.5.6. Биотехнология

кафедра микробиологии биологического факультета МГУ

Программа рассмотрена и одобрена  
Ученым советом факультета  
(протокол № 6 от 26 мая 2022 г.)

## **I. ОПИСАНИЕ ПРОГРАММЫ**

Настоящая программа предназначена для организации приема вступительного экзамена в аспирантуру по биотехнологии и содержит основные темы и вопросы к экзамену, список основной и дополнительной литературы и критерии оценивания.

## **II. ОСНОВНЫЕ РАЗДЕЛЫ И ВОПРОСЫ К ЭКЗАМЕНУ**

Предмет и задачи биотехнологии, история возникновения и развития. Объекты и методы биотехнологии. Роль фундаментальных исследований в становлении и развитии микробной биотехнологии, зообиотехнологии и фитобиотехнологии.

### **Промышленная биотехнология**

#### **Культивирование и рост микроорганизмов.**

Накопительные и чистые культуры микроорганизмов. Основные типы сред. Культивирование аэробных и анаэробных микроорганизмов, техника Хангейта. Рост отдельных микроорганизмов и популяций (культур). Сбалансированный и несбалансированный рост. Основные параметры роста культур: время генерации, удельная скорость роста, выход биомассы, экономический коэффициент. Закономерности роста чистых культур при периодическом выращивании. Рост микроорганизмов при непрерывном культивировании. Синхронные культуры, способы получения и значение. Сырье для ферментаций, его биологическая ценность и экономическая оценка. Источники углерода, азота, фосфора, микроэлементов, используемые в биотехнологии.

Промышленная асептика, стерилизация аппаратуры, жидкостных и газовых потоков. Способы стерилизации жидкостей. Термическая стерилизация. Кинетика гибели микроорганизмов. Влияние температуры, критерии стерилизации. Периодическая и непрерывная стерилизация. Разработка технологических схем стерилизации жидкостей. Стерилизация воздуха. Особенности стерилизующей фильтрации воздуха. Технологические схемы сжатия и очистки воздуха. Стерилизация оборудования, деконтаминация воздуха в производственных помещениях. Проверка оборудования и сред на стерильность.

Принципиальная схема поверхностного культивирования. Принципиальная схема глубинного культивирования. Основные типы ферментационной аппаратуры для поверхностного и глубинного культивирования, Физико-химические основы и аппаратурное оформление процессов отделения биомассы. Основные принципы культивирования вирусов.

## **Методы контроля микробиологических производств.**

Методы определения концентрации микроорганизмов. Химический анализ основных компонентов культуральной жидкости. Контроль асептичности процессов. Методы и приборы для контроля технологических параметров процесса культивирования – температуры, pH, содержания растворенных газов объема и массы растворов. Применение газового анализа, электрофореза, газовой и жидкостной, а также высокоэффективной, хроматографии для контроля производства.

## **Наследственность и изменчивость.**

Наследственная и ненаследственная изменчивость, мутационная природа изменчивости, типы мутаций. Спонтанный и индуцированный мутагенезы. Популяционная изменчивость, селекция различных мутантов. Применение мутантов микроорганизмов в биотехнологии. Трансформация, трансдукция, конъюгация, рекомбинация и генетический анализ у фагов. Плазмиды, транспозоны, использование вирусов и плазмид в генетической инженерии. Рекомбинация у эукариот, половой и парасексуальный процессы, цитоплазматическая наследственность.

## **Основы зообиотехнологии.**

Строение типичной клетки животных. Кариотип и его структура. Идиограмма. Рост клеток, клеточный цикл. Слияние клеток, гетерокарионы. Транспорт веществ, адгезивные белки, структура и роль гликокаликса. Типы клеточных контактов. Движение клеток. Феномен контактного ингибирования.

Клеточный уровень организации. Специализация клеток в многоклеточном организме, типы клеток и типы тканей, органы. Организм как система органов, межклеточные, гуморальные и нервные формы регуляции. Культуры клеток, культуры тканей и культуры органов. Дифференцировка и дедифференцировка клеток. Тотипотентность соматических клеток. Преимущества культивируемых клеток по сравнению с клетками в составе организма. Применение культивируемых клеток.

Особенности процесса культивирования клеток и тканей. Качество воды, воздуха, питательные среды, специфические методики работы, асептические помещения, стерильные рабочие места, ламинарные боксы. Требования к чистоте воздуха, стандарт GMP EC ( Good Manufacturing Practice). Типы питательных сред и их микробиологический контроль.

Приборы и оборудование для работы с культурами клеток и тканей. CO<sub>2</sub> – инкубаторы, инвертированные микроскопы. Правила работы и техника безопасности в лаборатории культур клеток и тканей.

Способы выращивания клеток и тканей человека и животных. Органные культуры, методы их получения и преимущества. Способы получения первичных культур клеток. Первично-трипсинизированные клетки. Субкультивирование. Установившаяся культура, методы получения и поддержания субкультур. Кривая роста. Определение концентрации и жизнеспособности клеток. Митотический индекс. Определение ростостимулирующей активности и цитотоксичности сыворотки. Механические способы отделения клеток от поверхности и их преимущества.

Культуры диплоидных клеток. Спонтанная трансформация клеток. Гетеропloidные и анеупloidные клетки. Штаммы и линии клеток. Постоянные (стабильные) клеточные линии с ограниченным сроком жизни. Причины утраты клетками их исходных свойств. Методы клонирования клеток.

Сохранение и оценка качества клеток. Контроль чистоты клеточных культур, борьба с контаминацией. Заражение культур микоплазмами и хламидиями, способы их деконтаминации.

Коллекция клеточных культур.

Гибридомная технология, её основы и сущность. Гибридомы и моноклональные антитела. Свойства моноклональных антител и их применение. Генетическая трансформация клеток животных в культуры, методы получения трансгенных животных.

### **Основы фитобиотехнологии.**

Особенности строения клеток растений. Методы культивирования клеток растений. Оборудование, питательные среды. Принцип введения клеток растений в культуру. Культура каллуса, дедифференцировка клетки, действие фитогормонов. Первичный каллус и пути его развития. Тотипотентность соматических клеток. Штамм и линия клеток. Методы клонирования растительных клеток.

Суспензионные культуры клеток растений и их особенности. Влияние на клетки механического стресса и гидродинамического удара. Ферментеры для выращивания суспензионных культур клеток растений, типы перемешивающих устройств и способы аэрации. Периодическое и непрерывное выращивание клеток. Преимущества суспензионных культур.

Культуры протопластов, способы их получения и культивирования. Слияние протопластов. Применение культур протопластов для гибридизации соматических клеток. Методы получения трансгенных растений. Перенос генов в растения с помощью бактерий рода *Agrobacterium*.

## **Общая биотехнология**

### **Пищевая биотехнология.**

Концепция современного питания, сбалансированное, рациональное и функциональное питание. Химическая характеристика пищевых продуктов. Белковая проблема и питание человека. Производство пищевого белка. Белок в кормопроизводстве, характеристика растительного и микробного белка. Технология белка одноклеточных – проблема сырья, производства и экологии. Технология промышленного получения белка, белково-витаминные концентраты на базе гидролизатов древесины, растительных отходов, углеводородов нефти, дизельного топлива, спиртов и природного газа. Микробиологическое производство аминокислот, технология получения лизина, глутаминовой кислоты и других аминокислот.

### **Микробная биотехнология.**

Технология получения антибиотиков, полусинтетические антибиотики. Технология получения ферментных препаратов, особенности очистки и концентрирования. Товарные формы ферментных препаратов, полиферментные системы и их применение. Иммобилизованные ферменты и клетки. Технология микробиологического производства удобрений. Технология получения энтомопатогенных препаратов, основы их применения в сельском хозяйстве. Промышленное применение микроорганизмов для производства витаминов, органических кислот, спиртов и растворителей. Перспективы промышленного применения методов биотехнологии в хозяйственной деятельности.

### **Зообиотехнология.**

Технология выращивания клеток в монослое. Технология промышленного получения клеток в биореакторах на основе подвижных микроносителей и сусpenзионного культивирования клеток. Типы биореакторов для сусpenзионного культивирования клеток.

Технология получения гибридом и моноклональных антител. Выращивание гибридом в сусpenзии с помощью ферментеров.

Технология использования клеточных культур для получения вирусов, интерферонов, гормонов, ферментов, поверхностных антигенов, иммуномедиаторов, антител.

Технология получения трансгенных животных.

### **Фитобиотехнология.**

Технология синтеза вторичных метаболитов растений. Получение метаболитов с помощью биотрансформации. Технология получения соматических гибридов высших растений с помощью протопластов. Методы получения

трансгенных растений с помощью бактерий.

Методы созданий гаплоидных растений. Технология клonalного микроразмножения и оздоровления растений: образование адвентивных побегов, индукция развития пазушных меристем, пролиферация каллуса с регенерацией растений.

### **Медицинская биотехнология**

Биообъекты в фармакологии, гигиене и санитарии. Генетический контроль за функционированием биообъектов. Подходы к совершенствованию биообъектов. Иммобилизованные биообъекты. Использование методов иммобилизации объектов в медицинских биотехнологиях и в диагностике заболеваний. Микробиологическая трансформация органических соединений в производстве лекарственных препаратов. Современная диагностика на основе белков, нуклеиновых кислот, ферментов.

Использование антител для очистки биологических жидкостей. Гибридомные технологии. Иммуносенсоры. Современные прививочные препараты. Препараты на основе живых культур микроорганизмов (пробиотики и пребиотики, симбиотики). Санитарная и профилактическая биотехнология.

### **Экобиотехнология**

Основные экологические особенности протекания биологических процессов в открытых средах и природных нишах. Основные пути переработки отходов и ликвидации загрязнений биотехнологическими методами.

### **Биоконверсия возобновляемого сырья и отходов.**

Силосование и компостирование, основные биологические и технологические особенности. Вермикультура., биоудобрения. Биологические средства защиты растений, технологические особенности их получения и использования. Получение микробных инсектицидов, общие требования к препаратам и к технологии их применения. Источники, пути переноса и трансформации органических ксенобиотиков и тяжелых металлов в окружающей среде. Биохимические особенности и микробиологические процессы биодеградации и биотрансформации ксенобиотиков. Пути подготовительного метаболизма ксенобиотиков. Биотехнологические методы ремедиации природных сред и обеззараживания загрязнений. Реутилизация промышленных и сельскохозяйственных отходов. Методы обработки и утилизации биомассы. Создание замкнутых технологических схем безотходного производства. Организация очистных сооружений в промышленном районе. Основные этапы обработки производственных сточных вод. Принципиальная схема очистных сооружений. Классификация и основные особенности их организации. Механическая, физико-химическая, биологическая обработка и утилизация

осадков сточных вод. Биоценозы очистных сооружений. Аэробная и анаэробная биологическая очистка сточных вод. Аэробные процессы очистки воздуха. Биологическая дезодорация газов: основные методы и принципиальные конструкции установок. Биоремедиация и биологическая очистка природных сред: основные подходы, ограничения и пути их преодоления. Биопрепараты – основные этапы получения и использования. Биоциды и ингибиторы коррозии. Основные группы и пути использования.

### **Технология микробиологических производств.**

#### **Основы проектирования и оборудования микробиологических производств.**

Составление ТЭО и технического проекта. Методы разработки технологической схемы. Сравнение альтернативных решений по каждой стадии. Разбор стадий хранения и размножения посевного материала, подготовки сырья, приготовления питательных сред, стерилизации потоков и оборудования. Разработка рабочих чертежей, расчет технологических схем. Характеристика основной нормативно-технической документации, необходимой для организации новых и модернизации существующих биотехнологических производств. Порядок постановки на учет новых видов биотехнологической продукции.

### **Материалный и энергетический балансы процесса биосинтеза.**

Стехиометрия микробиологического синтеза. Методы расчета стехиометрических коэффициентов. Порядок составления материального баланса биосинтеза.

Тепло-массообменные процессы стадии ферментации. Влияние условий культивирования на тепловыделение, величину экономического коэффициента и степень утилизации субстрата. Потребление кислорода микроорганизмами. Массопередача кислорода от воздуха к биомассе. Концентрационные ямы. Массопередача CO<sub>2</sub>. Массообменные характеристики ферментера. Методы аэрирования в ферментерах и оценка его уровня. Пенообразование и пеногашение (химическое, технологическое). Перемешивание при ферментации, виды перемешивания (механическое, пневматическое, эрлифтное).

### **Основное ферментационное оборудование, его выбор и расчет.**

Ферментационное оборудование, его классификация, выбор конструкционных материалов. Сравнение ферментеров. Критерии выбора для конкретного производства. Методы определения величины коэффициента массопередачи. Методы и приборы контроля и автоматизации микробиологического производства. Моделирование ферментеров. Структура математических моделей производства.

## **Термодинамика и кинетика микробиологических процессов.**

Термодинамические расчеты биохимических реакций: теплота и свободная энергия, влияние температуры, pH и растворителей. Основные понятия термодинамики необратимых процессов: степень полноты реакции, некомпенсированная теплота и сродство. Сопряженные реакции. Обмен энергией и энтропией между клеткой и средой. Кинетика простых и сложных реакций, селективность. Стационарная кинетика ферментативных реакций, уравнение Михаэлиса-Ментен. Влияние ингибиторов и активаторов на скорость ферментативных реакций. Температурная и pH-зависимость активности ферментов, инактивация ферментов. Основные принципы иммобилизации ферментов и клеток, достоинства и недостатки. Кинетическое описание процесса роста популяций, экспоненциальная модель, уравнение Моно-Иерусалимского. Математическое описание периодической, турбидостатной и хемостатной культуры. Кинетическое описание смешанных культур. Кинетика гибели микроорганизмов, стерилизация. Кинетическое описание биосинтеза продуктов микроорганизмами. Особенности исследования и описания процессов биосинтеза, сопровождающихся массопередачей в системе «газ-жидкость-клетка». Мембранный потенциал. Редокс-потенциалы в биологических системах. Перенос вещества через мембранны. Мембранные равновесие, уравнение Доннана. Понятие pH, буферные смеси и их биологическая роль. Адсорбция и поверхностные явления в биологических системах. Основные принципы хроматографии, ее применение. Микробные популяции как коллоидные системы, стабилизация и коагуляция, седиментация. Высокомолекулярные биологические коллоидные системы, свойства растворов белков и полисахаридов. Физико-химические свойства гелей, роль гелей в биологических объектах.

## **Выделение и очистка конечных продуктов биосинтеза.**

Очистка горючих газов (водорода и метана) с помощью мембранных систем. Выделение и концентрирование спиртов первапорацией. Очистка белков, стабилизация ферментов. Выделение и очистка амино- и органических кислот.

## **GMP-критерии и требования к современному биотехнологическому производству.**

Основные положения GMP-протокола (Good Manufacturing Practice). Требования к помещениям, сырью, производству, очистке продукта, его упаковке, маркировке, воздуху, очистным сооружениям. Хранение и распределение готового продукта, транспортная логистика.

### **III. РЕФЕРАТ ПО ИЗБРАННОЙ СПЕЦИАЛЬНОСТИ ПОДГОТОВКИ**

Реферат по избранной специальности подготовки представляет собой обзор литературы по теме будущего научного исследования и позволяет понять основные задачи и перспективы развития темы будущей диссертационной работы. Реферат включает титульный лист, содержательную часть, выводы и список литературных источников. Объем реферата 10-15 страниц машинописного текста. В отзыве к реферату предполагаемый научный руководитель дает характеристику работы и рекомендуемую оценку, входящую в общий экзаменационный балл.

### **IV. ПРИМЕРЫ ЭКЗАМЕНАЦИОННЫХ БИЛЕТОВ**

#### **Билет №1**

**Вопрос 1.** Культура каллуса, дедифференцировка клетки, действие фитогормонов. Первичный каллус и пути его развития. Тотипотентность соматических клеток. Штамм и линия клеток. Методы клонирования растительных клеток.

**Вопрос 2.** Технология получения ферментных препаратов, особенности очистки и концентрирования. Товарные формы ферментных препаратов, полиферментные системы и их применение.

**Вопрос 3.** Содержание реферата по теме диссертационного исследования (с приложением реферата и отзыва на реферат с отметкой предполагаемого научного руководителя).

#### **Билет №2**

**Вопрос 1.** Рост отдельных микроорганизмов и популяций (культур). Сбалансированный и несбалансированный рост. Основные параметры роста культур: время генерации, удельная скорость роста, выход биомассы, экономический коэффициент. Закономерности роста чистых культур при периодическом выращивании. Рост микроорганизмов при непрерывном культивировании. Синхронные культуры, способы получения и значение.

**Вопрос 2.** Биообъекты в фармакологии, гигиене и санитарии. Генетический контроль за функционированием биообъектов. Подходы к совершенствованию биообъектов.

**Вопрос 3.** Содержание реферата по теме диссертационного исследования (с приложением реферата и отзыва на реферат с отметкой предполагаемого научного руководителя).

## **V. РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА**

### **1. ОСНОВНАЯ**

Нетрусов А.И. Введение в биотехнологию. М., «Академия», 2014.  
Безбородов А.М., Квеситадзе Г.И. Микробиологический синтез. СПб.,  
«Проспект Науки», 2011.

### **2. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ**

Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М., изд-во Моск. ун-та, 2004.  
Нетрусов А.И. (ред.). Практикум по микробиологии. М., «Академия», 2005.

## **V. КРИТЕРИИ ОЦЕНИВАНИЯ**

Уровень знаний поступающих в аспирантуру МГУ оценивается по десятибалльной шкале. При отсутствии поступающего на вступительном экзамене в качестве оценки проставляется неявка. Результаты сдачи вступительных экзаменов сообщаются поступающим в течение трех дней со дня экзамена путем их размещения на сайте и информационном стенде структурного подразделения. Вступительное испытание считается пройденным, если абитуриент получил семь баллов и выше.

## **VI. АВТОРЫ**

1. Нетрусов Александр Иванович, д.б.н., профессор кафедры микробиологии,
2. Осмоловский Александр Андреевич, к.б.н., доцент кафедры микробиологии.