

**Всероссийская олимпиада студентов «Я – профессионал»
ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП**

**НАПРАВЛЕНИЕ «БИОТЕХНОЛОГИИ»
КАТЕГОРИЯ УЧАСТИЯ МАГИСТРАТУРА/СПЕЦИАЛИТЕТ**

Вариант состоит из двух блоков. В первом блоке представлено пять заданий и Вам необходимо ответить **на каждое** из них. Максимальное количество баллов за первый блок – 60. Во втором блоке Вам необходимо выбрать только **одно** из предложенных заданий. Максимальное количество баллов за второй блок – 40.

Не забудьте перенести номер варианта в бланк ответов!

Желаем удачи!

Вариант СМ2011

Блок 1. Задание №1 – «Красная биотехнология»

Заболевания, вызываемые прионами, обнаружены у овец, коров и людей. Прионную этиологию имеют такие заболевания как семейная фатальная бессонница, болезнь Альмера (хроническая детская энцефалопатия), болезнь Герстманна-Штреусслера-Шейнкера. Общим симптом чаще всего является атаксия – нейродегенеративное расстройство, проявляющееся в нарушении согласованности работы мышц при отсутствии мышечной слабости. Природу прионных заболеваний удалось установить С. Прузинеру в 1982 году. На данный момент не существует лекарств от прионных заболеваний, тем не менее ведётся активный поиск технологий.

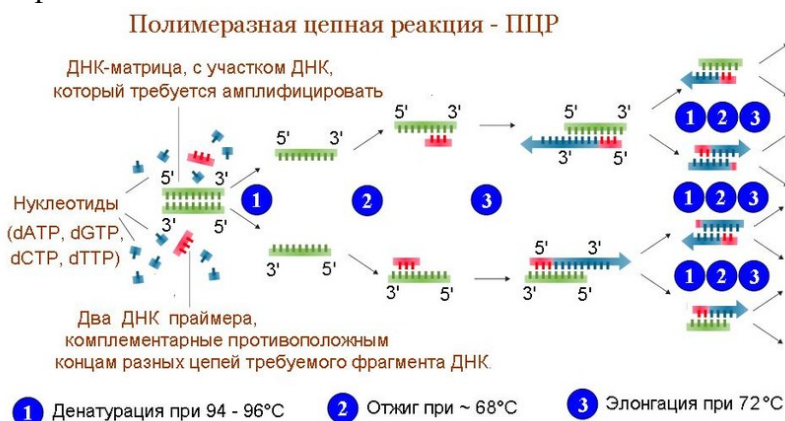
Задание:

1. Что представляют собой прионы?
2. Каковы причины прионных заболеваний? Раскройте суть каждой причины.
3. Обоснованно предложите механизм действия возможного лекарства против заболеваний, вызываемых прионами.

Блок 1. Задание №2 – «Зелёная биотехнология»

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) - мощный метод амплификации фрагментов дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Реакция происходит циклически, и теоретически ДНК-полимераза, при наличии достаточного количества праймеров и нуклеотидов (в

виде дезоксинуклеотидтрифосфатов (дНТФ)), может удваивать количество специфических продуктов амплификации в каждом цикле.



Реакционная смесь объемом 50 мкл предназначена для получения продукта длиной в 300 пар нуклеотидов (п.н.) и содержит дНТФ. Праймеры, используемые для амплификации являются 18-мером и 22-мером. Предположим, что ни праймеры, ни любой другой реагент не ограничивают скорость реакции? И реакция идет с эффективностью 100 %. Молекулярная масса одного нуклеотида 330 г/моль.

Задание:

1. Сформулируйте центральную догму молекулярной биологии.
2. Какова концентрация ДНК-матрицы в этой реакции при концентрации 800 мкмоль/л дНТФ (ответ дайте в мкг, значение округлите до десятых)?
3. Сколько копий фрагмента в 300 п.н. теоретически может быть произведено (ответ округлите до десятых)?

Блок 1. Задание №3 – «Белая биотехнология»

Аминокислоты начали получать в промышленности около 50 лет назад, после того как были изучены важнейшие этапы клеточного метаболизма. В настоящий момент основное производство аминокислот сосредоточено в следующих областях биотехнологии – пищевая промышленность (65%), кормовые добавки для скота (30%), медицина (5%).

Задание:

1. Приведите название не менее 4 аминокислот, которые производят в промышленности. Приведите их структурные формулы.
2. Какие существуют промышленные методы получения аминокислот. Какой из перечисленных методов на Ваш взгляд наиболее эффективен, обоснуйте свой выбор.
3. Предложите возможный субстрат, продуцент для производства L-глутамата. Как удаляют клетки после ферментации? Каким способом выделяют аминокислоту из культуральной жидкости?

Блок 1. Задание №4 – «Серая биотехнология»

Мировой прогресс, начиная со второй половины 20-го века, характеризуется бурным развитием техники, индустриализацией народного хозяйства, интенсификацией промышленного производства и сельского хозяйства.

Задание:

1. Опишите основные негативные последствия антропогенного действия человека на почву, водоёмы, атмосферу, климат Земли, на самого человека.
2. Какие неотложные меры по защите окружающей среды необходимо предпринять в ближайшие годы (укажите не менее 4)?
3. Предложите биотехнологические подходы к устранению последствий хозяйственной деятельности человека на одном из примеров (загрязнение океана, атмосферы, истощение и загрязнение почв и т.п.).

Блок 1. Задание №5 – Контроль биотехнологического производства

Апирогенность – основное требование к инъекционным лекарственным препаратам. Это означает отсутствие в инъекционных растворах продуктов метаболизма микроорганизмов.

Задание:

1. Что понимают под апирогенностью? Как определяют этот показатель в соответствии с действующей Фармакопеей РФ?
2. Приведите классификацию пирогенных веществ по механизму действия (приведите примеры). В чём отличие между ними?
3. Как осуществляется контроль содержания бактериальных эндотоксинов в препаратах белков, полученных на платформе *Escherichia coli*?

Блок 2. Задание 1 – «Красная» биотехнология

ПОЛУЧЕНИЕ СОМАТОТРОПИНА

Человеческий гормон роста, также известный как соматотропин, представляет собой белковый гормон, продуцируемый и секретируемый соматотропными клетками передней доли гипофиза. Человеческий гормон роста играет ключевую роль в соматическом росте у детей и в метаболизме у взрослых, вследствие его воздействия на метаболизм белков, углеводов и липидов. Человеческий гормон роста представляет собой единичную полипептидную цепь из 191 аминокислоты с молекулярной массой 22125 Да, имеющей две дисульфидные связи, одну между Cys-53 и Cys-165, образуя большую петлю в молекуле, и другую между Cys-182 и Cys-189, образуя малую петлю около С-конца.

Технология рекомбинантных ДНК позволила производить неограниченное количество рекомбинантного гормона роста человека (рГРЧ) в ряде различных систем. Наиболее популярными на данный момент системами для коммерческого производства рГРЧ являются *Escherichia coli* и дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*.

Задание:

- Проведите сравнительный анализ возможных проблем и способов их устранения при использовании *E. Coli* и *S. Cerevisiae* для получения рГРЧ в промышленных масштабах.
- Основываясь на Вашем анализе, предложите и обоснуйте усовершенствованный способ продуцирования в прокариотах и очистки рГРЧ, приводящий к улучшенной промышленной применимости Вашего способа с наиболее оптимальным соотношением выхода и чистоты целевого продукта.
- В рамках ответа постарайтесь уделить внимание принципам и методам выделения целевого продукта (в том числе указать используемое оборудование).

Блок 2. Задание 2 – «Зеленая» биотехнология**TP53**

Известно, что в клетках многих злокачественных опухолей встречаются мутации в гене белка p53. Данный белок в норме участвует в регуляции клеточного цикла и его ген TP53, локализованный в 17 хромосоме человека, фактически функционирует как антионкоген. Мутации в TP53, которые могут затрагивать различные участки гена, часто приводят к инактивации белка и потере контроля репликации и клеточного цикла – патологическим изменениям, во многом определяющим злокачественную трансформацию клеток. Известно, что после резекции опухоли любого типа главной проблемой остается борьба с оставшимися опухолевыми клетками, как диффузно локализованными в районе первичного очага опухолевого роста, так и сформировавшиеся вторичные очаги – метастазы.

Задание:

С использованием знаний о современных технологиях генетической инженерии и редактирования генома предложите 2 технологии создания 2 типов персонализированных генотерапевтических средств, воздействующих на мутантный ген TP53 у больного со злокачественной опухолью мозга – глиомой, против которой фактически отсутствуют эффективные химиотерапевтические препараты.

При ответе обратите внимание на следующие аспекты предлагаемой технологии:

- Какие мутации в данном гене встречаются, какие именно могут нуждаться в исправлении, к каким последствиям в функциональной активности белка они могут привести, что в принципе можно сделать с мутантным геном.
- Какие в принципе альтернативные подходы генотерапии могут быть применимы для указанных целей.
- Рассмотрите не только особенности конструкции генотерапевтических средств и механизмы их действия, но и этапы их создания, конкретные геноинженерные приемы их получения.
- Проектируя создание средств генотерапии, учитывайте особенности типа опухоли, ее локализацию и возможности доставки средства.

Блок 2. Задание 3 – «Белая» биотехнология

β-ЛАКТАМНЫЕ АНТИБИОТИКИ

β-лактамы, к которым относятся подгруппы пенициллинов, цефалоспоринов, карбапенемов и монобактамов, являются самым большим семейством противомикробных препаратов и наиболее широко используемым в современной клинической практике. К примеру, только пенициллины и цефалоспорины составляют более 60% от общего объема продаж антибиотиков при предполагаемом годовом объеме продаж в 960 миллиардов рублей и объеме производства 37 000 тонн в год. В связи с этим оптимизация производства β-лактамов является актуальной задачей. На данный момент при производстве пенициллинов широко используется фермент изопенициллин N-синтаза, катализирующий реакцию синтеза изопенициллина N.

Задание:

Предложите и обоснуйте более выгодный с экономической и технологической стороны биотехнологический способ получения β-лактамов на примере пенициллинов или цефалоспоринов при использовании других ферментов. В рамках ответа постарайтесь уделить внимание механизмам взаимодействия полученного Вашим способом антибиотиков с микроорганизмами с множественной лекарственной устойчивостью.

Блок 2. Задание 4 – «Серая» биотехнология

РАЗЛОЖЕНИЕ ДИКЛОФЕНАКА

Нестероидный противовоспалительный препарат Диклофенак, 2-[(2,6-дихлорфенил)амино]бензолуксусная кислота, входит в «Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств». Мировое производство диклофенака составляет 940 тонн в год. Данный препарат характеризуется высокой прочностью и токсичностью в окружающей среде, поэтому биотрансформация данного препарата является актуальной задачей.

На данный момент достигнуты успехи в разложении диклофенака в количестве до 10 мкг/л грибами, к примеру, при использовании трутовика разноцветного *Trametes versicolor* удастся разложить до 94% исходного вещества. Однако данный препарат может быть обнаружен в почве, поверхностных и сточных водах очистных сооружений с концентрацией до 45 мкг/л. В данном случае удастся разложить не более 47% препарата в течение 24 часов.

Задание:

Предложите и обоснуйте более эффективный с технологической и экономической стороны способ разложения диклофенака в почве и воде. В рамках ответа постарайтесь уделить внимание следующим аспектам: механизм путей разложения диклофенака при использовании предложенного вами способа; возможные формулы молекул-метаболитов диклофенака, образующихся при деградации микроорганизмами; необходимые условия для осуществления данных реакций.

Блок 2. Задание 5 – "Контроль биотехнологического производства"

АФЛАТОКСИН В1

Афлатоксин В1 (Рис. 1) является одним из наиболее встречающихся афлатоксинов, токсичных канцерогенных метаболитов, которые вырабатываются преимущественно грибами рода *Aspergillus*. Эти грибковые виды являются токсичными загрязнителями пищевых продуктов и кормов. Таким образом, определение Афлатоксина В1 в продуктах питания и кормах и их детоксикация очень важны. К примеру, при использовании экстрактов листьев *Corymbia citriodora* in vivo и in vitro удалось добиться улучшения обеззараживания Афлатоксина В1 на 92% по сравнению с его предшественниками.

Однако из-за их низкой концентрации в пищевых продуктах и кормах аналитические методы обнаружения и количественного определения афлатоксинов должны быть специфическими, чувствительными и простыми в применении. Предельно допустимое содержание Афлатоксина В1 не должно превышать 2мкг/кг.

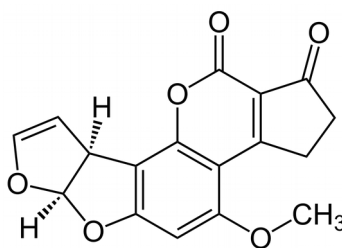


Рис. 1 Структурная формула Афлатоксина В1 (C₁₇H₁₂O₆). Молекулярная масса 312,2798 г/моль

Задание:

- Определите структурные формулы всех возможных веществ, образующихся при разложении Афлатоксина В1 при обеззараживании экстрактом *Corymbia citriodora*. Для помощи вы можете воспользоваться данными Рис. 2., учитывая, что потеря монооксида углерода (CO) является основным путем фрагментации исходного вещества.
- Предложите методы помимо масс-спектрометрии для обнаружения и количественного определения Афлатоксина В1 в пищевых продуктах. Оцените их преимущества, недостатки и пути преодоления данных недостатков.

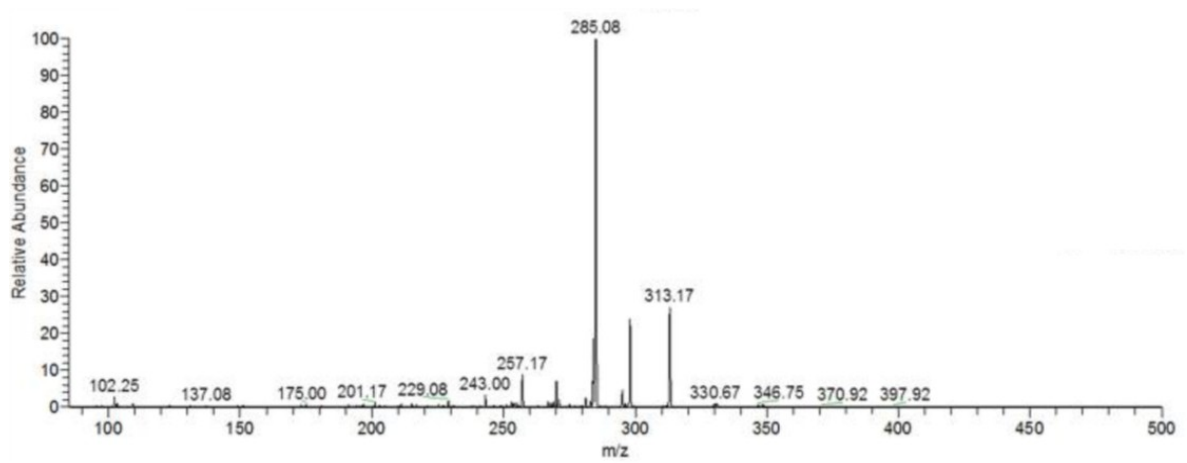


Рис. 2 Масс спектры Афлотоксина В1 и его с ионизационным распылением в электрическом поле

Вариант СМ2012

Блок 1. Задание №1 – «Красная биотехнология»

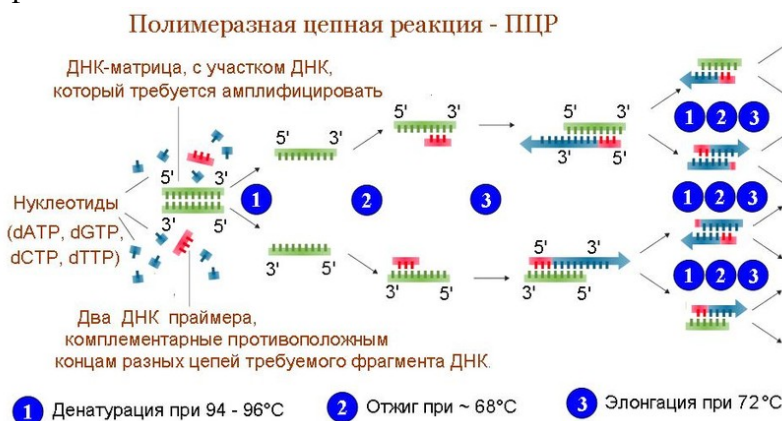
В результате секвенирования генома человека был обнаружен ряд интересных фактов, например, «С-парадокс» и «эгоистичность» ДНК.

Задание:

1. Поясните, какие элементы можно выделить в геноме человека?
2. Объясните, что скрывается под «эгоистичностью» ДНК?
3. Что такое «С-парадокс» и чем его можно объяснить?
4. За счет чего произошло усложнение генома человека?

Блок 1. Задание №2 – «Зелёная биотехнология»

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) - мощный метод амплификации фрагментов дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Реакция происходит циклически, и теоретически ДНК-полимераза, при наличии достаточного количества праймеров и нуклеотидов (в виде дезоксинуклеотидтрифосфатов (дНТФ)), может удваивать количество специфических продуктов амплификации в каждом цикле.



Реакционная смесь объемом 40 мкл предназначена для получения продукта длиной в 300 пар нуклеотидов (п.н.) и содержит дНТФ. Праймеры, используемые для амплификации являются 18-мером и 22-мером. Предположим, что ни праймеры, ни любой другой реагент не ограничивают скорость реакции? И реакция идет с эффективностью 100 %. Молекулярная масса одного нуклеотида 330 г/моль.

Задание:

1. Сформулируйте центральную догму молекулярной биологии.
2. Какова концентрация ДНК-матрицы в этой реакции при концентрации 900 мкмоль/л дНТФ (ответ дайте в мкг, значение округлите до десятых)?
3. Сколько копий фрагмента в 350 п.н. теоретически может быть произведено (ответ округлите до десятых)?

Блок 1. Задание №3 – «Белая биотехнология»

Аспартам (метиловый эфир L- α -аспартил-L-фенилаланина) – это низкокалорийный искусственный подсластитель, который по сладости в 200 раз превосходит сахар, получаемый из сахарной свеклы. В настоящее время для получения аспартама применяют ферментативные методы получения этого продукта.

Задание:

1. Какие исходные аминокислоты используются при производстве аспартама?
2. Предложите экономически наиболее выгодные способы исходных аминокислот для получения аспартама биотехнологическими методами. Какие штаммы-суперпродуценты могут быть использованы для производства данных аминокислот?
3. Предложите технологическую схему получения Аспартама биотехнологическим способом. Какие подходы можно использовать для увеличения выхода целевого продукта? Обоснуйте свой прогноз выхода Аспартама.

Блок 1. Задание №4 – «Серая биотехнология»

Растущее население Земли и развитие новых технологий требуют обеспечения все возрастающих энергетических затрат. Солнечная энергетика является альтернативой традиционным источникам энергии.

В настоящее время наряду с кремниевыми солнечными батареями разрабатываются органические и гибридные солнечные ячейки, в которых используются молекулы красителей-фотосенсибилизаторов, поглощающих кванты солнечного света.

1. Каковы преимущества солнечной энергетике с экологической точки зрения?
2. Что более перспективно, на ваш взгляд, неорганическая или органическая фотовольтаика? Ответ обоснуйте.
3. Предложите конструкцию «биотехнологического» солнечного элемента с использованием химических молекул или клеточных структур.

Блок 1. Задание №5 – Контроль биотехнологического производства

Для успешной реализации технологии получения белковых препаратов, в том числе рекомбинантных белков, важно выбрать подходящий метод определения целевого белка.

Задание:

1. Изложите основные принципы выбора методов определения белков в ходе их биосинтеза, выделения и очистки.
2. Охарактеризуйте основные методы определения белков (2 метода).
3. Как определить массу выделяемых белков методом электрофореза в полиакриламидном геле?

Блок 2. Задание 1 – «Красная» биотехнология

ПОЛУЧЕНИЕ СОМАТОТРОПИНА

Человеческий гормон роста, также известный как соматотропин, представляет собой белковый гормон, продуцируемый и секретируемый соматотропными клетками передней доли гипофиза. Человеческий гормон роста играет ключевую роль в соматическом росте у детей и в метаболизме у взрослых, вследствие его воздействия на метаболизм белков, углеводов и липидов. Человеческий гормон роста представляет собой единичную полипептидную цепь из 191 аминокислоты с молекулярной массой 22125 Да, имеющей две дисульфидные связи, одну между Cys-53 и Cys-165, образуя большую петлю в молекуле, и другую между Cys-182 и Cys-189, образуя малую петлю около С-конца.

Технология рекомбинантных ДНК позволила производить неограниченное количество рекомбинантного гормона роста человека (рГРЧ) в ряде различных систем. Наиболее популярными на данный момент системами для коммерческого производства рГРЧ являются *Escherichia coli* и дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*.

Задание:

- Проведите сравнительный анализ возможных проблем и способов их устранения при использовании *E. Coli* и *S. Cerevisiae* для получения рГРЧ в промышленных масштабах.
- Основываясь на вашем анализе предложите и обоснуйте усовершенствованный способ продуцирования в прокариотах и очистки рГРЧ, приводящий к улучшенной промышленной применимости вашего способа с наиболее оптимальным соотношением выхода и чистоты целевого продукта.
- В рамках ответа постарайтесь уделить внимание принципам и методам выделения целевого продукта (в том числе указать используемое оборудование).

Блок 2. Задание 2 – «Зеленая» биотехнология

TP53

Известно, что в клетках многих злокачественных опухолей встречаются мутации в гене белка p53. Данный белок в норме участвует в регуляции клеточного цикла и его ген TP53, локализованный в 17 хромосоме человека, фактически функционирует как антионкоген. Мутации в TP53, которые могут затрагивать различные участки гена, часто приводят к инактивации белка и потере контроля репликации и клеточного цикла – патологическим изменениям, во многом определяющим злокачественную трансформацию клеток. Известно, что после резекции опухоли любого типа главной проблемой остается борьба с оставшимися опухолевыми клетками, как диффузно локализованными в районе первичного очага опухолевого роста, так и сформировавшиеся вторичные очаги – метастазы.

Задание:

С использованием знаний о современных технологиях генетической инженерии и редактирования генома предложите 2 технологии создания 2 типов персонализированных генотерапевтических средств, воздействующих на мутантный ген TP53 у больного со злокаче-

ственной опухолью мозга – глиомой, против которой фактически отсутствуют эффективные химиотерапевтические препараты.

При ответе обратите внимание на следующие аспекты предлагаемой технологии:

- Какие мутации в данном гене встречаются, какие именно могут нуждаться в исправлении, к каким последствиям в функциональной активности белка они могут привести, что в принципе можно сделать с мутантным геном.
- Какие в принципе альтернативные подходы генотерапии могут быть применимы для указанных целей.
- Рассмотрите не только особенности конструкции генотерапевтических средств и механизмы их действия, но и этапы их создания, конкретные геноинженерные приемы их получения.
- Проектируя создание средств генотерапии, учитывайте особенности типа опухоли, ее локализацию и возможности доставки средства.

Блок 2. Задание 3 – «Белая» биотехнология

β-ЛАКТАМНЫЕ АНТИБИОТИКИ

β-лактамы антибиотики, к которым относятся подгруппы пенициллинов, цефалоспоринов, карбапенемов и монобактамов, являются самым большим семейством противомикробных препаратов и наиболее широко используемым в современной клинической практике. К примеру, только пенициллины и цефалоспорины составляют более 60% от общего объема продаж антибиотиков при предполагаемом годовом объеме продаж в 960 миллиардов рублей и объеме производства 37 000 тонн в год. В связи с этим оптимизация производства β-лактамов является актуальной задачей. На данный момент при производстве пенициллинов широко используется фермент изопенициллин N-синтаза, катализирующий реакцию синтеза изопенициллина N.

Задание:

Предложите и обоснуйте более выгодный с экономической и технологической стороны биотехнологический способ получения β-лактамов антибиотиков на примере пенициллинов или цефалоспоринов при использовании других ферментов. В рамках ответа постарайтесь уделить внимание механизмам взаимодействия полученного вашим способом антибиотиков с микроорганизмами с множественной лекарственной устойчивостью

Блок 2. Задание 4 – «Серая» биотехнология

РАЗЛОЖЕНИЕ ДИКЛОФЕНАКА

Нестероидный противовоспалительный препарат Диклофенак, 2-[(2,6-дихлорфенил)амино]бензолуксусная кислота, входит в Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств. Мировое производство диклофенака составляет 940 тонн в год. Данный препарат характеризуется высокой прочностью и токсичностью в

окружающей среде, поэтому биотрансформация данного препарата является актуальной задачей.

На данный момент достигнуты успехи в разложении диклофенака в количестве до 10 мкг/л грибами, к примеру, при использовании трутовика разноцветного *Trametes versicolor* удается разложить до 94% исходного вещества. Однако данный препарат может быть обнаружен в почве, поверхностных и сточных водах очистных сооружений с концентрацией до 45 мкг/л. В данном случае удастся разложить не более 47% препарата в течение 24 часов.

Задание:

Предложите и обоснуйте более эффективный с технологической и экономической стороны способ разложения диклофенака в почве и воде. В рамках ответа постарайтесь уделить внимание следующим аспектам: механизм путей разложения диклофенака при использовании предложенного вами способа; возможные формулы молекул-метаболитов диклофенака, образующихся при деградации микроорганизмами; необходимые условия для осуществления данных реакций.

Блок 2. Задание 5 – "Контроль биотехнологического производства"

АФЛАТОКСИН В1

Афлатоксин В1 (Рис. 1) является одним из наиболее встречающихся афлатоксинов, токсичных канцерогенных метаболитов, которые вырабатываются преимущественно грибами рода *Aspergillus*. Эти грибковые виды являются токсичными загрязнителями пищевых продуктов и кормов. Таким образом, определение Афлатоксина В1 в продуктах питания и кормах и их детоксикация очень важны. К примеру, при использовании экстрактов листьев *Corymbia citriodora* *in vivo* и *in vitro* удалось добиться улучшения обеззараживания Афлатоксина В1 на 92% по сравнению с его предшественниками.

Однако из-за их низкой концентрации в пищевых продуктах и кормах аналитические методы обнаружения и количественного определения афлатоксинов должны быть специфическими, чувствительными и простыми в применении. Предельно допустимое содержание Афлатоксина В1 не должно превышать 2мкг/кг.

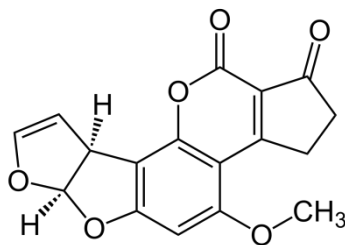


Рис. 1 Структурная формула Афлатоксина В1 (C₁₇H₁₂O₆). Молекулярная масса 312,2798 г/моль

Задание:

- Определите структурные формулы всех возможных веществ, образующихся при разложении Афлотоксина В1 при обеззараживании экстрактом *Corymbia citriodora*. Для помощи вы можете воспользоваться данными Рис. 2., учитывая, что потеря монооксида углерода (CO) является основным путем фрагментации исходного вещества.
- Предложите методы помимо масс-спектрометрии для обнаружения и количественного определения Афлотоксина В1 в пищевых продуктах. Оцените их преимущества, недостатки и пути преодоления данных недостатков.

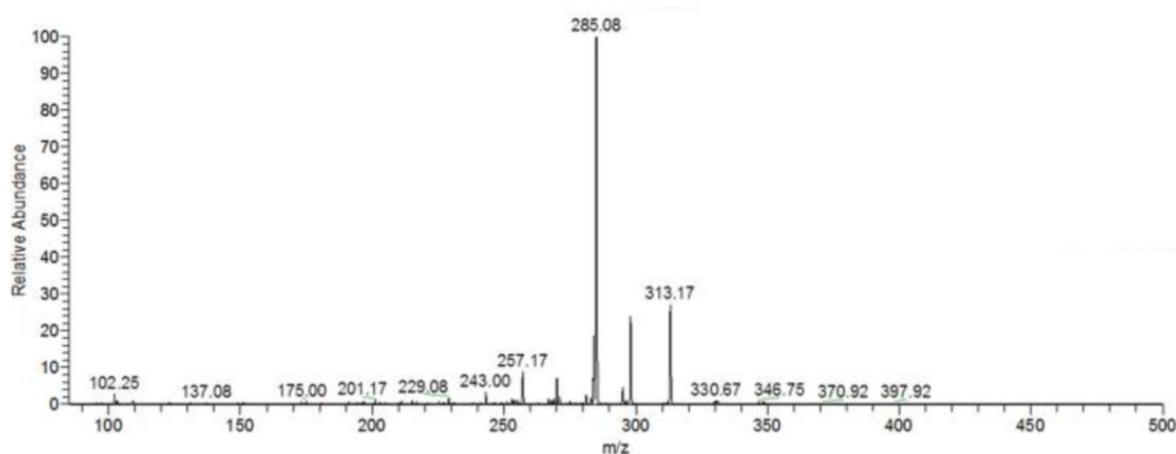


Рис. 2 Масс спектры Афлотоксина В1 и его с ионизационным распылением в электрическом поле

Вариант СМ2013

Блок 1. Задание №1 – «Красная биотехнология»

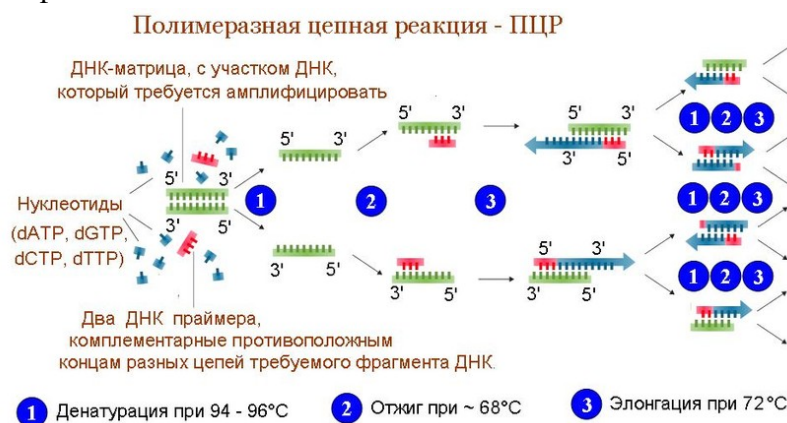
Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) является в настоящее время одним из наиболее широко используемых в генетической инженерии.

Задание:

1. Опишите основные стадии ПЦР.
2. В каких областях медицины можно использовать данный метод?
3. Приведите и опишите принцип не менее 4 разновидностей ПЦР.

Блок 1. Задание №2 – «Зелёная биотехнология»

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) - мощный метод амплификации фрагментов дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Реакция происходит циклически, и теоретически ДНК-полимераза, при наличии достаточного количества праймеров и нуклеотидов (в виде дезоксинуклеотидтрифосфатов (дНТФ)), может удваивать количество специфических продуктов амплификации в каждом цикле.



Реакционная смесь объемом 60 мкл предназначена для получения продукта длиной в 300 пар нуклеотидов (п.н.) и содержит дНТФ. Праймеры, используемые для амплификации являются 18-мером и 22-мером. Предположим, что ни праймеры, ни любой другой реагент не ограничивают скорость реакции? И реакция идет с эффективностью 100 %. Молекулярная масса одного нуклеотида 330 г/моль.

Задание:

1. Сформулируйте центральную догму молекулярной биологии.
2. Какова концентрация ДНК-матрицы в этой реакции при концентрации 700 мкмоль/л дНТФ (ответ дайте в мкг, значение округлите до десятых)?
3. Сколько копий фрагмента в 250 п.н. теоретически может быть произведено (ответ округлите до десятых)?

Блок 1. Задание №3 – «Белая биотехнология»

Аминокислоты начали получать в промышленности около 50 лет назад, после того как были изучены важнейшие этапы клеточного метаболизма. В настоящий момент основное производство аминокислот сосредоточено в следующих областях биотехнологии – пищевая промышленность (65%), кормовые добавки для скота (30%), медицина (5%).

Задание:

1. Приведите название не менее 4 аминокислот, которые производят в промышленности. Приведите их структурные формулы.
2. Какие существуют промышленные методы получения аминокислот. Какой из перечисленных методов на Ваш взгляд наиболее эффективен, обоснуйте свой выбор.
3. Предложите возможный субстрат, продуцент для производства L-глутамата. Как удаляют клетки после ферментации? Каким способом выделяют аминокислоту из культуральной жидкости?

Блок 1. Задание №4 – «Серая биотехнология»

По данным экспертов по изменению климата за последние 100 лет на Земле потеплело на 0.74°C и рост температуры продолжает ускоряться. Парниковый эффект существенно усилился за счет выбросов т.н. парниковых газов в результате хозяйственной деятельности человека

Задание:

1. Объясните суть явления парникового эффекта.
2. Какие вещества могут оказывать парниковый эффект?
2. Как парниковый эффект влияет на экосистему и на жизнь человека?
3. Предположите, какие подходы, в т.ч. биологические, могут помочь снизить количество CO₂ в атмосфере

Блок 1. Задание №5 – Контроль биотехнологического производства

Микробиологическая трансформация стероидных гормонов лежит в основе промышленного получения противовоспалительных и противоопухолевых препаратов, а также других ценных продуктов. Биотрансформация (дегидрирование) гидрокортизона в преднизолон (кортикостероид для системного применения) протекает в присутствии бактерии *Arthrobacter globiformis*.

Задание:

1. Рассмотрите процесс биотрансформации гидрокортизона с точки зрения выбора методов контроля за ходом процесса.
2. Предложите методы и условия определения гидрокортизона и преднизолон и обоснуйте их.
3. Какие варианты хроматографической детекции вы можете предложить?

Блок 2. Задание 1 – «Красная» биотехнология

ПОЛУЧЕНИЕ СОМАТОТРОПИНА

Человеческий гормон роста, также известный как соматотропин, представляет собой белковый гормон, продуцируемый и секретируемый соматотропными клетками передней доли гипофиза. Человеческий гормон роста играет ключевую роль в соматическом росте у детей и в метаболизме у взрослых, вследствие его воздействия на метаболизм белков, углеводов и липидов. Человеческий гормон роста представляет собой единичную полипептидную цепь из 191 аминокислоты с молекулярной массой 22125 Да, имеющей две дисульфидные связи, одну между Cys-53 и Cys-165, образуя большую петлю в молекуле, и другую между Cys-182 и Cys-189, образуя малую петлю около С-конца.

Технология рекомбинантных ДНК позволила производить неограниченное количество рекомбинантного гормона роста человека (рГРЧ) в ряде различных систем. Наиболее популярными на данный момент системами для коммерческого производства рГРЧ являются *Escherichia coli* и дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*.

Задание:

- Проведите сравнительный анализ возможных проблем и способов их устранения при использовании *E. Coli* и *S. Cerevisiae* для получения рГРЧ в промышленных масштабах.
- Основываясь на вашем анализе предложите и обоснуйте усовершенствованный способ продуцирования в прокариотах и очистки рГРЧ, приводящий к улучшенной промышленной применимости вашего способа с наиболее оптимальным соотношением выхода и чистоты целевого продукта.
- В рамках ответа постарайтесь уделить внимание принципам и методам выделения целевого продукта (в том числе указать используемое оборудование).

Блок 2. Задание 2 – «Зеленая» биотехнология

TP53

Известно, что в клетках многих злокачественных опухолей встречаются мутации в гене белка p53. Данный белок в норме участвует в регуляции клеточного цикла и его ген TP53, локализованный в 17 хромосоме человека, фактически функционирует как антионкоген. Мутации в TP53, которые могут затрагивать различные участки гена, часто приводят к инактивации белка и потере контроля репликации и клеточного цикла – патологическим изменениям, во многом определяющим злокачественную трансформацию клеток. Известно, что после резекции опухоли любого типа главной проблемой остается борьба с оставшимися опухолевыми клетками, как диффузно локализованными в районе первичного очага опухолевого роста, так и сформировавшиеся вторичные очаги – метастазы.

Задание:

С использованием знаний о современных технологиях генетической инженерии и редактирования генома предложите 2 технологии создания 2 типов персонализированных генотерапевтических средств, воздействующих на мутантный ген TP53 у больного со злокачественной опухолью мозга – глиомой, против которой фактически отсутствуют эффективные химиотерапевтические препараты.

При ответе обратите внимание на следующие аспекты предлагаемой технологии:

- Какие мутации в данном гене встречаются, какие именно могут нуждаться в исправлении, к каким последствиям в функциональной активности белка они могут привести, что в принципе можно сделать с мутантным геном.
- Какие в принципе альтернативные подходы генотерапии могут быть применимы для указанных целей.
- Рассмотрите не только особенности конструкции генотерапевтических средств и механизмы их действия, но и этапы их создания, конкретные геноинженерные приемы их получения.
- Проектируя создание средств генотерапии, учитывайте особенности типа опухоли, ее локализацию и возможности доставки средства.

Блок 2. Задание 3 – «Белая» биотехнология

β-ЛАКТАМНЫЕ АНТИБИОТИКИ

β-лактамы антибиотики, к которым относятся подгруппы пенициллинов, цефалоспоринов, карбапенемов и монобактамов, являются самым большим семейством противомикробных препаратов и наиболее широко используемым в современной клинической практике. К примеру, только пенициллины и цефалоспорины составляют более 60% от общего объема продаж антибиотиков при предполагаемом годовом объеме продаж в 960 миллиардов рублей и объеме производства 37 000 тонн в год. В связи с этим оптимизация производства β-лактамов является актуальной задачей. На данный момент при производстве пенициллинов широко используется фермент изопенициллин N-синтаза, катализирующий реакцию синтеза изопенициллина N.

Задание:

Предложите и обоснуйте более выгодный с экономической и технологической стороны биотехнологический способ получения β-лактамов антибиотиков на примере пенициллинов или цефалоспоринов при использовании других ферментов. В рамках ответа постарайтесь уделить внимание механизмам взаимодействия полученного вашим способом антибиотиков с микроорганизмами с множественной лекарственной устойчивостью

Блок 2. Задание 4 – «Серая» биотехнология

РАЗЛОЖЕНИЕ ДИКЛОФЕНАКА

Нестероидный противовоспалительный препарат Диклофенак, 2-[(2,6-дихлорфенил)амино]бензолуксусная кислота, входит в Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств. Мировое производство диклофенака составляет 940 тонн в год. Данный препарат характеризуется высокой прочностью и токсичностью в окружающей среде, поэтому биотрансформация данного препарата является актуальной задачей.

На данный момент достигнуты успехи в разложении диклофенака в количестве до 10 мкг/л грибами, к примеру, при использовании трутовика разноцветного *Trametes versicolor* удастся разложить до 94% исходного вещества. Однако данный препарат может быть обнаружен в почве, поверхностных и сточных водах очистных сооружений с концентрацией до 45 мкг/л. В данном случае удастся разложить не более 47% препарата в течение 24 часов.

Задание:

Предложите и обоснуйте более эффективный с технологической и экономической стороны способ разложения диклофенака в почве и воде. В рамках ответа постарайтесь уделить внимание следующим аспектам: механизм путей разложения диклофенака при использовании предложенного вами способа; возможные формулы молекул-метаболитов диклофенака, образующихся при деградации микроорганизмами; необходимые условия для осуществления данных реакций.

Блок 2. Задание 5 – "Контроль биотехнологического производства"

АФЛАТОКСИН В1

Афлатоксин В1 (Рис. 1) является одним из наиболее встречающихся афлатоксинов, токсичных канцерогенных метаболитов, которые вырабатываются преимущественно грибами рода *Aspergillus*. Эти грибковые виды являются токсичными загрязнителями пищевых продуктов и кормов. Таким образом, определение Афлатоксина В1 в продуктах питания и кормах и их детоксикация очень важны. К примеру, при использовании экстрактов листьев *Corymbia citriodora* in vivo и in vitro удалось добиться улучшения обеззараживания Афлатоксина В1 на 92% по сравнению с его предшественниками.

Однако из-за их низкой концентрации в пищевых продуктах и кормах аналитические методы обнаружения и количественного определения афлатоксинов должны быть специфическими, чувствительными и простыми в применении. Предельно допустимое содержание Афлатоксина В1 не должно превышать 2мкг/кг.

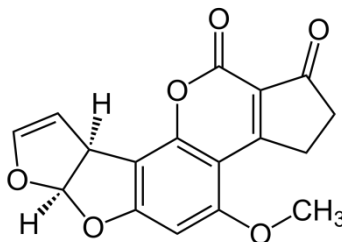


Рис. 1 Структурная формула Афлатоксина В1 (C₁₇H₁₂O₆). Молекулярная масса 312,2798 г/моль

Задание:

- Определите структурные формулы всех возможных веществ, образующихся при разложении Афлотоксина В1 при обеззараживании экстрактом *Corymbia citriodora*. Для помощи вы можете воспользоваться данными Рис. 2., учитывая, что потеря монооксида углерода (CO) является основным путем фрагментации исходного вещества.
- Предложите методы помимо масс-спектрометрии для обнаружения и количественного определения Афлотоксина В1 в пищевых продуктах. Оцените их преимущества, недостатки и пути преодоления данных недостатков.

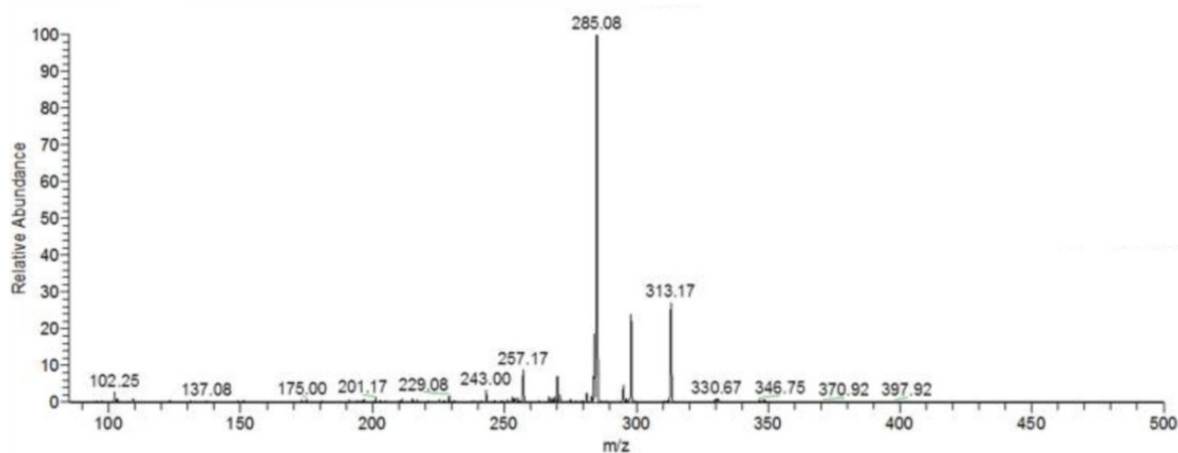


Рис. 2 Масс спектры Афлотоксина В1 и его с ионизационным распылением в электрическом поле

Вариант СМ2014

Блок 1. Задание №1 – «Красная биотехнология»

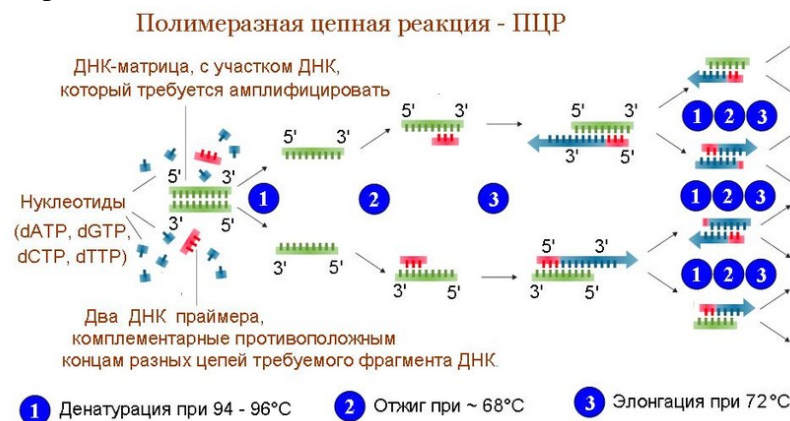
Фармацевтическая промышленность разработала сверхсложные методы скрининга микроорганизмов на способность продуцировать ценные вторичные метаболиты. Среди данных веществ ведущее место по объему производства занимают антибиотики.

Задание:

1. Какими механизмами обусловлено антимикробное действие антибиотиков? Перечислите не менее 4 механизмов.
2. Чем обусловлено возникновение резистентности микроорганизмов к антибиотикам? Раскройте не менее 2 механизма возникновения резистентности.
3. Какие наиболее распространенные классы антибиотиков вы знаете? Приведите примеры 2-3 классов и укажите несколько веществ, которые принадлежат к ним.

Блок 1. Задание №2 – «Зелёная биотехнология»

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) - мощный метод амплификации фрагментов дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Реакция происходит циклически, и теоретически ДНК-полимераза, при наличии достаточного количества праймеров и нуклеотидов (в виде дезоксинуклеотидтрифосфатов (дНТФ)), может удваивать количество специфических продуктов амплификации в каждом цикле.



Реакционная смесь объемом 50 мкл предназначена для получения продукта длиной в 300 пар нуклеотидов (п.н.) и содержит дНТФ. Праймеры, используемые для амплификации являются 18-мером и 22-мером. Предположим, что ни праймеры, ни любой другой реагент не ограничивают скорость реакции? И реакция идет с эффективностью 100 %. Молекулярная масса одного нуклеотида 330 г/моль.

Задание:

1. Сформулируйте центральную догму молекулярной биологии.
2. Какова концентрация ДНК-матрицы в этой реакции при концентрации 700 мкмоль/л дНТФ (ответ дайте в мкг, значение округлите до десятых)?

3. Сколько копий фрагмента в 200 п.н. теоретически может быть произведено (ответ округлите до десятых)?

Блок 1. Задание №3 – «Белая биотехнология»

Аспартам (метиловый эфир L- α -аспартил-L-фенилаланина) – это низкокалорийный искусственный подсластитель, который по сладости в 200 раз превосходит сахар, получаемый из сахарной свеклы. В настоящее время для получения аспартама применяют ферментативные методы получения этого продукта.

Задание:

1. Какие исходные аминокислоты используются при производстве аспартама?
2. Предложите экономически наиболее выгодные способы исходных аминокислот для получения аспартама биотехнологическими методами. Какие штаммы-суперпродуценты могут быть использованы для производства данных аминокислот?
3. Предложите технологическую схему получения Аспартама биотехнологическим способом. Какие подходы можно использовать для увеличения выхода целевого продукта? Обоснуйте свой прогноз выхода Аспартама.

Блок 1. Задание №4 – «Серая биотехнология»

Экологическая проблема истощения и загрязнения почв: стремление увеличить ресурсы питания приводит к быстрому ухудшению экологической ситуации в сфере сельскохозяйственного производства. В связи с увеличением потребностей человечества в ресурсах питания постепенно происходит истощение почвы, ее уплотнение и засорение минеральными веществами, ядохимикатами.

Задание:

1. Объясните причину истощения почвы.
2. С помощью каких подходов можно преодолеть истощение почвенных ресурсов?
3. С помощью каких подходов можно преодолеть загрязнение почвенных ресурсов?
4. Как в данном случае можно использовать достижения сельскохозяйственной биотехнологии?

Блок 1. Задание №5 – Контроль биотехнологического производства

Антибиотики - специфические продукты жизнедеятельности микроорганизмов, обладающие высокой физиологической активностью – важнейшие лекарственные средства. В производстве антибиотиков особая роль принадлежит контролю и регулированию технологических параметров, обеспечивающих условия развития продуцента антибиотика и высокую продуктивность процесса.

Задание:

1. Опишите технологические особенности получения антибиотиков и параметры, требующие контроля.
2. В каких единицах выражают содержание антибиотика в культуральной жидкости? Раскройте физический смысл этой единицы.
3. Рассмотрите методы контроля содержания антибиотика в процессе его производства
 - 3а) на стадии биосинтеза;
 - 3б) на этапах выделения.

Блок 2. Задание 1 –«Красная» биотехнология
ПОЛУЧЕНИЕ СОМАТОТРОПИНА

Человеческий гормон роста, также известный как соматотропин, представляет собой белковый гормон, продуцируемый и секретируемый соматотропными клетками передней доли гипофиза. Человеческий гормон роста играет ключевую роль в соматическом росте у детей и в метаболизме у взрослых, вследствие его воздействия на метаболизм белков, углеводов и липидов. Человеческий гормон роста представляет собой единичную полипептидную цепь из 191 аминокислоты с молекулярной массой 22125 Да, имеющей две дисульфидные связи, одну между Cys-53 и Cys-165, образуя большую петлю в молекуле, и другую между Cys-182 и Cys-189, образуя малую петлю около С-конца.

Технология рекомбинантных ДНК позволила производить неограниченное количество рекомбинантного гормона роста человека (рГРЧ) в ряде различных систем. Наиболее популярными на данный момент системами для коммерческого производства рГРЧ являются *Escherichia coli* и дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*.

Задание:

- Проведите сравнительный анализ возможных проблем и способов их устранения при использовании *E. Coli* и *S. Cerevisiae* для получения рГРЧ в промышленных масштабах.
- Основываясь на вашем анализе предложите и обоснуйте усовершенствованный способ продуцирования в прокариотах и очистки рГРЧ, приводящий к улучшенной промышленной применимости вашего способа с наиболее оптимальным соотношением выхода и чистоты целевого продукта.
- В рамках ответа постарайтесь уделить внимание принципам и методам выделения целевого продукта (в том числе указать используемое оборудование).

Блок 2. Задание 2 – «Зеленая» биотехнология
TP53

Известно, что в клетках многих злокачественных опухолей встречаются мутации в гене белка p53. Данный белок в норме участвует в регуляции клеточного цикла и его ген TP53, локализованный в 17 хромосоме человека, фактически функционирует как антионкоген. Мутации в TP53, которые могут затрагивать различные участки гена, часто приводят к инактивации белка и потере контроля репликации и клеточного цикла – патологиче-

ским изменениям, во многом определяющим злокачественную трансформацию клеток. Известно, что после резекции опухоли любого типа главной проблемой остается борьба с оставшимися опухолевыми клетками, как диффузно локализованными в районе первичного очага опухолевого роста, так и сформировавшиеся вторичные очаги – метастазы.

Задание:

С использованием знаний о современных технологиях генетической инженерии и редактирования генома предложите 2 технологии создания 2 типов персонализированных генотерапевтических средств, воздействующих на мутантный ген TP53 у больного со злокачественной опухолью мозга – глиомой, против которой фактически отсутствуют эффективные химиотерапевтические препараты.

При ответе обратите внимание на следующие аспекты предлагаемой технологии:

- Какие мутации в данном гене встречаются, какие именно могут нуждаться в исправлении, к каким последствиям в функциональной активности белка они могут привести, что в принципе можно сделать с мутантным геном.
- Какие в принципе альтернативные подходы генотерапии могут быть применимы для указанных целей.
- Рассмотрите не только особенности конструкции генотерапевтических средств и механизмы их действия, но и этапы их создания, конкретные геноинженерные приемы их получения.
- Проектируя создание средств генотерапии, учитывайте особенности типа опухоли, ее локализацию и возможности доставки средства.

Блок 2. Задание 3 – «Белая» биотехнология β-ЛАКТАМНЫЕ АНТИБИОТИКИ

β-лактамы антибиотики, к которым относятся подгруппы пенициллинов, цефалоспоринов, карбапенемов и монобактамов, являются самым большим семейством противомикробных препаратов и наиболее широко используемым в современной клинической практике. К примеру, только пенициллины и цефалоспорины составляют более 60% от общего объема продаж антибиотиков при предполагаемом годовом объеме продаж в 960 миллиардов рублей и объеме производства 37 000 тонн в год. В связи с этим оптимизация производства β-лактамов является актуальной задачей. На данный момент при производстве пенициллинов широко используется фермент изопенициллин N-синтаза, катализирующий реакцию синтеза изопенициллина N.

Задание:

Предложите и обоснуйте более выгодный с экономической и технологической стороны биотехнологический способ получения β-лактамов антибиотиков на примере пенициллинов или цефалоспоринов при использовании других ферментов. В рамках ответа постарайтесь уделить внимание механизмам взаимодействия полученного вашим способом антибиотиков с микроорганизмами с множественной лекарственной устойчивостью

Блок 2. Задание 4 – «Серая» биотехнология

РАЗЛОЖЕНИЕ ДИКЛОФЕНАКА

Нестероидный противовоспалительный препарат Диклофенак, 2-[(2,6-дихлорфенил)амино]бензолуксусная кислота, входит в Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств. Мировое производство диклофенака составляет 940 тонн в год. Данный препарат характеризуется высокой прочностью и токсичностью в окружающей среде, поэтому биотрансформация данного препарата является актуальной задачей.

На данный момент достигнуты успехи в разложении диклофенака в количестве до 10 мкг/л грибами, к примеру, при использовании трутовика разноцветного *Trametes versicolor* удастся разложить до 94% исходного вещества. Однако данный препарат может быть обнаружен в почве, поверхностных и сточных водах очистных сооружений с концентрацией до 45 мкг/л. В данном случае удастся разложить не более 47% препарата в течение 24 часов.

Задание:

Предложите и обоснуйте более эффективный с технологической и экономической стороны способ разложения диклофенака в почве и воде. В рамках ответа постарайтесь уделить внимание следующим аспектам: механизм путей разложения диклофенака при использовании предложенного вами способа; возможные формулы молекул-метаболитов диклофенака, образующихся при деградации микроорганизмами; необходимые условия для осуществления данных реакций.

Блок 2. Задание 5 – "Контроль биотехнологического производства"

АФЛАТОКСИН В1

Афлатоксин В1 (Рис. 1) является одним из наиболее встречающихся афлатоксинов, токсичных канцерогенных метаболитов, которые вырабатываются преимущественно грибами рода *Aspergillus*. Эти грибковые виды являются токсичными загрязнителями пищевых продуктов и кормов. Таким образом, определение Афлатоксина В1 в продуктах питания и кормах и их детоксикация очень важны. К примеру, при использовании экстрактов листьев *Corymbia citriodora* *in vivo* и *in vitro* удалось добиться улучшения обеззараживания Афлатоксина В1 на 92% по сравнению с его предшественниками.

Однако из-за их низкой концентрации в пищевых продуктах и кормах аналитические методы обнаружения и количественного определения афлатоксинов должны быть специфическими, чувствительными и простыми в применении. Предельно допустимое содержание Афлатоксина В1 не должно превышать 2мкг/кг.

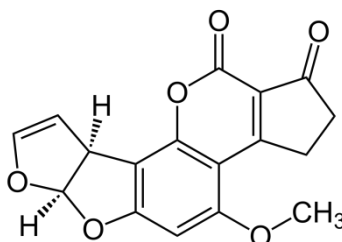


Рис. 1 Структурная формула Афлотоксина В1 (C₁₇H₁₂O₆). Молекулярная масса 312,2798 г/моль

Задание:

- Определите структурные формулы всех возможных веществ, образующихся при разложении Афлотоксина В1 при обеззараживании экстрактом *Corymbia citriodora*. Для помощи вы можете воспользоваться данными Рис. 2., учитывая, что потеря монооксида углерода (CO) является основным путем фрагментации исходного вещества.
- Предложите методы помимо масс-спектрометрии для обнаружения и количественного определения Афлотоксина В1 в пищевых продуктах. Оцените их преимущества, недостатки и пути преодоления данных недостатков.

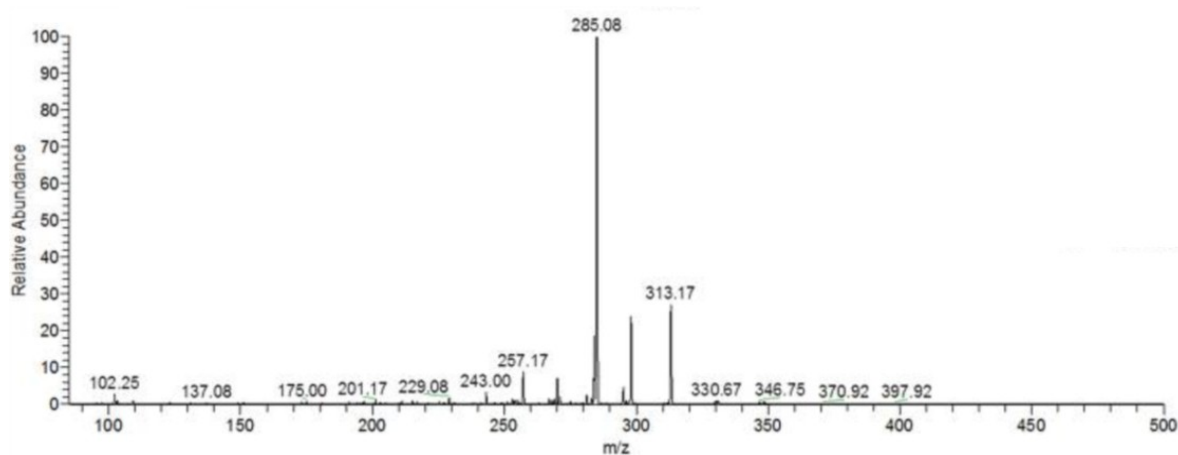


Рис. 2 Масс спектры Афлотоксина В1 и его с ионизационным распылением в электрическом поле

Вариант СМ2015

Блок 1. Задание №1 – «Красная биотехнология»

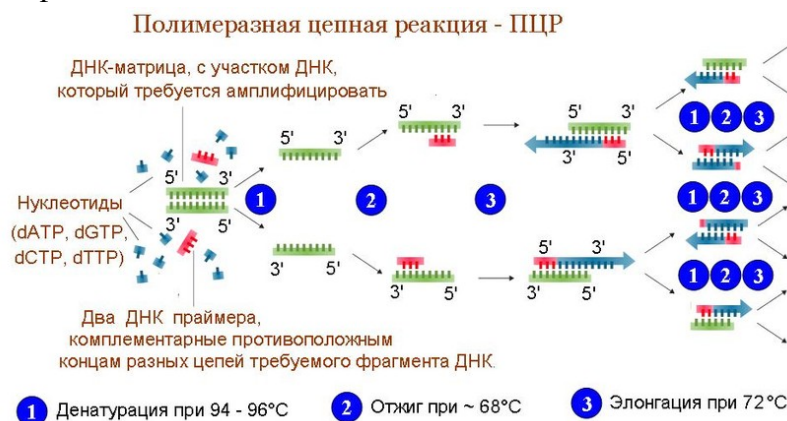
Стероидные гормоны — это особая группа биологически-активных веществ. Они синтезируются эндокринными железами и доставляются к целевой ткани кровотоком. Биосинтез стероидных гормонов — процесс не столь заметный в количественном отношении — имеет вместе с тем большое физиологическое значение.

Задание:

1. Где можно было бы найти рецепторы стероидных гормонов?
2. Что является общим предшественником стероидных гормонов?
3. На какие процессы в организме влияют стероидные гормоны?

Блок 1. Задание №2 – «Зелёная биотехнология»

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) - мощный метод амплификации фрагментов дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Реакция происходит циклически, и теоретически ДНК-полимераза, при наличии достаточного количества праймеров и нуклеотидов (в виде дезоксинуклеотидтрифосфатов (дНТФ)), может удваивать количество специфических продуктов амплификации в каждом цикле.



Реакционная смесь объемом 40 мкл предназначена для получения продукта длиной в 300 пар нуклеотидов (п.н.) и содержит дНТФ. Праймеры, используемые для амплификации являются 18-мером и 22-мером. Предположим, что ни праймеры, ни любой другой реагент не ограничивают скорость реакции? И реакция идет с эффективностью 100 %. Молекулярная масса одного нуклеотида 330 г/моль.

Задание:

1. Сформулируйте центральную догму молекулярной биологии.
2. Какова концентрация ДНК-матрицы в этой реакции при концентрации 800 мкмоль/л дНТФ (ответ дайте в мкг, значение округлите до десятых)?
3. Сколько копий фрагмента в 300 п.н. теоретически может быть произведено (ответ округлите до десятых)?

Блок 1. Задание №3 – «Белая биотехнология»

Аминокислоты начали получать в промышленности около 50 лет назад, после того как были изучены важнейшие этапы клеточного метаболизма. В настоящий момент основное производство аминокислот сосредоточено в следующих областях биотехнологии – пищевая промышленность (65%), кормовые добавки для скота (30%), медицина (5%).

Задание:

1. Приведите название не менее 4 аминокислот, которые производят в промышленности. Приведите их структурные формулы.
2. Какие существуют промышленные методы получения аминокислот. Какой из перечисленных методов на Ваш взгляд наиболее эффективен, обоснуйте свой выбор.
3. Предложите возможный субстрат, продуцент для производства L-глутамата. Как удаляют клетки после ферментации? Каким способом выделяют аминокислоту из культуральной жидкости?

Блок 1. Задание №4 – «Серая биотехнология»

Среди общего списка ксенобиотиков выделяют несколько групп соединений: различные яды органической и неорганической природы (соли тяжелых металлов, цианиды, фенолы, анилин, пестициды и др.), кислоты и щелочи, ПАВ, нефтепродукты, высокомолекулярные органические соединения (лигнин, крахмал и др.), радиоактивные элементы.

Задание:

1. Раскройте понятие «ксенобиотик».
2. Раскройте суть биологической очистки почвы от ксенобиотиков.
3. Предложите возможные способы биологической очистки почвы от смеси ксенобиотиков, в состав которой входят нефтепродукты, крахмал, сульфиды свинца, кобальта и цинка.

Блок 1. Задание №5 – Контроль биотехнологического производства

Эффективное проведение биотехнологических процессов тесно связано с совершенствованием способов контроля и управления. Первоначально регулирование биотехнологических процессов проводилось эмпирически, так как без знаний сущности происходящего было невозможно эффективно контролировать и управлять биотехнологическим процессом. В последнее время с появлением управляемых культур биотехнологии переходят от простой задачи поддержания определенных параметров среды к управлению процессом в целом.

Задание:

- 1) Какие выделяют этапы экспериментального моделирования в лабораторных и промышленных процессах?
- 2) Что включает обычная схема контроля и управления ферментацией?

- 3) С какими трудностями сталкиваются биотехнологи при моделировании биологических объектов?

Блок 2. Задание 1 – «Красная» биотехнология

ПОЛУЧЕНИЕ СОМАТОТРОПИНА

Человеческий гормон роста, также известный как соматотропин, представляет собой белковый гормон, продуцируемый и секретируемый соматотропными клетками передней доли гипофиза. Человеческий гормон роста играет ключевую роль в соматическом росте у детей и в метаболизме у взрослых, вследствие его воздействия на метаболизм белков, углеводов и липидов. Человеческий гормон роста представляет собой единичную полипептидную цепь из 191 аминокислоты с молекулярной массой 22125 Да, имеющей две дисульфидные связи, одну между Cys-53 и Cys-165, образуя большую петлю в молекуле, и другую между Cys-182 и Cys-189, образуя малую петлю около С-конца.

Технология рекомбинантных ДНК позволила производить неограниченное количество рекомбинантного гормона роста человека (pГРЧ) в ряде различных систем. Наиболее популярными на данный момент системами для коммерческого производства pГРЧ являются *Escherichia coli* и дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*.

Задание:

- Проведите сравнительный анализ возможных проблем и способов их устранения при использовании *E. Coli* и *S. Cerevisiae* для получения pГРЧ в промышленных масштабах.
- Основываясь на вашем анализе предложите и обоснуйте усовершенствованный способ продуцирования в прокариотах и очистки pГРЧ, приводящий к улучшенной промышленной применимости вашего способа с наиболее оптимальным соотношением выхода и чистоты целевого продукта.
- В рамках ответа постарайтесь уделить внимание принципам и методам выделения целевого продукта (в том числе указать используемое оборудование).

Блок 2. Задание 2 – «Зеленая» биотехнология

TP53

Известно, что в клетках многих злокачественных опухолей встречаются мутации в гене белка p53. Данный белок в норме участвует в регуляции клеточного цикла и его ген TP53, локализованный в 17 хромосоме человека, фактически функционирует как антионкоген. Мутации в TP53, которые могут затрагивать различные участки гена, часто приводят к инактивации белка и потере контроля репликации и клеточного цикла – патологическим изменениям, во многом определяющим злокачественную трансформацию клеток. Известно, что после резекции опухоли любого типа главной проблемой остается борьба с оставшимися опухолевыми клетками, как диффузно локализованными в районе первичного очага опухолевого роста, так и сформировавшиеся вторичные очаги – метастазы.

Задание:

С использованием знаний о современных технологиях генетической инженерии и редактирования генома предложите 2 технологии создания 2 типов персонализированных генотерапевтических средств, воздействующих на мутантный ген TP53 у больного со злокачественной опухолью мозга – глиомой, против которой фактически отсутствуют эффективные химиотерапевтические препараты.

При ответе обратите внимание на следующие аспекты предлагаемой технологии:

- Какие мутации в данном гене встречаются, какие именно могут нуждаться в исправлении, к каким последствиям в функциональной активности белка они могут привести, что в принципе можно сделать с мутантным геном.
- Какие в принципе альтернативные подходы генотерапии могут быть применимы для указанных целей.
- Рассмотрите не только особенности конструкции генотерапевтических средств и механизмы их действия, но и этапы их создания, конкретные геноинженерные приемы их получения.
- Проектируя создание средств генотерапии, учитывайте особенности типа опухоли, ее локализацию и возможности доставки средства.

Блок 2. Задание 3 – «Белая» биотехнология**β-ЛАКТАМНЫЕ АНТИБИОТИКИ**

β-лактамы, к которым относятся подгруппы пенициллинов, цефалоспоринов, карбапенемов и монобактамов, являются самым большим семейством противомикробных препаратов и наиболее широко используемым в современной клинической практике. К примеру только пенициллины и цефалоспорины составляют более 60% от общего объема продаж антибиотиков при предполагаемом годовом объеме продаж в 960 миллиардов рублей и объеме производства 37 000 тонн в год. В связи с этим оптимизация производства β-лактамов является актуальной задачей. На данный момент при производстве пенициллинов широко используется фермент изопенициллин N-синтаза, катализирующий реакцию синтеза изопенициллина N.

Задание:

Предложите и обоснуйте более выгодный с экономической и технологической стороны биотехнологический способ получения β-лактамов антибиотиков на примере пенициллинов или цефалоспоринов при использовании других ферментов. В рамках ответа постарайтесь уделить внимание механизмам взаимодействия полученного вашим способом антибиотиков с микроорганизмами с множественной лекарственной устойчивостью.

Блок 2. Задание 4 – «Серая» биотехнология**РАЗЛОЖЕНИЕ ДИКЛОФЕНАКА**

Нестероидный противовоспалительный препарат Диклофенак, 2-[(2,6-дихлорфенил)амино]бензолуксусная кислота, входит в Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств. Мировое производство диклофенака составляет 940 тонн в год. Данный препарат характеризуется высокой прочностью и токсичностью в окружающей среде, поэтому биотрансформация данного препарата является актуальной задачей.

На данный момент достигнуты успехи в разложении диклофенака в количестве до 10 мкг/л грибами, к примеру, при использовании трутовика разноцветного *Trametes versicolor* удастся разложить до 94% исходного вещества. Однако данный препарат может быть обнаружен в почве, поверхностных и сточных водах очистных сооружений с концентрацией до 45 мкг/л. В данном случае удастся разложить не более 47% препарата в течение 24 часов.

Задание:

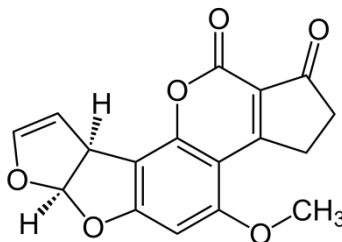
Предложите и обоснуйте более эффективный с технологической и экономической стороны способ разложения диклофенака в почве и воде. В рамках ответа постарайтесь уделить внимание следующим аспектам: механизм путей разложения диклофенака при использовании предложенного вами способа; возможные формулы молекул-метаболитов диклофенака, образующихся при деградации микроорганизмами; необходимые условия для осуществления данных реакций.

Блок 2. Задание 5 – "Контроль биотехнологического производства"

АФЛАТОКСИН В1

Афлатоксин В1 (Рис. 1) является одним из наиболее встречающихся афлатоксинов, токсичных канцерогенных метаболитов, которые вырабатываются преимущественно грибами рода *Aspergillus*. Эти грибковые виды являются токсичными загрязнителями пищевых продуктов и кормов. Таким образом, определение Афлатоксина В1 в продуктах питания и кормах и их детоксикация очень важны. К примеру, при использовании экстрактов листьев *Corymbia citriodora* *in vivo* и *in vitro* удалось добиться улучшения обеззараживания Афлатоксина В1 на 92% по сравнению с его предшественниками.

Однако из-за их низкой концентрации в пищевых продуктах и кормах аналитические методы обнаружения и количественного определения афлатоксинов должны быть специфическими, чувствительными и простыми в применении. Предельно допустимое содержание Афлатоксина В1 не должно превышать 2мкг/кг.



Задание:

- Определите структурные формулы всех возможных веществ, образующихся при разложении Афлотоксина В1 при обеззараживании экстрактом *Corymbia citriodora*. Для помощи вы можете воспользоваться данными Рис. 2., учитывая, что потеря монооксида углерода (CO) является основным путем фрагментации исходного вещества.
- Предложите методы помимо масс-спектрометрии для обнаружения и количественного определения Афлотоксина В1 в пищевых продуктах. Оцените их преимущества, недостатки и пути преодоления данных недостатков.

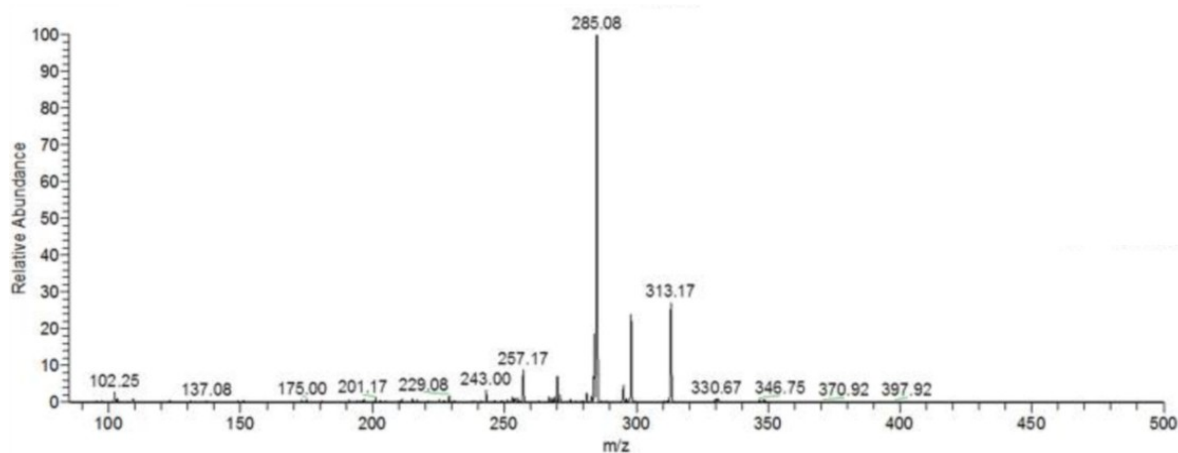


Рис. 2 Масс спектры Афлотоксина В1 и его с ионизационным распылением в электрическом поле