

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧЕРЕЖДЕНИЕ «АЛЕКСЕЕВСКИЙ АГРАРНЫЙ КОЛЛЕДЖ»**

**Комплект
контрольно-оценочных средств
по учебной дисциплине
«ОПЦ.17 Биотехнология»
по специальности 36.02.01 «Ветеринария»**

2021 год

1. Паспорт комплекта контрольно-оценочных средств

1.1. Область применения

Комплект контрольно-оценочных средств предназначен для проверки результатов освоения учебной дисциплины ОПЦ.17 Биотехнология программы подготовки специалистов среднего звена по специальности 36.02.01 «Ветеринария»

Комплект контрольно-оценочных средств позволяет оценить результат освоения учебной дисциплины. Обучающийся должен обладать следующими умениями, знаниями, которые формируют профессиональную компетенцию, и общими компетенциями:

Код ПК, ОК	Умения	Знания
ПК 1.1-1.3 ПК 2.1-2.3 ОК 01, ОК 02, ОК 07	-определять экономическую эффективность биотехнологических процессов -самостоятельно анализировать полученную информацию и применять её для решения тестовых заданий -проводить статистическую обработку и определять достоверность полученных данных - взять биологический материал от больных животных или от трупов;	- знать основные учения в области гуманитарных и социальных наук -экономических наук, научно анализировать социально значимые проблемы и процессы -знать методы и приемы, позволяющие получать биологически активные соединения и биопрепараты и успешно применять их в ветеринарной практике. -методы и средства диагностики, лечения и профилактики вирусных болезней животных, в том числе с основами биотехнологии при культивировании вирусов, получении диагностических тест-систем и средств специфической профилактики;

Личностные результаты воспитания при освоения учебной дисциплины ОПЦ.17 Биотехнология отражают:

Личностные результаты реализации программы воспитания	Код личностных результатов реализации программы воспитания
Содействовать сохранению окружающей среды, ресурсосбережению, эффективно действовать в чрезвычайных ситуациях.	ЛР 36

**II. Результаты освоения учебной дисциплины, подлежащие проверке
Формы контроля и оценивания элементов учебной дисциплины**

Основной целью оценки теоретического курса учебной дисциплины является оценка умений и знаний, оценка освоенных компетенций.

Элементы учебной дисциплины	Форма контроля и оценивания			
	Текущий контроль		Промежуточная аттестация	
	Форма контроля	Проверяемые ОК, ПК, У, З	Форма контроля	Проверяемые ОК, ПК, У, З
Раздел 1.Биотехнология: принципы, применение 2.Основы генетической инженерии	Контрольная работа №1 Практическая работа Тестирование	<i>У1-, У4</i> <i>3 1- 38</i> <i>ОК 01, ОК 2,</i> <i>ОК 7</i> ЛР36	Дифференцированный зачет	<i>У1, У4,</i> <i>3 1- 38,</i> <i>ОК)1, ОК 2, ОК 7</i> ЛР36
Раздел 3.Клеточная инженерия 4. Биоиндустрия ферментов	Контрольная работа №2 Практическая работа Тестирование	<i>У1-, У4</i> <i>3 1- 38</i> <i>ОК 01, ОК 2,</i> <i>ОК 7</i> ЛР36	Дифференцированный зачет	<i>У1, У4,</i> <i>3 1- 38,</i> <i>ОК 01, ОК 2, ОК 7</i> ЛР36

**II Текущий контроль и оценка результатов обучения ОПЦ.17
«Биотехнология»**

Тема: Биотехнология: принципы, применение

Контрольные вопросы

- 1 Дайте определение термину «Биотехнология».
- 2 Назвать возможности использования биотехнологии.
- 3 Кем и когда история развития биотехнологии была поделена на пять периодов?
- 4 Охарактеризуйте допастеровскую эру развития биотехнологии.
- 5 Какие приемы использовались в этот период?
- 6 Охарактеризуйте послепастеровскую эру. Производство каких веществ было налажено с помощью биотехнологических методов и приемов?
- 7 Охарактеризуйте эру антибиотиков. Какими еще достижениями биотехнологии отмечен этот период?
- 8 Охарактеризуйте эру управляемого биосинтеза.
- 9 Охарактеризуйте эру новой биотехнологии.

10 Дайте определение понятию «биосистемы». Назовите обобщенные характеристики биологической (живой) системы.

11 На какие иерархические уровни можно подразделить все биосистемы?

12 Назовите объекты и методы биотехнологии.

13 Поясните, что означает термин «первичные метаболиты» и «вторичные метаболиты» (идиолиты). Какие вещества к ним относят?

14 Расскажите о достижении современной биотехнологии в животноводстве и растениеводстве. 15 Расскажите о достижении биотехнологии в ветеринарии и медицине

ТЕМА: ОСНОВЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Контрольные вопросы

1. Дайте определение термину «генетическая инженерия», «рекомбинантная ДНК».
2. Когда и кем была получена первая рекомбинантная ДНК? Из каких фрагментов она была составлена?
3. Перечислите основные этапы становления и развития генетической инженерии.
4. Перечислите наиболее важные методы биотехнологии рекомбинантных ДНК.
5. На какие группы можно условно разделить ферменты, расщепляющие ДНК в специфических участках?
6. Расскажите о химическом методе секвенирования ДНК. Приведите схему.
7. На чем основан энзиматический метод секвенирования ДНК?
8. С какой целью используют ДНК-зонды? 9. Расскажите об общей и сайт специфической генетической рекомбинации. Приведите схему процесса общей рекомбинации с участием белка *recBCD* у *E. coli*.
10. Что такое лигирование, какими основными методами осуществляется?
11. Расскажите о сшивании генов (фрагментов) ДНК по «липким» концам.
12. Какие молекулы ДНК называют векторными?
13. Какими особенностями должны обладать векторы?
14. Дайте определение термину «плазида». Какие плазмиды называют конъюгативными, а какие неконъюгативными?
15. Кем и когда был получен первый плазмидный вектор?
16. Какие векторные плазмиды и векторные вирусы называют гибридными (или химерными) плазмидами (или фагами)?
17. Дайте определение термину «трансфекция».
18. Расскажите об экспрессии чужеродных генов у прокариот.
19. Назовите достижения генетической инженерии в отрасли животноводства. Какие имеются перспективы дальнейшего использования методов и приемов генетической инженерии?
20. Дайте определение понятиям «трансгенное животное», «трансген».
21. Перечислите этапы получения трансгенных животных.

22. Какие приёмы используют для трансформации генов в геном животного?

23. Почему образуются организмы «мозаики»?

ТЕМА: КЛЕТОЧНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

Контрольные вопросы

1. Назовите этапы получения гибридных клеток.

2. Какие недостатки имеет вирус Сендей?

3. Дайте определение термину «протопласты».

4. Назовите возможности метода слияния клеток.

5. Какие этапы включает в себя процедура получения моноклональных антител?

6. Почему в среде ГАТ растут только гибридные клетки миеломы селезенки, а все остальные типы клеток не могут в ней пролиферировать?

7. Почему моноклональные антитела находят все более широкое применение?

8. Назовите подходы, применяемые в настоящее время для получения моноклональных антител.

9. Расскажите об истории метода клонирования.

10. Кем и когда был разработан метод переноса ядер методом микроманипуляции?

11. Расскажите о трансплантации эмбрионов

ТЕМА: БИОИНДУСТРИЯ ФЕРМЕНТОВ

Контрольные вопросы

1 Назовите основные классы ферментов.

2 Охарактеризуйте класс ферментов – оксидоредуктазы, назовите представителей данного класса.

3 Охарактеризуйте класс ферментов – трансферазы, назовите представителей данного класса.

4 Охарактеризуйте классы ферментов – гидролазы и лиазы, назовите представителей данного класса.

5 Охарактеризуйте класс ферментов – изомеразы и лигазы, назовите представителей данного класса.

6 Назовите источники ферментов.

7 Какие группы ферментов используются в промышленности наиболее широко?

8 Охарактеризуйте группу аминолитических ферментов.

9 Охарактеризуйте группу протеолитических ферментов. Области применения протеаз.

10 Охарактеризуйте группу пектолитических ферментов. На какие виды они подразделяются? Область применения.

11 Охарактеризуйте группу целлюлолитических ферментов. Области применения.

12 Какие факторы и как влияют на скорость ферментативных реакций?

13 Расскажите о методе получения измененных белков. Его значении.

14 Дайте определение термину «иммобилизованные ферменты». Когда он был утверждён?

15 Назовите носители для иммобилизованных ферментов.

16 Назовите достоинства метода химической иммобилизации.

17 Расскажите о физической иммобилизации ферментов.

18 Расскажите о применении иммобилизованных ферментов.

ТЕМА: БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРОБЛЕМЫ ЗАЩИТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Контрольные вопросы

1 Назовите показатели загрязнения сточных вод, которые характеризуют общие свойства воды.

2 Расскажите о способе ХПК, применяемом для определения содержания органических веществ.

3 Расскажите о способе БПК, применяемом для определения содержания органических веществ.

4 Расскажите, как работают перколяционные фильтры.

5 Назовите достоинства и недостатки в работе аэротенкавытеснителя, аэротенка-смесителя.

6 Из каких стадий состоит процесс брожения? Какими группами микроорганизмов осуществляется каждая из стадий?

7 Назовите фазы метанового брожения. Какие микроорганизмы принимают участие первой и второй фазах брожения?

8 Как происходит экстракция белка из активного ила?

Лабораторная работа 1

Культивирование микроорганизмов

1. Глубинное культивирование в жидкой питательной среде

Для работы необходимо иметь: спиртовку, стерильные стеклянные пипетки на 5 или 10 мл, штатив со стерильными стеклянными пробирками на 10–15 мл, колбу с 10 мл жидкой полноценной питательной среды – питательного бульона (ПБ), чашку Петри с засеянной культурой бактерий *Escherichia coli* В, бактериологическую петлю, стакан для использованных пипеток, маркер по стеклу. На первой пробирке отмечают название засеваемой культуры – *E. coli* В (опыт), на второй пробирке – К (контроль стерильности работы).

На столе помещают спиртовку, пенал с пипетками кладут возле правой руки. Зажигают спиртовку, открывают пенал со стерильными стеклянными пипетками. Все манипуляции с пробирками проводят вблизи пламени спиртовки. Пипеткой набирают 5 мл ПБ и добавляют 2,5 мл в первую пробирку, а оставшийся объем среды вносят во вторую пробирку. Бактериологическую петлю стерилизуют прокаливанием в пламени спиртовки, остужают о незасеянную область агаризованной среды в чашке Петри или о внутреннюю стерильную поверхность крышки чашки Петри. Стерильным концом бактериологической петли снимают

одну изолированную колонию бактерий и переносят в первую пробирку, тщательно ресуспендируют. В контрольную пробирку засев бактерий не производят. Пробирки ставят в штатив и помещают в термостат (37 °С) для инкубирования в течение 18–24 ч.

Проводят учет результатов, оценивая наличие роста бактериальной культуры по помутнению питательной среды. Если рост бактерий наблюдается только в опытной пробирке, следовательно, эксперимент был выполнен правильно.

1. Поверхностное Культивирование

1.1 Культивирование на поверхности агаризованной питательной среды в чашке петри

Для работы необходимо иметь: спиртовку, пенал со стерильными стеклянными пипетками на 1 или 2 мл, стерильную чашку Петри с агаризованной полноценной питательной средой (ПА), пробирку с культурой *E. coli* В в ПБ, закрывающуюся емкость с этиловым спиртом, шпатель Дригальского, стакан для использованных пипеток, маркер по стеклу.

На дне чашки Петри подписывают название бактериальной культуры –

E. coli В. Бактериальную культуру набирают пипеткой и 0,1 мл наносят на поверхность среды в чашке Петри. Шпатель стерилизуют методом обжигания в пламени спиртовки, остужают о внутреннюю поверхность крышки чашки Петри, после чего используют для засева бактериальной культуры на поверхность ПА. Чашку инкубируют в термостате (37 °С). Через 24 ч выявляют наличие роста бактерий на поверхности агаризованной питательной среды.

Для работы необходимо иметь: спиртовку, чашку Петри с засеянной культурой бактерий *E. coli* В, флакон с расплавленным ПА, бактериологическую петлю, штатив со стерильными стеклянными пробирками, пенал со стерильными стеклянными пипетками на 5 или 10 мл, маркер по стеклу.

На пробирке подписывают название культуры бактерий, с помощью пипетки вносят 5 мл расплавленной и охлажденной до 50 °С питательной среды, после чего пробирку укладывают в наклонном положении на специальную подставку и дают среде застыть. Через 20–30 мин засевают бактериальную культуру простерилизованной и охлажденной бактериологической петлей на всю поверхность скошенной среды, делая частые зигзагообразные движения, начиная со дна пробирки. Пробирку ставят в штатив, который помещают в термостат (37 °С) на 24 ч, после чего анализируют рост бактерий по штриху.

Лабораторная работа 2

Выделение из почвы микроорганизмов, продуцирующих гидролитические ферменты

Промышленное производство ферментных препаратов впервые началось в США в 1894 г. с получения грибной амилазы. Тогда этот фермент использовали в качестве лекарственного препарата при нарушениях пищеварения.

В настоящее время по объему производства ферменты занимают третье место после аминокислот и антибиотиков, причем основная их часть приходится на долю гидролитических ферментов. Среди гидролаз наибольшее применение получили пептидогидролазы (протеазы) и ферменты, расщепляющие гликозидные связи (амилазы, целлюлазы). Ферментные препараты находят широкое применение в различных областях промышленности (текстильной, целлюлозно-бумажной, химической – при производстве моющих средств, пищевой, фармацевтической) и в сельском хозяйстве (как кормовые добавки, ветеринарные препараты).

Для промышленного получения ферментов используются штаммы бактерий *Bacillus*, грибов *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium* и др. Их клетки способны выделять ферменты в культуральную жидкость, что значительно облегчает процедуру очистки ферментных препаратов. Продуктивность этих организмов увеличена путем мутагенеза и селекции, а также путем оптимизации процессов культивирования.

Среди **протеолитических ферментов**, образуемых микроорганизмами, встречаются как эндопептидазы, так и экзопептидазы. Продуцентами протеаз, получаемых при промышленном производстве, являются преимущественно бактерии рода *Bacillus* и реже – стрептомицеты.

Кислые протеазы на основе высокоактивного продуцента *Aspergillus oryzae* применяют в производстве спирта и для получения белковых гидролизатов высокого качества в пищевой промышленности. В сочетании с амилазой эти ферменты также используют в хлебопекарной промышленности. Они улучшают качество и аромат хлеба, ускоряют созревание теста, увеличивают пористость и объем хлеба.

В молочной промышленности использование протеаз ускоряет созревание сыров вдвое и снижает их себестоимость на 10 %. В кулинарии обработка мяса пептидгидролазами *Streptomyces griseus* (протелином и проназой) перед его приготовлением значительно улучшает качество мясных блюд.

В текстильной промышленности процесс расшлихтовки (выравнивания поверхности) тканей ферментными препаратами класса протеаз грибно-го происхождения ускоряется в 7–10 раз; эти же препараты служат для

удаления белка серицина при размотке коконов тутового шелкопряда при производстве натурального шелка.

В кожевенном и меховом производстве применяют препараты протеиназ (протелин и протофрадин), являющихся внеклеточными ферментами стрептомицетов. При этом время, требуемое для осуществления необходимых процессов, сокращается в несколько раз, сортность и качество шерсти и кож повышается.

Щелочные протеазы на основе высокоактивного продуцента *Bacillus licheniformis* вместе с целлюлазами являются компонентами стиральных порошков и моющих средств. Кроме того, протеолитические ферменты применяют при извлечении серебра из фотографических пленок и бумаги. Важнейшей областью применения протеолитических ферментов является медицина. Нейтральные протеазы широко используются в лечении болезней желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, в хирургии для обработки гнойных ран, ожоговых и обмороженных поверхностей. Протеазы способствуют размягчению омертвевшей ткани, облегчая

тем самым дренаж ран и ускоряя их заживление.

На втором месте по объему промышленного использования, после протеаз, находятся **амилолитические ферменты**, которые катализируют гидролиз различных типов гликозидных связей в крахмале, декстранине, гликогене и родственных полисахаридах. К ферментам, расщепляющим гликозидную связь внутри полисахарида (эндоамилазам), относятся α -амилаза, пуллуланаза и циклодекстрин-глюкозилтрансфераза. Среди экзоамилаз выделяют β -амилазу, глюкоамилазу и амилоглюкозидазу.

Из амилолитических ферментов чаще используют α -амилазу (из *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*) и глюкоамилазу (продуцируется представителями рода *Aspergillus*).

α -Амилаза – фермент, осуществляющий эндогидролиз α -1,4-гликозидных связей крахмала, гликогена и родственных им полисахаридов до мальтозы, декстринов и глюкозы. α -Амилазы используются в процессе промышленного получения этанола как частичная замена дорогого солода в пивоварении, для улучшения качества муки в хлебопечении, а также в целлюлозно-бумажной промышленности. Кроме того, эти ферменты применяются в текстильной промышленности при изготовлении тканей и как добавки к моющим средствам.

Глюкоамилаза – экзофермент, атакующий крахмал с нередуцирующего конца полисахаридной цепочки, последовательно отщепляя глюкозные остатки с образованием преимущественно глюкозы. Препараты глюкоамилазы применяются для ферментативной обработки крахмалсодержащего сырья в спиртовой, крахмалопаточной, хлебопекарной и пивоваренной промышленности.

Целлюлолитические ферменты – ферменты класса гидролаз, катализирующие гидролиз 1,4-гликозидных связей в молекуле целлюлозы с

образованием набора олигосахаридов различной степени полимеризации вплоть до мономера – глюкозы.

Среди целлюлолитических ферментов микроорганизмов выделяют экзоглюканазы (целлобиогидролазы, отщепляющие от нередуцирующего конца целлюлозной цепи как остатки целлобиозы, целлотриозы, глюкозы, так и более крупные фрагменты), эндоглюканазы (гидролизующие β -1,4-гликозидные связи между остатками глюкозы в середине цепи), β -глюкозидазы (катализирующие превращение целлобиозы и целлотриозы в глюкозу).

Среди промышленных продуцентов микробных целлюлаз ведущую роль играют различные виды грибов рода *Trichoderma* (*T. reesei*, *T. viride*, *T. longibrachiatum*). Это обусловлено высокой секреторной способностью их клеток, а также разнообразием продуцируемых ферментов с различной субстратной специфичностью, что делает эти продуценты универсальным объектом для получения различного рода биотехнологических продуктов. Препараты целлюлаз на основе грибов *Trichoderma* выпускаются во многих странах ведущими компаниями – производителями промышленных ферментов, в частности Novozymes (Дания), Genencor International (США), Iogen (Канада), PrimAlko (Финляндия), Meiji Seika Kaisha Ltd. и Shin Nihon Chemical Co. (Япония) и др.

В пищевой промышленности целлюлазы используют для осветления соков, в пивоварении. Кроме того, целлюлолитические ферменты активно используются в целлюлозно-бумажной промышленности, в сельском хозяйстве (в процессе приготовления силоса). После полного гидролиза целлюлозу можно использовать как дешевый источник глюкозы.

С конца 1980-х гг. целлюлазы стали активно применяться для обработки текстильных изделий и материалов. Первым таким процессом стала ферментативная обработка джинсовых изделий, приводящая к частичному удалению красителя с поверхности ткани, в результате которой изделия приобретают внешний вид «вареных джинсов». В течение нескольких лет ферменты практически заменили пемзу и химические агенты, применявшиеся для этой цели ранее. Позднее целлюлазы стали широко использоваться для биополировки трикотажа и изделий на основе хлопчатобумажных и смесовых тканей. В результате такой обработки с поверхности материала удаляются ворсинки и неровности, материал становится более гладким, приятным на ощупь, и после серии стирок ткань не скатывается, что повышает потребительские свойства изделий.

В последнее десятилетие целлюлазы также стали активно использоваться в качестве добавок к детергентам и моющим средствам, чтобы, воздействуя при стирке на текстильные материалы, содержащие в своем составе целлюлозные волокна, облегчить удаление грязей за счет гидролиза части поверхностных волокон.

Процедура выделения потенциальных штаммов – продуцентов ферментов состоит из пяти основных этапов: взятия образцов, получения накопительных культур, получения чистых культур, проверки способности выделенных микроорганизмов продуцировать требуемые ферменты, описания свойств выделенных микроорганизмов.

1. взятие образцов

Для выделения бактерий, способных к образованию протеолитических, амилолитических и целлюлолитических ферментов, можно использовать подгнившие овощи и фрукты, почву с растительными остатками. Образец весом 30–40 г вносят в стерильную колбу на 250 мл, куда добавляют 40–50 мл стерильного физиологического раствора. Колбу 10 с интенсивно встряхивают, дают отстояться суспензии 30 мин.

2. получение накопительных культур

Для получения накопительной культуры используются *селективные* (элективные) среды, в которых путем варьирования различных факторов создаются избирательные условия для преимущественного развития продуцента определенных веществ. Это позволяет проводить процедуру обогащения. *Обогащение* – процесс, обеспечивающий подходящие условия для выращивания и воспроизводства определенных микроорганизмов. Для других же микроорганизмов эти условия будут летальны или значительно замедлят их рост. Селективная питательная среда должна содержать в качестве источников углерода определенные соединения, предназначенные для отбора микроорганизмов, способных их утилизировать, либо ингибиторы, блокирующие специфические биохимические пути. Среда должна характеризоваться оптимальными для выделяемых микроорганизмов значениями pH,

температуры и осмотического давления. Полученные в таких условиях культуры называют *накопительными*.

При первичном скрининге производят отбор из крупной популяции организмов, имеющих специфическую активность. Это преимущественно качественный отбор. Большинство методов скрининга можно разделить на: прямые (которые предполагают специфическую идентификацию требуемого продукта, например, при использовании хроматографических методов); непрямые, такие как детекция фермента с помощью колориметрических или флуориметрических реакций, проходящих при наличии ферментативной активности.

Для роста выделяемых микроорганизмов используют агаризованные среды, содержащие субстрат для определенного фермента. Наличие у бактерий ферментативной активности можно определить при появлении вокруг колоний продуцента зон просветления, которые являются результатом гидролиза субстрата (например, гидролиза белков молока), либо зон, выявляемых после постановки колориметрической реакции (например, реакции на крахмал с реактивом Люголя). Такой скрининг проводится быстро, является недорогим и при этом сразу можно исследовать большое количество колоний.

Для выделения бактерий, способных к образованию *амилаз*, высевают на минимальную агаризованную среду, содержащую солевой концентрат 5А как источник макро- и микроэлементов; в качестве единственного источника углерода добавлен крахмал в конечной концентрации 0,05 %.

Чтобы выделить бактерии, способные образовывать *протеолитические* ферменты, высевают на минимальную среду, в которой в качестве единственного источника углерода добавлено обезжиренное молоко в конечной концентрации 0,7 %.

Для выделения бактерий, способных к образованию *целлюлаз*, высевают на минимальную среду, в которой в качестве единственного источника углерода добавлена карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) в конечной концентрации 0,05 %.

Для приготовления 400 мл минимальной среды используют солевой концентрат 5А – 80 мл, расплавленный 2 % водный агар – 300 мл. Добавляют стерильную дистиллированную воду до 400 мл.

Солевой концентрат 5А

K_2HPO_4	52,5 г
KH_2PO_4	22,5 г
$(NH_4)_2 SO_4$	5,0 г
Цитрат натрия · 2H ₂ O	2,5 г
Вода дистиллированная	до 1000 мл

После автоклавирования добавляют 5 мл стерильного 1 М раствора $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ на 1 литр концентрата.

Высев бактерий из образцов производят с помощью шпателя по методу Коха, последовательно используя три чашки Петри. На поверхность среды в первой чашке стерильной пипеткой наносят 0,1 мл образца, распределяют суспензию с помощью шпателя Дригальского. Далее, не стерилизуя шпатель, продолжают распределять образец сначала по поверхности среды во второй, а затем в третьей чашке. После соответствующего времени инкубирования (1–3 дня) при 28 °С чашки просматривают и отбирают для дальнейшей работы 4–5 морфологически различающихся типов колоний. Обычно на первой чашке наблюдается сплошной рост микроорганизмов, а на второй и третьей – рост изолированных колоний.

3. получение чистых культур

Отобранные колонии засевают методом истощающего штриха (рис. 1) на среды такого же состава, как и для получения соответствующих накопительных культур.

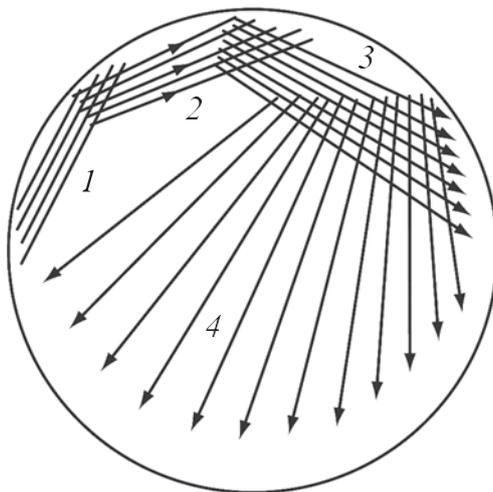


Рис. 1. Техника посева, порядок нанесения (1–4) бактериальной культуры на поверхность агаризованной питательной среды в чашке Петри методом истощающего штриха

4. Проверка способности выделенных микроорганизмов продуцировать гидролитические ферменты

Проверка способности выделенных микроорганизмов продуцировать требуемые ферменты – важный этап в селекции промышленных микроорганизмов. В отличие от первичного скрининга он представляет собой как качественный, так и количественный отбор. Его целью является подтверждение способности организмов, выделенных при первичном скрининге, продуцировать определенные ферменты и оценка их продуктивного потенциала. На этом этапе избавляются от всех организмов, которые обладают ложноположительной и низкой активностью.

Для проверки способности продуцировать требуемые гидролазы у выделенных ранее микроорганизмов высевают на чашки такого же состава, как и в случае получения чистых культур. Чашки инкубируют в течение суток при 28 °С. О наличии *протеолитической активности* судят по появлению прозрачных зон гидролиза белков молока вокруг колоний. При исследовании *амилолитической активности* чашку с выросшими клонами заливают раствором, содержащим 0,5 % I₂ и 5 % KI, и о наличии активности судят по образованию зон просветления вокруг колоний. При проверке на *целлюлолитическую активность* чашку с выросшими клонами заливают 1 % водным раствором красителя Конго красного на 20 мин (происходит связывание красителя с целлюлозой), затем краситель сливают, чашки промывают 8 % водным раствором NaCl (для вымывания красителя из агара). О наличии целлюлолитической активности судят по образованию зон просветления вокруг колоний.

5. описание морфологических свойств выделенных микроорганизмов

При описании роста культуры на поверхности агаризованной питательной среды учитывают:

- *размер* (диаметр) колоний в мм (если размеры колонии не превышают 1 мм, то их называют точечными);
- *форму колонии* – круглая, амёбовидная, неправильная, ризоидная, сложная (рис. 2);

• *поверхность колонии* – гладкая, шероховатая, складчатая, морщинистая, с концентрическими кругами, радиально исчерченная и т. д. (рис. 3);

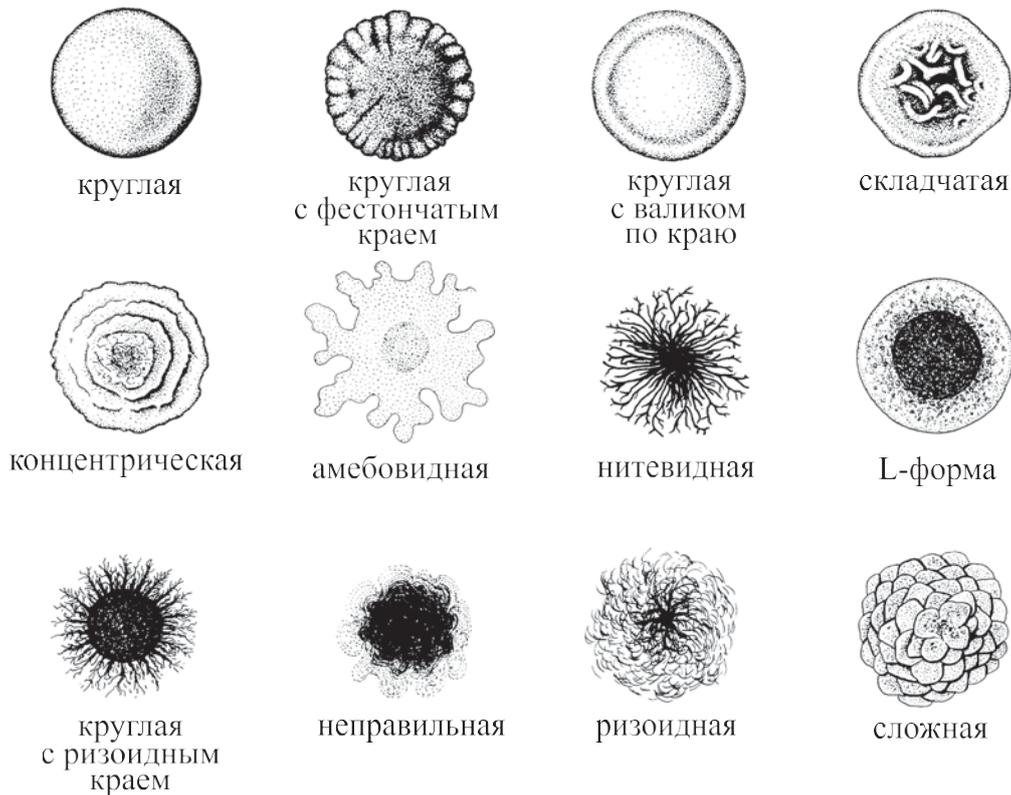


Рис. 2. Форма колонии



Рис. 3. Край колонии

Рис. 4. Профиль колонии

- *профиль колонии* – плоский, выпуклый, кратерообразный, конусовидный (рис. 4);
- *блеск и прозрачность колонии* – блестящая, матовая, тусклая, мучнистая, прозрачная;
- *цвет колонии* – бесцветная или пигментированная;
- *край колонии* – ровный, волнистый, лопастной, неправильный;
- *структуру колонии* – однородная, мелко- или крупнозернистая;
- *консистенцию колонии* (определяют, прикасаясь к поверхности колонии петлей) – вязкая, тянущаяся, сухая, плотная, хрупкая.

Лабораторная работа 3 **Выделение актиномицетов, продуцирующих** **антибиотики**

К антибиотикам относят вещества природного или синтетического происхождения,

способные избирательно подавлять рост или уничтожать другие микроорганизмы. Первым из антибиотиков был открыт пенициллин, в 1929 г. Александр Флеминг наблюдал подавление роста стафилококка плесневым грибом *Penicillium notatum* (по современной таксономии *P. chrysogenum*). В настоящее время антибиотики нашли применение не только для лечения инфекционных болезней человека, но и как противоопухолевые препараты. Их используют в пищевой промышленности при консервировании продуктов, а также в животноводстве.

Сегодня более 70 % всех антибиотических веществ, выпускаемых промышленностью и нашедших широкое применение, синтезируются актиномицетами. Эритромицин, стрептомицин, рифамицин, канамицин, тетрациклин – продукты жизнедеятельности актиномицетов. На их основе получен ряд полусинтетических форм антибиотиков.

Источником для выделения актиномицетов могут служить нейтральные, слабощелочные почвы, торф. Актиномицеты на питательных средах растут медленно, поэтому в среде для их выделения концентрация сахаров должна быть максимальной либо должен использоваться трудно утилизируемый источник углерода, чтобы предотвратить быстрый рост псевдомонад и бацилл.

50 г почвы помещают в стерильную колбу объемом 250 мл и добавляют 50–60 мл физиологического раствора (0,85 % раствор хлорида натрия в дистиллированной воде). Содержимое колбы хорошо перемешивают и 0,1 мл образца засевают шпателем на предварительно подготовленную чашку Петри со средой для выделения актиномицетов. Инкубируют при 28 °С в течение трех суток.

Среда для выделения актиномицетов (по Егорову, 2004) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 г

K_2HPO_4 1 г

MgSO_4 1 г

NaCl 1 г

Крахмал 10 г

Агар 15 г

Вода водопроводная до 1 л

Для исследования антибиотической активности выделенных бактерий используют метод агарового блока, находящегося в центре чашки Петри. Для проведения эксперимента готовят чашку Петри с агаризованной питательной средой. В центре чашки с помощью стерильной стеклянной пробирки вырезают лунку (рис. 5), в которую переносят вырезанный аналогичным образом агаровый блок из чашки с выросшими актиномицетами.

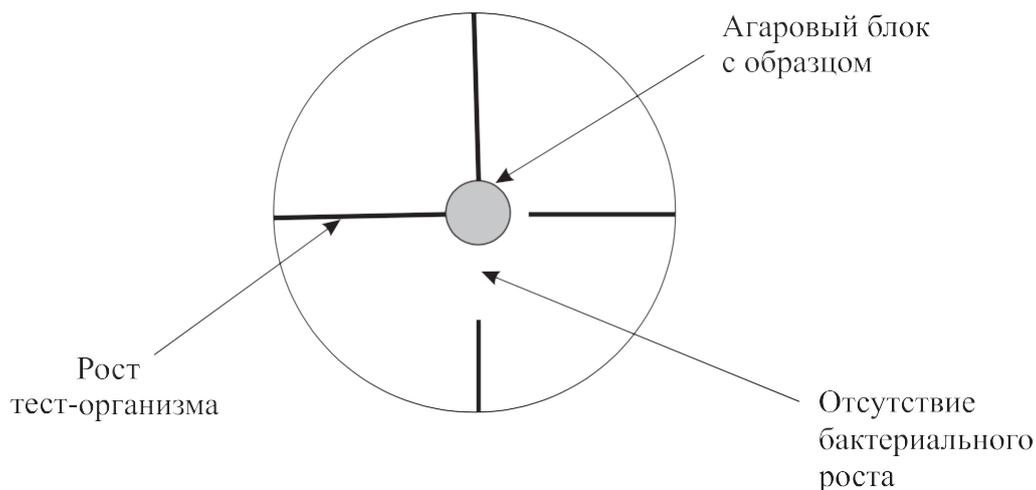


Рис. 5. Определение антибиотических свойств микроорганизмов

Чашку помещают в термостат (28 °С) на 18–20 ч с тем, чтобы накопившийся в агаровом блоке антибиотик лучше продиффундировал в окружающий агар. Затем по радиусам агаровой пластинки высевают штрихами тест-организмы, например *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*,

Serratia marcescens, *Streptomyces griseus*, и чашку вновь на 24 ч помещают в термостат (28 °С). Отсутствие роста тест-организма на том или ином расстоянии от блока будет указывать на продукцию антибиотических веществ организмами, находящимися в центре чашки. Если же наблюдается рост тест-организма в непосредственной близости от агарового блока, следовательно, выделенные ранее актиномицеты не продуцируют веществ, ингибирующих рост использованных в эксперименте тест-организмов.

IV. Контрольно-оценочные материалы для промежуточной аттестации по учебной дисциплине ОПЦ 17. Биотехнология» для дифференцированного зачета

Цель: оценка уровня освоения учебной дисциплины «Биотехнология»

Форма: контрольная работа (выполнение заданий по вариантам)

Время выполнения: 90 мин.

На дифференцированный зачет вынесены вопросы из разделов Биотехнология: принципы, применение, ОСНОВЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ, КЛЕТОЧНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ, БИОИНДУСТРИЯ ФЕРМЕНТОВ, БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРОБЛЕМЫ ЗАЩИТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ.

Задание № 1

1. Понятие «биотехнология». Цели и задачи биотехнологии. Связь биотехнологии с другими науками.

2. Предпосылки развития биотехнологии как науки и сферы производства. 3. Приведите ответ на тестовое задание.

Фенотип – это:

- а) совокупность всех внешних признаков организма;
- б) совокупность всех внутренних признаков организма;
- в) совокупность всех как внешних, так и внутренних признаков организма; г) совокупность всех генов организма.

Задание № 2

1. Этапы становления биотехнологии как науки.

2. Преимущества развития биотехнологии перед традиционными видами технологии.

3. Приведите ответ на тестовое задание.

Понятию «биотехнология» соответствуют следующие определения:

- а) новые, промышленно важные пути биотрансформации различных веществ и живых организмов;
- б) производство с помощью живых существ или технология живого;
- в) использование живых организмов и биологических процессов в производстве; г) объединение биохимической, микробиологической и инженерной наук с целью технологического использования микроорганизмов, культур клеток и тканей, а также составных частей клеток.

Задание № 3

1. Виды биологических объектов, применяемых в биотехнологии, их классификация и характеристика.

2. Виды биотехнологии. Фармацевтическая биотехнология (биотехнология лекарственных средств). Характеристика.
3. Приведите ответ на тестовое

задание. К прокариотам относятся:

- а) растения; б) животные; в) грибы;
- г) бактерии и цианобактерии.

Задание № 4

1. Биообъекты растительного происхождения. Классификация. Характеристика.
2. Генетическая связь биотехнологии с другими науками.
3. Приведите ответ на тестовое задание. Геном

называется:

- а) молекула ДНК;
- б) участок молекулы ДНК, несущий информацию о строении нескольких молекул белка;
- в) участок молекулы ДНК, несущий информацию о строении одной молекулы белка; г) участок молекулы РНК, несущий информацию о данном признаке.

Задание № 5

1. Биообъекты животного происхождения. Характеристика.
2. Вклад генетической инженерии в развитие биотехнологии.
3. Приведите ответ на тестовое задание.

Генотип – это:

- а) совокупность всех генов организма; б) совокупность всех генов популяции; в) гаплоидный набор хромосом;
- г) совокупность всех генов и признаков организма.

Задание № 6

1. Микроорганизмы как объекты биотехнологического производства. Классификация. Характеристика.
2. Виды биотехнологии. Экологическая биотехнология.
3. Приведите ответ на тестовое задание.

Понятию «биообъект» соответствуют следующие определения:

- а) организм, на котором испытываются новые биологически активные соединения; б) организм, вызывающий контаминацию биотехнологического оборудования;
- в) фермент, используемый в аналитических целях;
- г) организм, продуцирующий биологически активные соединения; д) фермент, промышленный биокатализатор.

Задание № 7

1. Макромолекулы как объекты биотехнологического производства. Характеристика.

2. Вклад клеточной инженерии в становление и развитие биотехнологии.
3. Приведите ответ на тестовое задание.

Плазмиды, применяемые в генной инженерии, это: а)

части хромосом;

б) автономные молекулы линейной ДНК;

в) кольцевые молекулы двухнитевой молекулы ДНК; г) участки молекулы иРНК.

Задание № 8

1. Биотехнологические процессы, их классификация и характеристика. 2. Вклад инженерной энзимологии в становление и развитие биотехнологии. 3. Приведите ответ на тестовое задание.

К эукариотам относятся:

а) бактерии и грибы;

б) цианобактерии и вирусы; в)

бактерии и цианобактерии; г)

грибы, растения, животные.

Задание № 9

1. Виды биотехнологии. Космическая биотехнология. Характеристика. 2. Преимущества микроорганизмов как промышленных продуцентов биологически активных веществ.

3. Приведите ответ на тестовое задание.

Совокупность генов популяции называется:

а) генотипом; б)

геномом;

в) генофондом; г)

фенотипом.

Задание № 10

1. Сферы практического применения достижений биотехнологии.

2. Классификация целевых биотехнологических продуктов.

3. Приведите ответ на тестовое задание.

Активный ил, применяемый при очистке промышленных стоков фармацевтического производства:

а) сорбент;

б) смесь сорбентов;

в) смесь микроорганизмов, полученных генно-инженерными методами; г)

природный комплекс микроорганизмов.

Задание № 11

1. Значение микробиологии для развития биотехнологии.

2. Виды биотехнологии. Биоэнерготехнология. Характеристика.

Области практического применения.

3.Приведите ответ на тестовое

задание. РНК отличаются от ДНК

следующим:

- а) вместо тимина в РНК входит урацил;
- б) вместо дезоксирибозы в РНК входит рибоза; в) вместо двух нитей в РНК имеется одна нить; г) верны все ответы.

Задание № 12

1. Виды биотехнологии. Биогеотехнология. Характеристика. Сферы практического применения.

2. Предмет, цели и задачи биотехнологии как науки и сферы производства. 3.Приведите ответ на тестовое задание.

Информация о синтезе одной молекулы белка содержится в: а)

- триплете ДНК;
- б) гене;
- в) молекуле ДНК; г) рибосоме.

Задание № 13

1. Генетическая связь биотехнологии с другими науками. Характеристика. 2. Перспективы развития биотехнологии. Примеры.

3.Приведите ответ на тестовое задание.

Биотехнологами, используется рестриктаза, распознающая и разрезающая молекулу ДНК по принципу:

- а) одновременно обе комплиментарные нити ДНК; б) одну из комплиментарных нитей ДНК;
- в) со специфической последовательностью из 2 – 3 пар нуклеотидов; г) со специфической последовательностью из 5 – 6 нуклеотидов.

Задание № 14

1. Виды биотехнологии. Иммунобиотехнология. Характеристика. Области практического применения.

2. Значение биотехнологии для развития различных отраслей народного хозяйства. 3.Приведите ответ на тестовое задание.

РНК отличается от ДНК тем, что в ее состав входит урацил вместо: а) аденина;

- б) гуанина; в) тимина; г) цитозина.

Задание № 15

1. Отличительные особенности биотехнологических производств от традиционных видов технологии, их характеристика.

2. Ассортимент продукции, получаемой с применением методов биотехнологии. 3. Приведите ответ на тестовое задание.

Функция ДНК в синтезе белка заключается в:

- а) транскрипции; б) синтезе тРНК; в) синтезе рРНК;
- г) верны все ответы.

Задание № 16

1. Предпосылки становления и развития биотехнологии как науки и сферы производства.

2. Понятие «биореактор». Классификация биореакторов (ферментеров). 3. Приведите ответ на тестовое задание.

Продукцией экосистемы называется:

- а) ее суммарная биомасса;
- б) прирост этой биомассы за единицу времени; в) суммарная биомасса продуцентов;
- г) суммарная биомасса консументов.

Задание №17

1. Отрасли народного хозяйства, в которых находят применение биотехнологические процессы. Характеристика.

Примеры.

2. Бактериальное выщелачивание металлов из руд. Сущность метода.

Преимущества данного способа извлечения металлов по сравнению с традиционными пиролитическими методами извлечения.

3. Приведите ответ на тестовое задание.

Возникновение геномики как научной дисциплины стало возможным после: а) установления

структуры ДНК;

б) создания концепции гена;

в) дифференциации регуляторных и структурных участков гена;

г) полного секвенирования генома у ряда организмов.

Задание № 18

1. Продукты биотехнологии, находящие применение в медицине. Характеристика.

Примеры.

2. Сущность применения биотехнологических препаратов и процессов для повышения эффективности нефтедобычи.

3. Приведите ответ на тестовое задание.

Существенность гена у патогенного организма – кодируемый геном продукт необходим:

18

а) для размножения клетки;

б) для поддержания жизнедеятельности; в) для инвазии в ткани;

г) для инактивации антимикробного вещества.

Задание № 19

1. Понятие «вакцина». Характеристика основных типов вакцин.
2. Получение нетрадиционных моторных топлив биотехнологическими методами.
3. Приведите ответ на тестовое задание.

Гены «house keeping» у патогенного микроорганизма экспрессируются: а) в

инфицированном организме хозяина;

б) всегда;

в) только на искусственных питательных средах; г) под влиянием индукторов.

Задание № 20

1. Антибиотики. История открытия. Классификация. Характеристика основных групп антибиотиков. Области практического применения.
2. Биофотолиз воды и перспективы его практического применения.
3. Приведите ответ на тестовое задание.

Протеомика характеризует состояние микробного патогена: а) по

ферментативной активности;

б) по скорости роста;

в) по экспрессии отдельных белков;

г) по нахождению на конкретной стадии ростового цикла.

Задание № 21

1. Понятие «человеческий инсулин». Отличие человеческого инсулина от традиционно получаемого. Значение биотехнологических методов в получении инсулина.
2. Биосинтез углеводов микроорганизмами. Преимущества данного способа получения углеводов в сравнении с традиционными способами их получения.
3. Приведите ответ на тестовое

задание. Таргет:

а) сайт на поверхности клетки; б) промежуточная

мишень внутри клетки; в) конечная

внутриклеточная мишень;

г) функциональная группа макромолекулы.

Задание № 22

1. Понятия «иммуномодуляторы», «иммунодепрессанты», «гормон роста». Роль биотехнологии в их получении. Преимущества биотехнологического способа получения этих соединений по сравнению с традиционными способами.
2. Метановое сбраживание отходов, его сущность. Роль и практическое значение данного процесса в области энергетики.
3. Приведите ответ на тестовое задание.

Мониторинг (применительно к лекарственным средствам):

- а) введение в организм;
- б) выделение;
- в) выявление в тканях;
- г) слежение за концентрацией.

Задание № 23

1. Понятие «фермент». Сравнительная характеристика основных способов их получения. Классификация ферментов. Примеры их практического применения.

2. Понятия «вермикультивирование» и «копрокультивирование». Сущность методов.

3. Приведите ответ на тестовое задание.

Микобактерии – возбудители современной туберкулезной инфекции, устойчивы к химиотерапии вследствие:

- а) компенсаторных мутаций; б) медленного роста;
- в) внутриклеточной локализации; г) ослабления иммунитета организма хозяина.

Задание № 24

1. Биоразлагаемые полимеры. Характеристика. Примеры их применения в медицине.

2. Трансформация углекислоты в кислород с помощью микроводорослей. 3. Приведите ответ на тестовое задание.

К редуцентам, как правило, относятся:

- а) низшие растения;
- б) беспозвоночные животные; в) грибы и бактерии;
- г) вирусы.

Задание № 25

1. Подсластители, получаемые с помощью методов биотехнологии.
2. Биодegradация нефтяных загрязнений с помощью биотехнологии.
3. Приведите ответ на тестовое задание.

Паразиты никогда не встречаются в царстве: а)

- грибов;
- б) растений;
- в) животных;
- г) могут быть у представителей всех царств.

Задание № 26

1. Биоразлагаемые полимеры, их примеры. Характеристика. Применение в качестве упаковочных материалов.

2. Роль биотехнологии в пищевой промышленности. Примеры.
3. Приведите ответ на тестовое задание.

Бактерии, обитающие в почве, могут:

- а) связывать атмосферный азот;
- б) образовывать азот содержащие органические вещества; в) выделять азот в атмосферу;
- г) выполнять все эти функции.

Задание № 27

1. Понятие «отрицательная биотехнология». Сущность. Область применения.
2. Очистка газовых выбросов промышленных предприятий от загрязняющих веществ и неприятных запахов с помощью методов биотехнологии.
3. Приведите ответ на тестовое задание. Взаимодействие

растений и клубеньковых бактерий:

- а) паразитизм; б) симбиоз;
- в) конкуренция; г) комменсализм.

Задание № 28

1. Бактериальные удобрения. Характеристика. Примеры. Преимущества биоудобрений по сравнению с традиционными видами удобрений.
2. Главные направления применения биотехнологии в области охраны окружающей среды. Примеры.
3. Приведите ответ на тестовое задание.

Организмы, питающиеся гниющей листвой, называются: а)

- а) консументами;
- б) редуцентами; в) продуцентами; г) симбионтами.

Задание № 29

1. Пищевой белок, получаемый биотехнологическим путем. Сравнительная характеристика способов получения белка (его преимущества и недостатки).
2. Биогаз. Особенности его биотехнологического получения. Роль в энергетике.
3. Приведите ответ на тестовое задание.

Экологическая единица, состоящая из различных организмов и их физического окружения, называется:

- а) ниша;
- б) популяция; в) экосистема; г) сообщество.

Задание № 30

- 1.Силосные закваски, их назначение. Способы получения.
- 2.Биотехнология кормового белка. Проблемы и перспективы.
- 3.Приведите ответ на тестовое задание.

Организмы, осуществляющие распад органических веществ в биоценозе, это: а)

- консументы;
б) паразиты;
в) редуценты; г)
автотрофы.

Условия выполнения заданий

Количество вариантов заданий для экзаменуемых: 2

Время выполнения на диф.зачет: 90 мин./час.

Оборудование: 2 задание в 30 вариантов

(макеты, бланки документов, компьютерные программы и др.)

Литература для экзаменуемых

Информационное обеспечение обучения

Информационное обеспечение обучения.

Основные источники.

- 1 Современные проблемы и методы биотехнологии : учеб. пособие / Т. Г. Волова, С. В. Маркова, Л. А.Франк, Н. В. Зобова, Е. И. Шишацкая, Н. А. Войнов. – Красноярск : ИПК СФУ, 2009 – 424 с. – (Современные проблемы и методы биотехнологии : УМКД № 1323-2018 / рук. Творч.коллектива Т. Г. Волова).
- 2 Введение в биотехнологию [Текст] : учебное пособие : рекомендовано Инновационно-методическим управлением СФУ / Т. Г. Волова ; Сибирский федеральный университет [СФУ]. - Красноярск : Информационно-полиграфический комплекс [ИПК] СФУ, 2018 - 187 с. Прил.: 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). - (Учебно-методические комплексы дисциплин СФУ ; 143-2017. Введение в биотехнологию). - Библиогр. список: с.181-185. - ISBN 978-5-7638-0833-9 : 38.4 р. - ISBN 978-5-7638-0837-7 : 38.4 р

Сводная таблица

Индекс	Содержание знаний, умений, общих и профессиональных компетенций	Контрольная раб. №1	Контрольная раб. №2	Экзамен
3 1	знать основные учения в области гуманитарных и социальных наук	+	+	+
3 2	экономических наук, научно анализировать социально значимые проблемы и процессы		+	+
3 3	знать методы и приемы, позволяющие получать биологически активные соединения и биопрепараты и успешно применять их в ветеринарной практике.	+	+	+
3 4	методы и средства диагностики, 22 лечения и профилактики вирусных болезней животных, в том числе с основами биотехнологии при культивировании	+	+	+

	вирусов, получении диагностических тест-систем и средств специфической профилактики;			
У 1	определять экономическую эффективность биотехнологических процессов	+	+	+
У 2	самостоятельно анализировать полученную информацию и применять её для решения тестовых заданий	+	+	+
У 3	проводить статистическую обработку и определять достоверность полученных данных	+	+	+
ОК1	Выбирать способы решения задач профессиональной деятельности, применительно к различным контекстам.	+		+
ОК 2	Осуществлять поиск, анализ и интерпретацию информации, необходимой для выполнения задач профессиональной деятельности.	+	+	+
ОК 7	Планировать и реализовывать собственное профессиональное и личностное развитие	+	+	+
ЛР 36	Содействовать сохранению окружающей среды, ресурсосбережению, эффективно действовать в чрезвычайных ситуациях.	+	+	+