



Всероссийская олимпиада студентов «Я – профессионал»

Задания заключительного (очного) этапа
по направлению «Биотехнологии»

Категория участия: «Бакалавриат»

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.

Желаем удачи!

БЛОК 1.

Блок 1. Задание 1 – «Красная» биотехнология

Ферменты – это белки, которые действуют как биологические катализаторы, ускоряя химические реакции. Молекулы, на которые могут действовать ферменты, называются субстратами. Фермент превращает субстраты в различные молекулы, известные как продукты. Почти все метаболические процессы в клетке нуждаются в ферментативном катализе, протекающем с достаточной скоростью для поддержания жизни. Однако, на процесс ферментативного катализа влияют различные факторы.

Задание:

1. Наибольшую активность данный фермент проявляет при рН 7,0-7,2 в зависимости от источника выделения фермента. Субстратом данного фермента является низкомолекулярное соединение, взаимодействующее с дикарбоновыми кислотами и альдегидами. Активный центр этого фермента содержит ион двухвалентного металла.

- а) Напишите, о каком ферменте речь.
- б) К какому классу он относится?
- в) Какой ион входит в состав фермента?
- г) Напишите основную биологическую функцию иона, входящего в состав фермента, в организме человека.
- д) Напишите реакцию, катализируемую данным ферментом. Какие связи задействованы? Как влияют изменения в структуре субстрата на действие фермента?
- е) Напишите источники данного фермента.

2. В таблице 1 представлены величины pK' ионизованных групп для некоторых аминокислот при 25 °С. Исходя из этих данных, рассчитайте значение рН (приведите расчеты), при котором суммарный заряд молекулы гистидина будет равен нулю. Чему будет равен суммарный (-, 0, +) заряд молекулы аргинина при рН 8,6?

Таблица 1. Величины pK' ионизованных групп для некоторых аминокислот



Аминокислота	$pK'_1 \alpha\text{-COOH}$	$pK'_2 \alpha\text{-NH}_3^+$	$pK'_R \text{R-группы}$
Глицин	2,34	9,60	
Аланин	2,34	9,69	
Лейцин	2,36	9,60	
Серин	2,21	9,15	
Треонин	2,63	10,43	
Глутамин	2,17	9,13	
Аспарагиновая кислота	2,09	9,82	3,86
Глутаминовая кислота	2,19	9,67	4,25
Гистидин	1,82	9,17	6,00
Цистеин	1,71	10,78	8,33
Тирозин	2,20	9,11	10,07
Лизин	2,18	8,95	10,53
Аргинин	2,17	9,04	12,48

Блок 1. Задание 2 – «Зелёная» биотехнология

В промышленном животноводстве одной из самых острых проблем является получение сбалансированных по аминокислотному составу кормов, т.к. растительная пища зачастую бедна некоторыми незаменимыми аминокислотами. Одной из самых ценных незаменимых аминокислот является лизин. Ниже приведена схема микробиологического получения лизина, метионана и треонина на основе аспартата бактериями рода *Corynebacterium*:



Задание:

1. На основании приведенной выше схемы:

- Предложите, каким образом в данных бактериях можно добиться получения исключительно лизина?
- Как называются подобные микроорганизмы?
- Что означают прерывистые стрелки на данной схеме?
- Какие особенности (по аминокислотному составу питательной среды) нужно учитывать при культивировании таких микроорганизмов?

2. Как видно из схемы, биохимические процессы в клетках живых организмов протекают при помощи разнообразных ферментов, которые ускоряют скорости химических реакций в сотни и тысячи раз. На сегодняшний день существует три главные причины, которые обеспечивают ферментам такие уникальные способности. Перечислите каждую из них.

3. Бактерии способны делиться с поразительно большой скоростью. Это их особенность широко применяется в биотехнологической практике. Один из трех матричных синтезов, которые обеспечивает хранение, передачу и реализацию генетической информации, как у бактерий, так и у эукариотов – это репликация. Какие ферменты участвуют в этом матричном синтезе? Какова их роль в репликации?

4. В середине двадцатого века были разработаны химические методы определения аминокислотной последовательности в белках и пептидах. В настоящее время их применяют не так часто, но все же они сохранили свою актуальность и по сей день.

- Известно, что в гидролизате неизвестного пептида из бактерии рода *Corynebacterium* найдены: Glu, Ala, Phe, Tyr, Gly, Lys, Leu, Met, и NH₃ в эквимолярном соотношении.

- При обработке пептида по методу Сэнгера выявлен ДНФ-аланин.

- При обработке пептида карбоксипептидазой – глицин.

- В триптическом гидролизате обнаружено два пептида: первый содержит Ala, Gln, Lys, Phe; второй - Met, Gly, Leu, Tyr и при обработке по Сэнгеру даёт ДНФ-лейцин.

- В химотриптическом гидролизате найдено три пептида: первый содержит Met, Gly, второй - Ala, Phe, Gln; третий - Leu, Tyr, Lys.

Выведите на основании всей совокупности данных первичную структуру исходного пептида. Для решения задачи используйте данные таблицы 1 и 2.

Таблица 1

Аминокислоты	Трехбуквенный код	Однобуквенный код
Аланин	Ala	A
Аргинин	Arg	R
Аспарагин	Asn	N
Аспартат	Asp	D
Цистеин	Cys	C
Глутамин	Gln	Q
Глутамат	Glu	E
Глицин	Gly	G
Гистидин	His	H
Изолейцин	Ile	I
лейцин	Leu	L
лизин	Lys	K
Метионин	Met	M
Фенилаланин	Phe	F
Пролин	Pro	P
Серин	Ser	S
треонин	Thr	T
Триптофан	Trp	W
Тирозин	Tyr	Y
Валин	Val	V

Таблица 2

Химический реагент/Гидролитический фермент	Специфичность действия/Сайт гидролиза
--	---------------------------------------



Кислотный гидролиз	Расщепление всех пептидных связей (Gln и Asp превращаются в соответствующие кислоты)
Динитрофторбензол (ДНФ), реактив Сэнгера	Отщепление концевой аминокислоты с N-конца в виде ДНФ-производного
Бромциан	Расщепление пептидной связи после карбоксильной группы метионина (Met)
Трипсин	Lys-X, Arg-X, где X – любая аминокислота, кроме Pro
Химотрипсин	Tyr-X, Phe-X, Trp-X, где X – любая аминокислота, кроме Pro
Карбоксипептидаза	Отщепление концевой аминокислоты с C-конца

5. Как известно, ДНК состоит из двух цепей: кодирующей и не кодирующей. Если не кодирующая цепь ДНК, выделенная из бактерии рода *Corynebacterium*, имеет последовательность 5'-ACAGGTCTTCGACCT-3', то какая аминокислотная последовательность закодирована этим фрагментом, если читать с первого нуклеотида? Для решения данной задачи воспользуйтесь данными таблицы 3.

Таблица 3

Первый нуклеотид	Второй нуклеотид				Третий нуклеотид
	У	Ц	А	Г	
У	Фен	Сер	Тир	Цис	У
	Фен	Сер	Тир	Цис	Ц
	Лей	Сер	Стоп	Стоп	А
	Лей	Сер	Стоп	Трп	Г
Ц	Лей	Про	Гис	Арг	У
	Лей	Про	Гис	Арг	Ц
	Лей	Про	Гли	Арг	А
	Лей	Про	Гли	Арг	Г
А	Иле	Тре	Асп	Сер	У
	Иле	Тре	Асп	Сер	Ц
	Иле	Тре	Лиз	Арг	А
	Мет	Тре	Лиз	Арг	Г
Г	Вал	Ала	Асп	Гли	У
	Вал	Ала	Асп	Гли	Ц
	Вал	Ала	Глу	Гли	А
	Вал	Ала	Глу	Гли	Г

Блок 1. Задание 3 – «Белая» биотехнологии

Кондитерское производство – одно из наиболее динамично развивающихся направлений пищевой промышленности. Спектр производства данной отрасли достаточно широк, он включает выработку самых разнообразных кондитерских изделий.

Задание:



1. Какое сырье используется в производстве кондитерских изделий?
2. Как классифицируются кондитерские изделия в зависимости от вида сырья и типа технологического производства?
3. Назовите общие этапы технологических схем производства разных групп кондитерских изделий и охарактеризуйте их.
4. Приведите примеры пищевых добавок микробного происхождения, используемых в кондитерском производстве, и назовите продуцентов, которые их вырабатывают.
5. Какие функции выполняют в производстве мучных кондитерских изделий ферментные препараты, содержащие протеазы и амилазу?

Блок 1. Задание 4 – «Серая» биотехнологии

Биоремедиация — это экологически безопасный и современный метод, в котором используются естественные биологические процессы частичного или полного устранения токсичных загрязнителей. Биоремедиация представляет собой процесс, в котором используются микроорганизмы, грибы, зеленые растения или их ферменты для возвращения природной среды, загрязнённой токсичными соединениями или тяжёлыми металлами, в ее исходное состояние. Технологии биоремедиации в целом можно разделить на *in situ* и *ex situ*.

Задание:

1. Что такое биоремедиация *in-situ*?
2. Какие Вы видите преимущества использования биоремедиации для детоксикации тяжёлых металлов по сравнению с другими методами?
3. Какие Вы видите ограничения при использовании микроорганизмов для биоремедиации окружающей среды?
4. Какие существуют стратегии биоремедиации тяжелых металлов при помощи микроорганизмов? Опишите подробно каждую.
5.
 - а) Подберите наиболее подходящую стратегию для биоремедиации железа в составе руды.
 - б) Опишите последовательность стадий данной технологии и условия биоремедиации.
 - в) Какие микроорганизмы могут быть задействованы в данном процессе биоремедиации?
 - г) Какие соединения являются продуктами катализируемой микроорганизмами реакции?

Блок 1. Задание 5 – Контроль биотехнологического производства

Несмотря на активную разработку новых лекарственных средств, в том числе при помощи биотехнологических способов, уверенно продолжают исследования существующих лекарственных средств на наличие новых свойств.

Для идентификации и последующего исследования лекарственных средств используется немалое количество аналитических методов, в том числе инфракрасная (ИК) спектроскопия, благодаря которой можно довольно точно идентифицировать многие вещества. Для структурного анализа органических веществ инфракрасные спектры обычно регистрируются в интервале частот 4000–400



см^{-1} . Поглощением в инфракрасной области обладают молекулы, дипольные моменты которых изменяются при возбуждении колебательных движений ядер. Данные ИК-спектроскопии позволяют по характеристическим полосам поглощения определить присутствие в анализируемом веществе функциональных групп.

В это же время, по данным спектров (ядерного магнитного резонанса) ЯМР можно не только подтвердить наличие в веществе обнаруженных функциональных групп, но и определить их расположение в молекуле. Ядра протонов и углеродов присутствуют практически во всех органических соединениях, что делает спектроскопию ЯМР ^1H и ^{13}C высокоинформативным для установления структуры веществ.

Для приближения условий задачи к реальным предоставлены спектры ЯМР ^1H (рисунок 1.1), ЯМР ^{13}C (рисунок 1.2) и ИК (рисунок 1.3) одного из известных лекарственных средств с молекулярной массой 199,28 г/моль, применяемого на данный момент в ветеринарии, но его производные активно используются в качестве антипсихотических средств.

Задание:

1. Используя данные ЯМР и ИК-спектров (рисунки 1.1–1.3), приведите структурный анализ заданного лекарственного средства. В качестве ответа напишите брутто-формулу данного вещества и на ваш выбор: тривиальное или систематическое название лекарственного средства, или схематическое изображение вещества, используя развернутую структурную или скелетную формулу.
2. Приведите не менее трех путей биотрансформации производных данного лекарственного средства с указанием мест трансформации. Для удобства рекомендуется нарисовать структурную формулу производных данного лекарственного средства.
3. Проанализируйте фармакологическое действие производных данного лекарственного средства на человека, представленного на рисунке 1.4. Также приведите не более двух примеров симптомов передозировки данным лекарством.
4. Проанализируйте антибактериальный эффект воздействия производного данного лекарственного средства, представленного на рисунке 1.4 на грамположительные и грамотрицательные бактерии. В качестве ответа укажите, в каком случае данное производное оказывает бактерицидное, а в каком бактериостатическое действие.

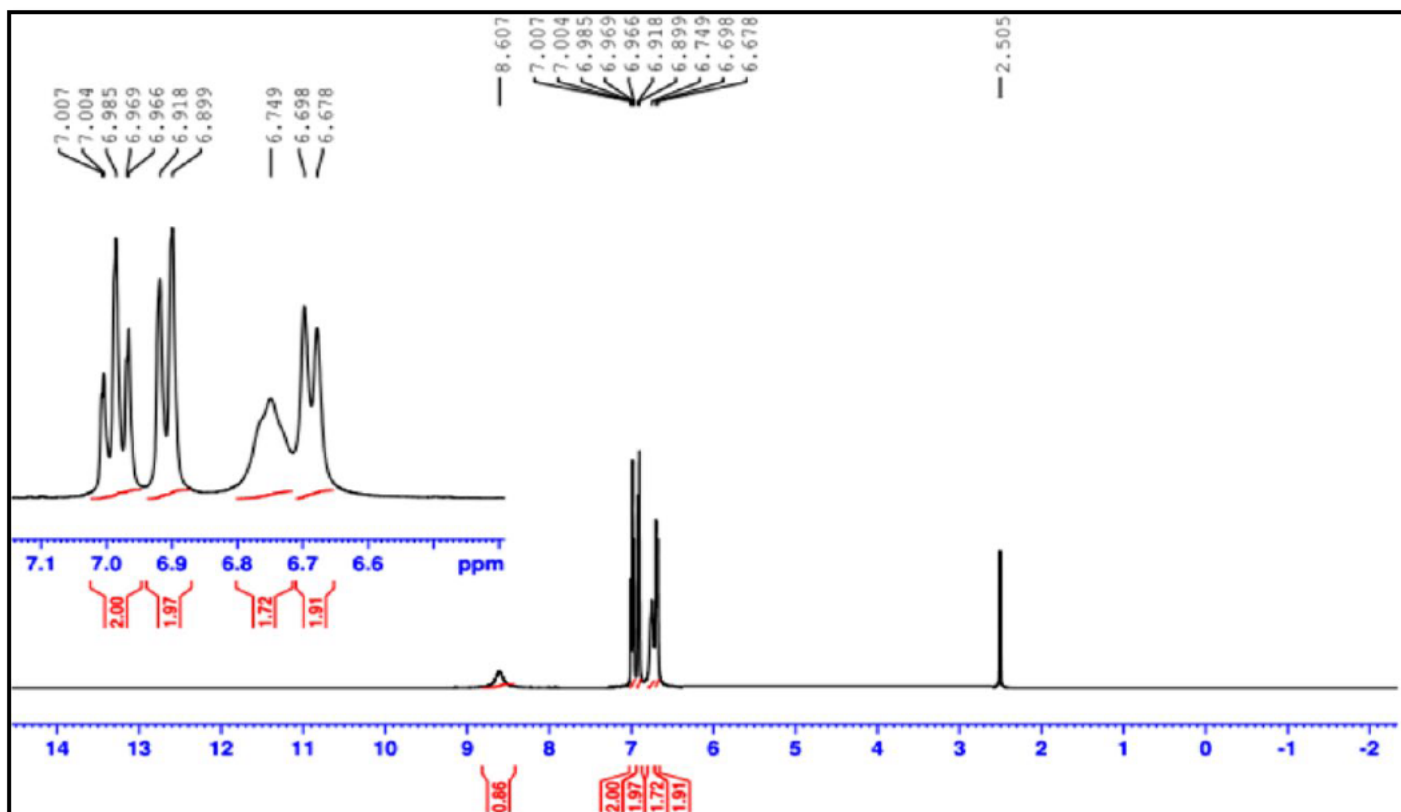


Рисунок 1.1 – Спектр ЯМР ^1H заданного лекарственного средства
 (Растворитель: DMSO- d_6)

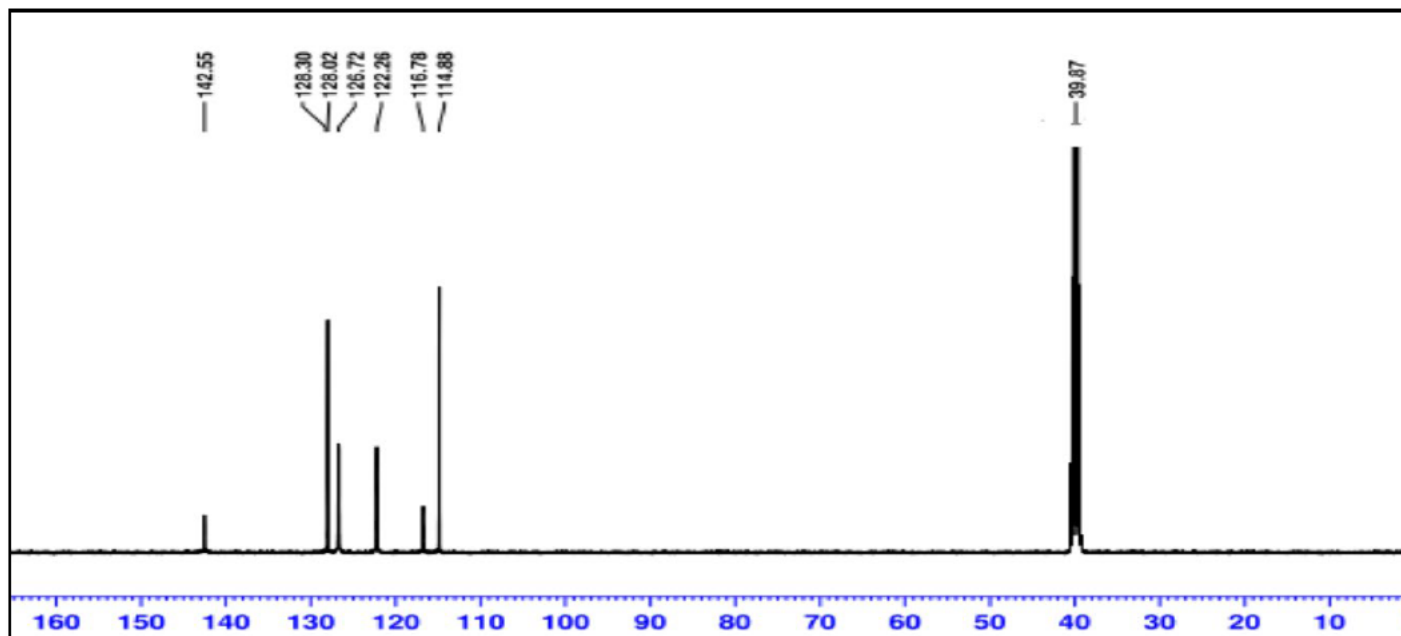


Рисунок 1.2 – Спектр ЯМР ^{13}C заданного лекарственного средства
 (Растворитель: DMSO- d_6)

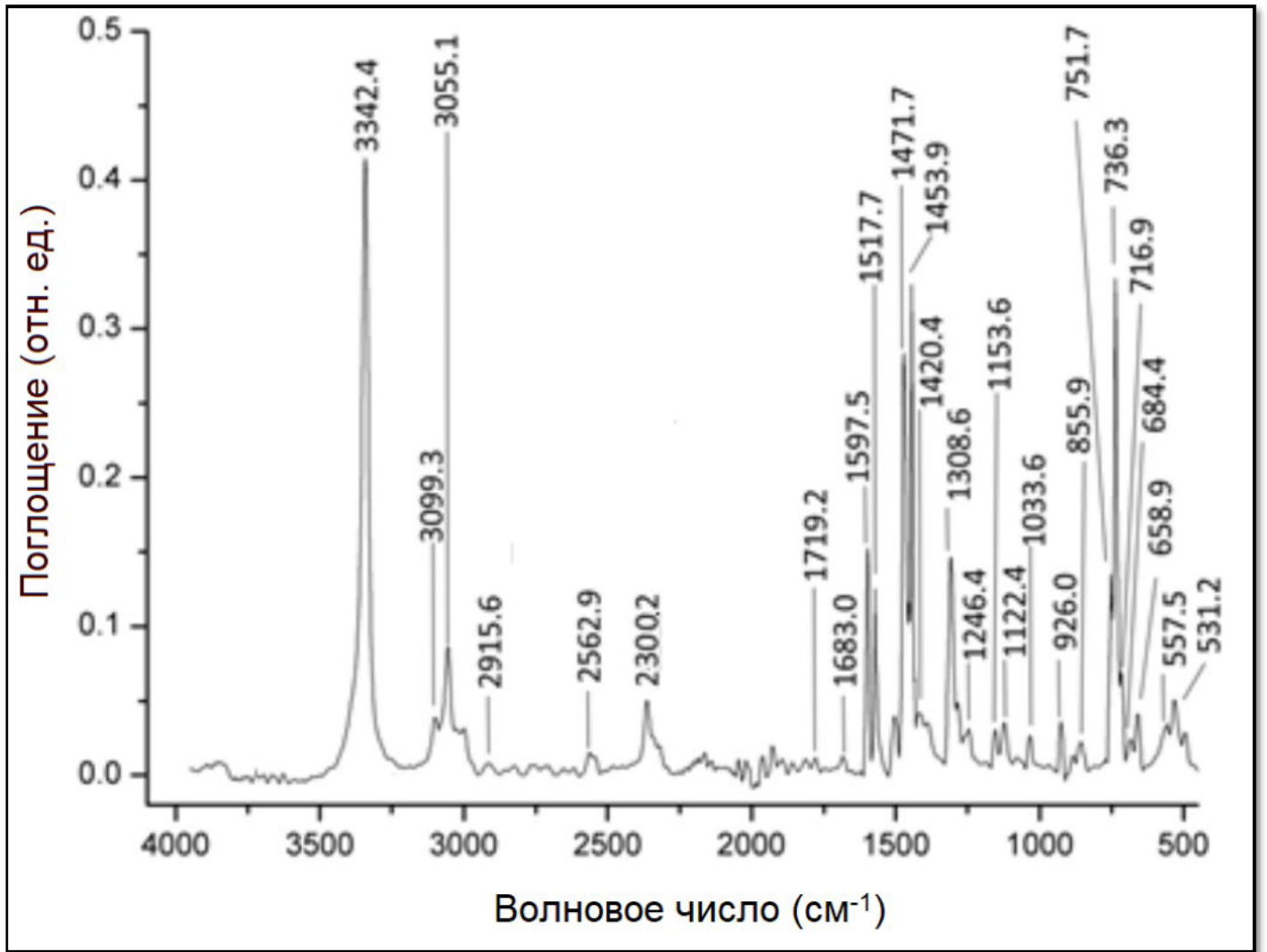


Рисунок 1.3 – Спектр ИК заданного лекарственного средства

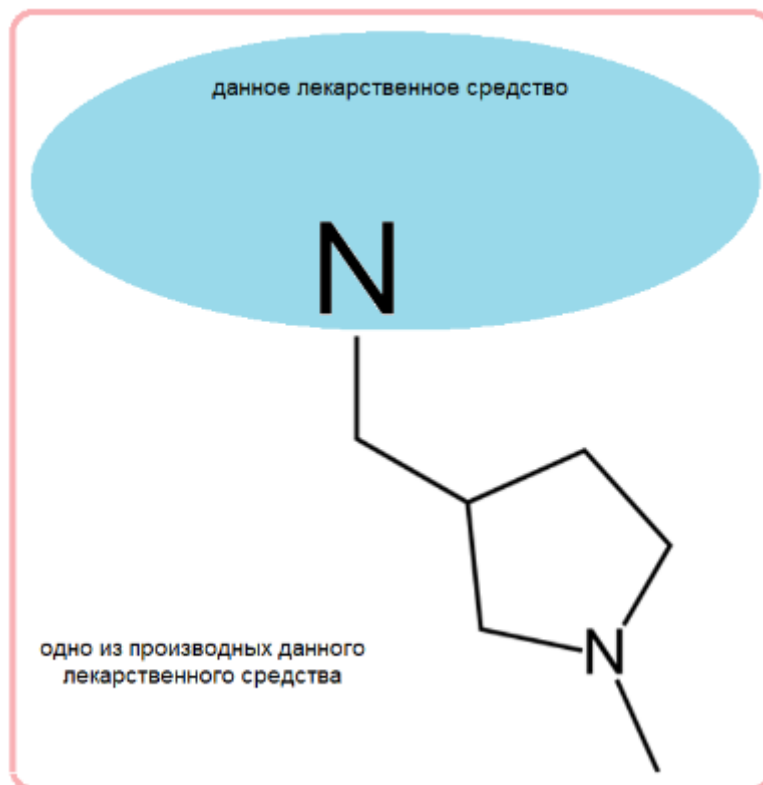


Рисунок 1.4 – Схема одного из производного данного лекарственного средства
БЛОК 2

Блок 2. Задание 1 – «Красная» биотехнология

Разработка стратегии внутрипроизводственного контроля субстратов и метаболитов при культивировании *E. coli* с геном рекомбинантного белка

В производстве вакцин на основе рекомбинантных белков, полученных при помощи культивирования *Escherichia coli* (*E. coli*), ключевой стадией является обеспечение оптимальных условий для роста микроорганизмов и экспрессии целевого белка. Основой эффективности этого процесса служат субстраты - питательные вещества, которые *E. coli* использует для роста, и метаболиты - продукты жизнедеятельности и промежуточные вещества, образующиеся в процессе роста и размножения бактерий.

Неправильный состав субстратов, а также накопление токсичных метаболитов может снижать целевой выход и качество получаемого рекомбинантного белка. На практике это может привести к увеличению стоимости производства и снижению эффективности вакцины. Кроме того, нежелательные метаболиты могут влиять на безопасность конечного продукта, делая его потенциально опасным для человека.

Таким образом, разработка эффективной стратегии внутрипроизводственного контроля качества субстратов и метаболитов при культивировании *E. coli* становится ключевой задачей для обеспечения стабильности, безопасности и экономичности производства вакцин на основе рекомбинантных белков.

Задание:

1. Исходя из теоретического материала о культивировании *E. coli*, оцените основные этапы производства и определите, на каком этапе и какие субстраты и метаболиты оказывают наибольшее влияние на качество и выход рекомбинантных белков. Опишите какие проблемы могут возникнуть из-за неправильного выбора состава или количества компонентов субстратов, а также из-за накопления токсичных метаболитов.



2. Определите ключевые параметры контроля для субстратов и метаболитов, выберите наиболее подходящие методы анализа для каждого параметра и разработайте график контроля. Укажите, какие действия следует предпринять при выявлении отклонений от нормы.

3. Предоставьте рекомендации по внедрению разработанной стратегии контроля на производстве. Оцените потенциальную экономическую эффективность такой стратегии и предложите план внедрения. Подумайте о возможных рисках, связанных с внедрением новых методик контроля, и предложите способы их минимизации.

Блок 2. Задание 2 — «Зеленая» биотехнология

Тритерпеновые кислоты для обработки растений

Препараты на основе тритерпеновых кислот применяются в сельском хозяйстве для стимуляции роста злаковых культур. Основным природным источником их является биомасса хвойных деревьев. Известно, что органическая экстракция неполярным растворителем не позволяет экстрагировать тритерпеновые кислоты из хвойной зелени.

Задание:

1. Предложите способ выделения тритерпеновых кислот из хвои.
2. Опишите структурную схему процесса выделения.

Блок 2. Задание 3. «Белая» биотехнология

Биоразлагаемая упаковка из пшеничных отрубей

В последнее десятилетие производство биоразрушаемой упаковки для пищевых продуктов стало актуальным. В развитых странах мира освоено несколько технологических приемов по приданию полимерным пленкам способности деградировать в почве, за счет включения в полимерную матрицу крахмала и других съедобных для микробов веществ. Созданы биополимеры на основе целлюлозы, микробных полиэфиров, полигидроаконатов, поливинилового спирта, поликапролактона, полилактозной кислоты, полиэтилена, полиуретанов. При попадании в почву, биоразрушаемая пленка с помощью микроорганизмов (бактерии, дрожжи, грибы) распадается на низкомолекулярные вещества и легко утилизируется в природе.

Компания АО «СИБАГРО БИОТЕХ» планирует строительство комбината по глубокой переработке пшеницы в СФО мощностью 250 000 тонн/год переработки пшеницы. Производимыми продуктами предприятия будут: глютен пшеничный, аминокислоты, гранулы PLA. Одним из побочных продуктов производству будут отруби пшеничные в количестве 50 000 тонн/год.

Задание:

1. Исследовать состав отрубей пшеничных на предмет использования их в виде сырья для производства биоразлагаемой упаковки для продукции птицефабрик и мясоперерабатывающих заводов.
2. Предложить варианты технологических решений. Выделить наиболее интересный, обосновать и детально раскрыть предлагаемое технологическое решение.

При разработке решения необходимо руководствоваться как технологическими, так и экономическими критериями. *Технологические критерии:* эффективные биокатализаторы, применение полимерных систем, оригинальная идея, которая может быть реализована в технологическом процессе, максимальная безотходность, энергоэффективность и т.д. *Экономические критерии:* себестоимость продуктов, производственные и транспортные издержки.

Блок 2. Задание 4 – «Серая» биотехнология



«Бактериальная целлюлоза SCOBY»

Комбуча (чайный гриб) – напиток, появившийся в древней Азии около двух тысяч лет назад. Производится он путем ферментации симбиотической культурой бактерий и дрожжей (SCOBY - symbiotic culture of bacteria and yeast) подслащенного чая. Комбуча ценится за необычный кисло-сладкий вкус (баланс кислоты и сладости зависит от времени ферментации и изначальной концентрации сахара) и за свои полезные свойства. Во время ферментации напитка образуется значительное количество побочного продукта – бактериальная целлюлоза, которая является отходом производства, однако сама по себе является ценным ресурсом, имеющим широкий спектр потенциального применения.

Задание:

1. Сравните целлюлозу SCOBY с древесной, опишите её преимущества и недостатки, где может быть использован такой побочный продукт и в какой области рынка востребован.
2. Предложите технологически осуществимые способы очистки, модификации, переработки бактериальной целлюлозы.
3. Предложите варианты позиционирования продуктов и сырья с микробной целлюлозой на рынке РФ.

Блок 2. Задание 5 – «Контроль биотехнологического производства»

«Гуминовые вещества»

Известно, что гуминовые вещества являются стимуляторами роста растений. Данные вещества часто в своем составе содержат дополнительные компоненты, такие как бор и молибден. Ожидается, что конечный продукт будет являться борорганическим соединением.

Задание:

1. Предложить методики или способы, подтверждающие образование борорганического соединения и возможные способы его определения на качественном уровне.
2. Установить подходы к определению форм комплексного борорганического соединения и его количественному определению.