

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования
«Иркутский национальный исследовательский технический университет»

Институт высоких технологий

Оценочные материалы

БИОИНЖЕНЕРИЯ

19.04.01 Биотехнология

Технология биологически активных веществ

Магистр

Очная

Документ подписан простой электронной
подписью

Составитель: Протопопова М.В.

Дата подписания: 16.09.2026

Документ подписан простой электронной
подписью

Руководитель структурного подразделения /

Руководитель ООП: Евстафьев Сергей

Николаевич

Дата подписания: 16.09.2026

Год набора - 2027 г.

Иркутск, 2026 г.

1 семестр/ПК-1

Множественный выбор

Функцию хранения генетической информации в клетках живых организмов осуществляет (ют):
--

ДНК

мРНК

рибосомы

кДНК

гистоны

белки

Множественный выбор

Генетическая информация представляет собой
--

информацию о последовательности аминокислот в белке
--

информацию о структуре хромосом

информацию о последовательности ферментативных реакций в каскадах

информацию о третичной структуре ДНК

информацию о направлении транскрипции

Множественный выбор

Отметьте возможные пути передачи генетической информации в живых организмах и in vitro, и которые практически и/или теоретически можно использовать в биотехнологическом процессе

ДНК→ДНК

ДНК→РНК

РНК→ДНК

РНК→РНК

ДНК→белок

РНК→белок

белок→белок

белок→РНК

белок→ДНК

Множественный выбор

Укажите виды каталитических активностей, которые можно встретить у бактериальных ДНК-зависимых ДНК-полимераз и использовать в биотехнологическом процессе

5'→3' экзонуклеазная активность
3'→5' экзонуклеазная активность
5'→3' полимеразная активность
протеазная активность
3'→5' полимеразная активность
хеликазная активность

Множественный выбор
Скорость работы ДНК-полимеразы в биотехнологическом процессе рассчитывается как
количество нуклеотидов, которое присоединяет ДНК-полимераза к растущей цепи за единицу времени
количество раскрученных двойных цепей ДНК за единицу времени
количество нуклеотидов, которое присоединяет ДНК-полимераза к растущей цепи за один цикл связывания с матрицей ДНК
количество отредактированных нуклеотидов ДНК-полимеразой за единицу времени

Множественный выбор
Конкретная последовательность «ori» в плазмиде (или в другом генетическом векторе) при конструировании организмов с помощью генно-инженерных подходов определяет:
круг клеток-хозяев, где вектор сможет реплицироваться
степень копийности вектора в клетке-хозяине
активность промотора, контролирующего ген-интереса в клетке-хозяине, трансформированного вектором
устойчивость клеток-хозяев к различным антибиотикам
набор сайтов рестрикции, которые можно использовать для создания генетической конструкции

Множественный выбор
Укажите какие структурные элементы можно найти в бинарном коммерческом векторе для получения трансгенных растений
последовательность ori
полилинкер
селективный ген
эукариотический промотор
правая граница Т-ДНК
левая граница Т-ДНК

гены биосинтеза фитогормонов роста
гены катаболизма опинов
гены vir
гены биосинтеза опинов

Множественный выбор
Генетическая трансформация клеток методом конъюгации может осуществляться между бактериальными клетками, но не все штаммы способны к ней
между всеми типами бактериальных клеток
между некоторыми линиями эукариотических клеток
между эукариотическими и бактериальными клетками, если бактериальные клетки несут F-плазмиду

Множественный выбор
«Полилинкером» при создании генетических конструкций является:
участок векторной плазмиды, содержащий несколько сайтов рестрикции
сайт множественного клонирования
участок векторной плазмиды, отвечающий за перенос конструкции в ДНК клетки-хозяина
участок ДНК-вставки, отвечающий за ее перенос и лигирование в вектор
участок донорной ДНК, содержащий несколько сайтов рестрикции

Множественный выбор
Скрининг бактериальных клонов, полученных в результате генетической трансформации, осуществляется/может осуществляться с помощью
гена β-галактозидазы (lacZ)
репортерных генов
белкового продукта, закодированного вставкой
суицидальных генов
генов, обеспечивающих устойчивость к антибиотикам

1 семестр

Эссе		
Содержание задания	Критерии для оценивания	Коды компетенций
<u>Перечислите основные подходы, которые используют для оптимизации генетического вектора при создании штамма-продуцента БАВ</u>	Ответ должен соответствовать основным аспектам, приведенным в эталонном ответе. Эталонный ответ: основные подходы к оптимизации вектора включают следующие принципы: 1. Выбор типа вектора: плаزمид, космид, вектор на основе вирусов (включая фаговые или интегрирующие вектора), искусственные хромосомы и др. 2. Оптимизация промотора и терминатора. Промотор должен быть сильным и, по возможности, индуцибельным, чтобы можно было контролировать момент начала экспрессии. Терминатор должен эффективно завершать транскрипцию, предотвращая «считывание» соседних генов и снижая нагрузку на клетку. 3. Оптимизация селективного маркера (например ген устойчивости к антибиотику). Ген должен быть эффективным, но не должен создавать избыточную метаболическую нагрузку. В промышленных процессах стремятся минимизировать использование антибиотиков, поэтому разрабатывают векторы с альтернативными маркерами (например, на основе ауксотрофии). 4. Оптимизация сайтов клонирования, которая выражается в использовании универсальных сайтов клонирования (MCS), что упрощает вставку целевого гена. 5. Оптимизация последовательности гена интереса, например, за счет оптимизации кодонов (например, подбор оптимальных сайтов инициации трансляции) или добавления последовательностей, кодирующих вспомогательные элементы (например, His-метки). 5. Оптимизация стабильности вектора для устойчивости к рекомбинации и предотвращения его потери в отсутствие селективного давления. Для этого, например, используют стабильные репликоны, избегают повторяющихся последовательностей и, при необходимости, вводят системы, «закрепляющие» вектор в клетке.	ПК-1
<u>Перечислите основные факторы, которые необходимо учитывать при оптимизации экспрессии генов в эукариотической системе для получения БАВ</u>	Ответ должен соответствовать основным аспектам, приведенным в эталонном ответе. Эталонный ответ: для оптимизации экспрессии генов в эукариотической системе (например, в дрожжах или в клетках млекопитающих) с целью получения БАВ необходимо учитывать специфику эукариотического аппарата транскрипции, трансляции и посттрансляционных модификаций. К ключевым факторам, подлежащим оптимизации относят: 1. выбор системы экспрессии: растения, дрожжи, насекомые, клетки млекопитающих и др. Например, дрожжи подходят для белков, требующих простых модификаций, а клетки млекопитающих – для сложных белков с характерной для человека гликозилированным паттерном (например, антитела, гормоны). 2. оптимизация промотора: выбор используемого промотора зависит от необходимости в	ПК-1

	постоянной наработке продукта (например, БАВ) или его наработкой лишь под воздействием внешнего стимула. По этому принципу промоторы можно разделить на конститутивные (активны постоянно) или индуцибельные (активируются в результате воздействия внешних факторов). Для работы в определенном типе организма-хозяина также требуются разные промоторы: для дрожжей, например, могут использовать сильный индуцибельный метанолом промотор AOX1 и сильный конститутивный промотор GAP, в клетках млекопитающих – вирусные промоторы (например, CMV, SV40), в растениях – конститутивный промотор CaMV 35S и др. Также можно использовать различные варианты тканеспецифических или стресс-индуцибельных промоторов в зависимости от задачи. 3. Оптимизация использованного вектора и его копийности. Вектор должен содержать все необходимые элементы: промотор, терминатор, селективный маркер, сайты интеграции (если используется интеграция в геном). Копийность целевого гена оптимизируют, чтобы избежать метаболической перегрузки и нестабильности конструкции. 4. Оптимизация условий культивирования трансформированных клеток: температура, pH, аэрация, состав среды. 5. Оптимизация посттрансляционных модификаций для БАВ, требующих специфической гликозилированной структуры. В этом случае оптимизируют условия, влияющие на гликозилирование (например, температуру, pH, состав среды). При необходимости используют штаммы с модифицированным аппаратом гликозилирования.	
<u>Объясните суть и перечислите основные этапы технологии ТА-клонирования для дальнейшего получения БАВ</u>	Ответ должен соответствовать основным аспектам, приведенным в эталонном ответе. Эталонный ответ: технология основана на комплементарном связывании однонуклеотидных выступов на 3'-концах ампликона и линейного вектора, без необходимости использования сайтов рестрикции и соответствующих рестриктаз. Таким образом, ТА-клонирование представляет собой удобный и быстрый способ встраивания целевого фрагмента ДНК в плазмидный вектор, что позволяет в дальнейшем использовать полученные рекомбинантные штаммы для эффективного получения БАВ. Суть метода заключается в том, что ампликон, полученный в результате ПЦР с использованием Taq ДНК-полимеразы, имеет на 3'-концах выступающие остатки дезоксиаденозина (А), которые способны спариваться с комплементарными выступающими остатками дезокситимидина (Т) на 3'-концах специально подготовленного линейного плазмидного вектора. Это позволяет эффективно соединить фрагмент ДНК с вектором за счёт гибридизации выступающих концов. Основные этапы технологии включают. 1. Получение ампликона методом ПЦР: ампликон синтезируют с использованием Taq ДНК-полимеразы, которая характеризуется терминальной трансферазной активностью и добавляет к 3'-концам ПЦР-продукта по одному остатку дезоксиаденозина. 2. Подготовка вектора: плазмиду линеаризуют и модифицируют так, чтобы на её 3'-концах оказались выступающие остатки дезокситимидина (Т), что обеспечивает комплементарность с 3'-концами	ПК-1

	ампликона. 3. Лигирование: ампликон и подготовленный вектор смешивают и соединяют с помощью ДНК-лигазы, которая ковалентно сшивает фосфодиэфирные связи между фрагментом и вектором, формируя рекомбинантную плазмиду. 4. Трансформация: полученные рекомбинантные плазмиды вводят в компетентные клетки бактерий (например, <i>Escherichia coli</i>), где они реплицируются. 5. Отбор клонов: среди трансформантов отбирают бактериальные колонии, содержащие плазмиды со встроенным фрагментом, с использованием селективных сред и дополнительных методов (например, ПЦР, рестрикционного анализа).	
<u>Объясните принцип позитивной селекции трансформированных бактериальных клеток, содержащих целевую генетическую конструкцию, для дальнейшего получения БАВ</u>	Ответ должен соответствовать основным аспектам, приведенным в эталонном ответе. Эталонный ответ: позитивная (положительная) селекция трансформированных бактериальных клеток – это подход, при котором в селективных условиях выживают только те клетки, которые содержат нужную генетическую конструкцию, а остальные погибают или не растут. Суть позитивной селекции заключается в том, что в состав генетической конструкции включают специальный ген, который даёт клетке преимущество в определённых условиях. Чаще всего в качестве такого гена используют гены устойчивости к антибиотикам (например, к ампициллину, канамицину и др.). После трансформации клетки высевают на селективную питательную среду, содержащую соответствующий антибиотик. В этих условиях только те бактерии, которые успешно получили плазмиду с геном устойчивости, способны расти и образовывать колонии, а клетки без вектора погибают. Таким образом, позитивная селекция позволяет эффективно отбирать трансформанты, содержащие целевую генетическую конструкцию, что является важным этапом при создании штаммов-продуцентов для последующего получения биологически активных веществ.	ПК-1
<u>Объясните принцип контротбора трансформированных бактериальных клеток, содержащих целевую генетическую конструкцию, для дальнейшего получения БАВ</u>	Контротбор (негативная, или отрицательная, селекция) – это стратегия, при которой отбор трансформантов осуществляют по принципу потери способности клетки синтезировать токсичный продукт. В основе этого подхода лежит использование так называемых суицидальных генов, которые кодируют вещества, вредные (например, токсичные) для клетки. Такой ген обычно находится на исходной плазмиде. Целевой фрагмент ДНК (например, ген биосинтеза определенного БАВ) встраивают внутрь этого суицидального гена, что приводит к нарушению его последовательности. В результате клетки, получившие вставку гена целевого продукта, перестают производить токсичный продукт и выживают. В то же время клетки, не содержащие целевой вставки, продолжают синтезировать токсин и погибают. Иногда целевая вставка полностью заменяет суицидальный ген, что также приводит к прекращению выработки токсичного продукта. В итоге только те клетки, в которых произошла правильная модификация генетической конструкции, остаются жизнеспособными, что позволяет эффективно отбирать нужные рекомбинантные клоны для дальнейшего использования в биотехнологических процессах	ПК-1

	получения БАВ.	
<u>Объясните принцип скрининга трансформированных бактериальных клеток, содержащих целевую генетическую конструкцию, для дальнейшего получения БАВ и ее отличие от селекции</u>	Ответ должен соответствовать основным аспектам, приведенным в эталонном ответе. Эталонный ответ: скрининг представляет собой отбор трансформированных клеток по нелетальному признаку, который позволяет визуально или функционально отличить нужные клоны, несущие целевую конструкцию, от нетрансформированных. В отличие от селекции, при скрининге выживаемость клеток не зависит от наличия или отсутствия целевой конструкции. В этом случае отбор идёт по внешнему признаку, не влияющему на жизнеспособность. Чаще всего в основе скрининга лежит работа репортерных генов, продукт которых можно легко детектировать (например, по цвету колоний, флуоресценции или другому признаку). Один из распространённых примеров является бело-голубой скрининг, в котором именно белые колонии несут плазмиды с целевой генетической встройкой. Кроме цветового скрининга, для определения подходящих трансформантов часто используют метод ПЦР. С использованием специфичных праймеров проводят амплификацию участка, содержащего вставку, и по наличию или отсутствию продукта ПЦР судят о наличии целевой генетической конструкции в клоне. Таким образом, скрининг позволяет эффективно идентифицировать бактериальные клоны, содержащие корректную генетическую конструкцию, что необходимо для последующего получения целевых БАВ.	ПК-1
<u>Объясните принцип химической трансформации бактериальных клеток для дальнейшего получения БАВ</u>	Ответ должен соответствовать основным аспектам, приведенным в эталонном ответе. Эталонный ответ: химическая трансформация, также известная как трансформация методом теплового шока, – это способ введения свободной ДНК (например, рекомбинантной плазмиды) в бактериальную клетку с помощью химических реагентов и кратковременного нагрева. Суть метода заключается в том, что бактериальные клетки (например, <i>Escherichia coli</i>) предварительно обрабатывают раствором, содержащим ионы кальция (обычно CaCl_2), что делает их компетентными, то есть способными принимать экзогенную ДНК. В таких условиях клеточная стенка становится более проницаемой, а мембрана временно изменяет свою структуру. После инкубации с ДНК на льду клетки подвергают кратковременному воздействию повышенной температуры (обычно около 30–60 секунд при 42 °С). Этот тепловой шок в присутствии ионов Ca^{2+} вызывает образование локальных разрывов в клеточной стенке и формирование временных пор в мембране, через которые генетическая конструкция (плазмида) проникает в цитоплазму клетки. После теплового шока клетки переносят в богатую питательную среду и инкубируют при 37 °С, что позволяет восстановить целостность клеточной стенки и начать репликацию введённой плазмиды. В дальнейшем такие трансформированные клетки можно отбирать с помощью селекции (например, по устойчивости к антибиотику) и использовать для получения целевого БАВ.	ПК-1
<u>Объясните принцип метода электропорации для генетической трансформации клеток с</u>	Ответ должен соответствовать основным аспектам, приведенным в эталонном ответе. Эталонный ответ: электропорация представляет собой способ	ПК-1

<u>целью дальнейшего получения БАВ</u>	генетической трансформации клеток, при котором введение ДНК (или других макромолекул) в клетку достигается за счёт кратковременного воздействия импульсов высокого напряжения. Считается универсальным и высокопроизводительным подходом генетической трансформации клеток, широко применяемый при создании штаммов-продуцентов БАВ. Суть метода заключается в том, что клетки, находящиеся в присутствии экзогенной ДНК, подвергаются коротким электрическим импульсам определённой силы и продолжительности. Эти импульсы вызывают обратимое нарушение структуры клеточной мембраны, в результате чего в ней образуются небольшие временные поры. Через эти поры молекулы ДНК могут проникать внутрь цитоплазмы под действием осмотических и электрохимических градиентов. После окончания импульса мембрана восстанавливается, и клетка остаётся жизнеспособной, но уже содержит введённую генетическую конструкцию. Электропорация считается одним из наиболее эффективных методов трансформации, так как позволяет доставлять ДНК в клетки широкого спектра хозяев: бактерии, дрожжи, культуры клеток насекомых, млекопитающих (включая клетки мышей и человека), простейших, а также протопласты растительных клеток.	
<u>Объясните принцип полимеразной цепной реакции (ПЦР), приведите характеристику ее основных этапов, назовите основные компоненты и продукты реакции, укажите возможности ее применения в биоинженерии</u>	Ответ должен соответствовать основным аспектам, приведенным в эталонном ответе. Эталонный ответ: полимеразная цепная реакция (ПЦР) является методом молекулярной биологии, позволяющим многократно увеличивать (амплифицировать) определённый участок ДНК в искусственных условиях <i>in vitro</i>, т.е. вне живой клетки. В биоинженерии ПЦР широко применяют для клонирования генов, анализа экспрессии генов, идентификации мутаций, диагностики инфекций, создания мутантных форм генов, а также для контроля наличия целевой последовательности в рекомбинантных конструкциях и трансформированных клетках. Принцип ПЦР основан на многократном повторении циклов изменения температуры, при которых происходит копирование целевой последовательности с помощью фермента ДНК-зависимой ДНК-полимеразы. Каждый цикл включает три основные стадии. 1. Денатурация, при которой исходная ДНК нагревается до высокой температуры (обычно 94–98 °С), что приводит к разрыву водородных связей между цепями и образованию двух одноцепочечных молекул. 2. Отжиг праймеров, при котором температура снижается (обычно до 50–65 °С), и короткие олигонуклеотидные праймеры комплементарно связываются с участками целевой последовательности на каждой из цепей. 3. Элонгация (удлинение) цепи, при которой ДНК-полимераза синтезирует новую цепь (обычно при температуре 72 °С), используя свободные нуклеотиды. Основными компонентами, необходимыми для проведения ПЦР являются: ДНК-матрица, содержащая целевой участок; два праймера, комплементарные к концам амплифицируемого фрагмента; дезоксинуклеозидтрифосфаты (dNTP) для синтеза новой цепи; термостабильная ДНК-полимераза (например, Taq-полимераза); буферный раствор, обеспечивающий оптимальный pH и ионную силу; ионы магния (Mg^{2+}),	ПК-1

	являющиеся кофактором ДНК-полимеразы; высокоочищенная вода, свободная от нуклеаз и ингибиторов. Целевым продуктом реакции являются множественные копии фрагмента ДНК, ограниченного праймерами, или ампликоны. Побочными продуктами могут быть фрагменты ДНК различной длины.	
<u>Объясните принцип центральной догмы молекулярной биологии согласно классическим и современным представлениям и укажите возможности ее использования в биоинженерии</u>	Ответ должен соответствовать основным аспектам, приведенным в эталонном ответе. Эталонный ответ: центральная догма молекулярной биологии – это фундаментальное правило, описывающее основные направления передачи генетической информации в живых системах. В классическом понимании центральная догма предполагает односторонний поток информации: от ДНК к РНК, а затем от РНК к белку, но не в обратную сторону: от белка к нуклеиновым кислотам. В рамках этой схемы выделяют три ключевых процесса: ДНК → ДНК – репликация ДНК, при которой генетическая информация копируется для передачи дочерним клеткам; ДНК → РНК – транскрипция, в ходе которой на матрице ДНК синтезируется молекула РНК (например, мРНК); РНК → белок – трансляция, при которой на рибосоме последовательно считываются кодоны мРНК и синтезируется полипептидная цепь. Современные представления о центральной догме несколько расширены по сравнению с классической моделью. Были открыты дополнительные пути передачи информации: РНК → РНК – репликация РНК, характерная, например, для РНК-содержащих вирусов, когда РНК служит матрицей для синтеза новых молекул РНК; РНК → ДНК – обратная транскрипция, при которой на матрице РНК синтезируется ДНК с помощью обратной транскриптазы (например, у ретровирусов); ДНК → белок – прямая трансляция на матрице ДНК, которая не происходит в живых клетках, но может быть воспроизведена in vitro в искусственных системах. В биоинженерии центральная догма лежит в основе большинства технологий: от клонирования и экспрессии генов до создания рекомбинантных штаммов и генетических конструкций. Понимание направлений передачи генетической информации позволяет целенаправленно управлять синтезом белков и других БАВ, а также разрабатывать методы диагностики, терапии и биотехнологического производства.	ПК-1