И. В. Тихонов, В. А. Гаврилов, Д. А. Девришов,
А. В. Васильев, М. Ю. Волков, Т. В. Заьолоцкая,
Е. А. Смирнова, И. В. Дрель

ПРАКТИКУМ
по биотехнологии

Рекомендовано Учебно-методическим объединением высших учебных заведений Российской Федерации по образованию в области зоотехнии и ветеринарии в качестве учебного пособия для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальностям 110401 -Зоотехния и 111201 - Ветеринария

Москва 2010

УДК 619:57.08(075)
Г1(691)

Тихонов И. В., Гаврилов В. Л.. Деврншов Д. А., Васильев Л.В.. Волков М. Ю. . Заболоцкая Т. В.. Смирнова Е. А., Дрель II. В. Практикум по биотехнологии: Учебное пособие. - VI.. 2010.330 с.

В настоящем «Практикуме» подробно изложены материалы большей части лабораторпо-практических занятий, предлагаемых студентам для освоения предмета «Биотехнология» по специальностям «Ветеринария» и «Зоотехния». В пособии приведены способы приготовления препаратов бактериальной и вирусной природы для изучения их методами световой и)лектрониой микроскопии, а также основные принципы приготовления питательных сред и дополнительных растворов. Весьма подробно описаны способы промышленного производства биопрепаратов, антибиотиков, ферментов и т.н., а также приведены методы получения и способы использования целевою продукта, включая диагностические препараты и готовые лекарственные формы. Особое внимание уделено вопросам контроля качества биотехнолог ических продуктов на стадиях изготовления и готового продукта. Все материалы изложены в соответствии с утвержденными «Программами...».

Рецензенты: *Шевелуха В.С.,* профессор каф. с.-х. биотехнологии ФГОУ ВПО РГАУ-МСХА им. К.А.Тимирязева, академик РАСХН, Лауреат государствен ной премии РФ, заслуженный деятель науки и техники Белоруссии, засл. деятель науки РФ; *Стяжкин* А:А"., начальник управления биологической защиты Управления начальника войск РХБ защиты ВС РФ, полковник, канд. техн. наук.

ISBN 978-5-903926-06-0

9 785903 926060

ВВЕДЕНИЕ

Используемое в настоящее время определение понятия «биотехнология» достаточно широко раскрывает сё основу и связь с дисциплинами не только вспомогательного, но и основополагающего взаимодействия. Опираясь на знания микробиологии, биохимии, генетики, генной инженерии, иммунологии и используя современное оборудование и приборы, биотехнология создаёт возможность получения практически всех необходимых для жизнедеятельности человека веществ и соединений как из дорогих, так и сравнительно дешёвых, доступных и возобновляемых материалов природного и искусственного происхождения.

Биотехнология использует микроорганизмы и вирусы, которые в процессе своей жизнедеятельности вырабатывают естественным путем необходимые нам вещества - витамины, ферменты, аминокислоты, органические кислоты, спирты, антибиотики и другие биологически активные соединения.

Живая клетка по своей организационной структуре, слаженности процессов. точности результатов, экономичности и рациональности является наглядным образцом для любого промышленного предприятия.

В настоящее время микроорганизмы используются, в основном, в трех видах биотехнологических процессов:

- для производства биомассы;
- для получения продуктов метаболизма, например этанола, антибиотиков. витаминов, органических кислот и др.;
- для переработки органических и неорганических соединений как природного, так и антропогенного происхождения.

В промышленном масштабе биотехнология представляет индустрию, в которой можно выделить следующие отрасли:

- производство полимеров и сырья для текстильной промышленности;
- получение метанола, этанола, биогаза, водорода и использование их в энергетике и химической промышленности;

- производство белка, аминокислот, витаминов, ферментов и т.д. путем крупномасштабного выращивания дрожжей, водорослей, бактерий;

- увеличение продуктивности сельскохозяйственных растений и животных;

- получение гербицидов и биоинсcктицидов;

- широкое внедрение методов генной инженерии при получении новых пород животных, сортов растений и выращивании тканевых и клеточных культур растительного и животного происхождения;

- переработка производственных и хозяйственных отходов, сточных вод, изготовление компостов с применением микроорганизмов;

- утилизация вредных выбросов нефти, химикатов, загрязняющих почву и воду;

- производство лечебно-профилактических и диагностических препаратов (вакцин, сывороток, ан тигенов, аллергенов, интерферонов, антибиотиков и др.).

Практически все биотехпологические процессы тесно связаны с жизнедеятельностью различных групп микроорганизмов - бактерий, вирусов, дрожжей, микроскопических грибов и т.п. и имеют ряд характерных особенностей.

1. Процесс микробного синтеза, как правило, является частью многостадийного производства, причем целевой продукт стадии биосинтеза часто пе является товарным и подлежит дальнейшей переработке.

2. При культивировании микроорганизмов обычно необходимо поддерживать асептические условия, ч то требует стерилизации оборудования, коммуникаций, сырья и др.

3. Культивирование микроорганизмов осуществляют в гетерогенных системах, физико-химические свойства которых в ходе процесса могу'1 существенно изменяться.

4. Технологический процесс характеризуется высокой вариабельностью из-за наличия в системе биологического объекта, т.е. популяции микроорганизмов.

5. Сложность и многофакторность механизмов регуляции роста микроорганизмов и биосинтеза продуктов метаболизма.

6. Сложность и в большинстве случаев отсутствие информации о качественном и количественном составе производственных питательных сред.

7. Относительно низкие концентрации целевых продуктов.

8. Способность процесса к саморегулированию.

9. Условия, оптимальные для роста микроорганизмов и для биосинтеза целевых продуктов, не всегда совпадают.

Микроорганизмы потребляют из окружающей среды вещества, растут, размножаются, выделяют жидкие и газообразные продукты метаболизма, тем самым реализуя те изменения в системе (накопление биомассы или продуктов метаболизма, потребление загрязняющих веществ), ради которых проводят процесс культивирования. Следовательно, микроорганизм можно рассматривать как центральный элемент биотехнологической системы, определяющий 'эффективность ее функционирования.

Как наиболее перспективные следует выделить следующие группы биологических объектов:

- рекомбинанты, т.е. организмы, полученные методами генетической инженерии;
- растительные и животные тканевые клетки;
- термофильные микроорг анизмы и ферменты;
- анаэробные организмы;
- ассоциации для превращения сложных субстратов;
- иммобилизованные биологические объекты.

Процесс искусственного создания биологического объекта (микроорганизма или тканевой клетки) состоит в изменении его генетической информации с целью исключить нежелательные и усилить нужные свойства или придать ему совершенно новые качества. Наиболее целенаправленные изменения можно получать путем рекомбинаций, перераспределяя гены или части генов и объединяя в одном организме генетическую информацию от двух и более организмов. Получение рекомбинантных организмов, в частности, можно осуществить методом слияния протопластов, путем переноса природных плазмид и методами генной инженерии.

К нетрадиционным биологическим агентам на данном -этапе развития биотехнологии относятся растительные и животные тканевые клетки. в том числе гибридомы, трансплантаты. Культуры клеток млекопитающих уже сейчас являются продуцентами интерферона и вирусных вакцин, в недалеком будущем осуществится крупномасштабное получение моноклопальных антител, поверхностных антигенов клеток человека, ангиогенных факторов.

Основные положения современной биотехнологии достаточно подробно изложены в учебнике «Биотехнология» под редакцией академика РАСХН Е. С. Воронина. Настоящее практическое пособие предназначе-

но для студентов сельскохозяйственных вузов и техникумов в качестве дополнительного методического материала по освоению основных положений биотехнологии, включая биотехнологичсские производства товаров народного потребления.

В «Практикуме» подробным образом приведены лабораторно-практические занятия для студентов по 23 темам, позволяющим начинающим специалистам освоить азы биотехнологической науки и практики в кратчайшие сроки. Данное пособие поможет студентам более глубоко познакомиться не только с материалами, которые они должны усвоить на лекционных и практических занятиях, но и значительно облегчить их самостоятельную подготовку.

Учитывая современные требования высшей школы об увеличении доли самостоятельной подготовки специалистов в рамках их обучения в высших и средне-специальных учебных заведениях, данное пособие можно рассматривать как первый шаг в этом направлении.

Мы надеемся, что это издание будет иметь научно-практический интерес и окажется полезным как для студентов, гак и преподавателей сельскохозяйственных образовательных учреждений. Мы с благодарностью примем и учтем в нашей дальнейшей работе все замечания и предложения по поводу содержания данного пособия.

Коллектив авторов

ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЪЕКТОВ БИОТЕХНОЛОГИИ. ОБЩАЯ СХЕМА И АППАРАТУРНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ. ПРАВИЛА РАБОТЫ С ОБОРУДОВАНИЕМ И КОНТРОЛЬНО-ИЗМЕРИТЕЛЬНЫМИ ПРИБОРАМИ

1. Цель занятия

1.1. Ознакомиться с объектами биотехнологии.

1.2. Изучить схему и аппаратурное обеспечение, необходимое для проведения биотехнологических процессов.

1.3. Ознакомиться с правилами проведения процесса культивирования микроорганизмов.

1.4. Изучить правила работы с контрольно-измерительными приборами.

2. Место проведения занятия: учебная лаборатория.

3. Длительность занятия: 2 академических часа.

4. Материальное обеспечение

4.1. Учебный плакат «График роста микроорганизмов».

4.2. Учебный плакат-схема «Конструкция биореактора».

4.3. Лабораторный биореактор и другая аппаратура и оборудование для технического обеспечения процесса культивирования микроорганизмов в суспензии.

5. Распределение рабочего времени (90 минут)

5.1. Организационные вопросы - 20 мин.

5.2. Теоретическая часть - 40 мин.

5.3. Практическая часть - 20 мин.

5.4. Уборка рабочего места 10 мин.

6. Содержание занятия

6.1. Теоретическая часть - технологические линии, стадии и этапы производства, требования к оборудованию процессов в биотехнологии и методы их совершенствования.

6.2. Практическая часть - изучить инструкции по эксплуатации биореактора и другого оборудования, собрать и разобрать лабораторный биореактор.

7. План проведения лабораторной работы

7.1. Изучить инструкции по эксплуатации биорсактора и другого оборудования.

7.2. Собрать и разобрать лабораторный биорсактор.

8. Основная литература

8.1. *Кавеицкий Т.Д., Васильев А.В.* Процессы и аппараты пищевой технологии: Учебник. - М.: Колос, 1997, 432 с.

8.2. *Калуияиц К.А., Толгер Л.И., Балашов В.Б.* Оборудование микробиологических производств: Учебник. - М.: Агропромиздат, 1987, 398 с.

8.3. *Ковалев С.В., Крипте Ю.И.* Процессы и аппараты биотехнологии: Учсбн. нос. - М.: ВАХЗ, 1998, 248 с.

8.4. *Тихонов И.В., Рубан Е.А., Грязнева Т.Н., Самуйлеико А.Я., Гиврилов В. А.* Биотехнология: Учебник / Под ред. акад. РАСХН Е.С. Воронина. - СПб: ГИОРД, 2005, 705 с.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ СОДЕРЖАНИЕ ЗАНЯТИЯ

1.1. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ЛИНИИ, СТАДИИ И ЭТАПЫ ПРОИЗВОДСТВА

Промышленное производство биопрепаратов представляет собой сложный комплекс взаимосвязанных физических, химических, биофизических. процессов и состоит из большого числа разнотипного оборудования, связанного между собой материальными, энергетическими потоками и образующего технологические линии. Характер этих связей может быть разнообразным: продукты и полупродукты, вырабатываемые в этих аппаратах, поступают в следующие по ходу процесса аппараты; сырье и энергия распределяются между различными потребителями.

Производство биопрепаратов осуществляется на технологических линиях производства противобактсриальных, противовирусных, диагностических препаратов, сывороток, глобулинов, пробиотиков, антибиотиков.

1.1.1. Технологические процессы

Технология производства биопрепаратов включает следующие операции:

1. Приготовление бактериальных и грибных препаратов:

- приготовление посевного материала;

• приготовление питательных сред;
• культивирование микроорганизмов;
• выделение и очистка препаратов;
• дезактивация отходов;
• стандартизация биопрепарата;
• расфасовка биопрепарата;
• укупорка и закатка флаконов.

2. Приготовление вирусных препаратов на примере противовирусных вакцин:

• приготовление культуры клеток;
• культивирование клеток;
• культивирование вируса;
• выделение и концентрирование вируса;
• очистка вируса;
• дезактивация вируса;
• стабилизация и стандартизация вакцины;
• расфасовка вакцины;
• лиофильное высушивание биопрепарата;
• укупорка и закатка флаконов.

К вспомогательным технологическим стадиям производства относятся;

• очистка и стерилизация воздуха;
• подготовка посуды и оборудования;
• очистка и стерилизация жидких продуктов;
' очистка и стерилизация продуктов производства;
• этикетировка и упаковка готовой продукции;
• утилизация твердых отходов.

3. Изготовление гипериммунных сывороток и глобулинов:

•подбор животных-продуцентов,
•грундиммунизация (фундирование),
•гипериммунизация животных-продуцентов,
•приготовление сывороточных препаратов.

4. Контроль качества биопрепаратов, стандартизация и сертификация:

• организация входного и технологического контроля качества сырья и материалов,

• контроль качества каждой изготовленной серии препарата по всем показателям,

• отбор образцов, выпущенных для реализации, с целью хранения их в музее архивных образцов ОБТК,

• соответствие основным нормативно-техническим документам (ГОСТ, ОСТ или ТУ),

• инспекционный контроль за качеством сертификационных препаратов в течение срока действия сертификата.

1.2. ТРЕБОВАНИЯ К ОБОРУДОВАНИЮ ПРОЦЕССОВ В БИОТЕХНОЛОГИИ И МЕТОДЫ ИХ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ

Число используемых процессов микробиологического синтеза достаточно велико. В зависимости от вида процесса, применяемого сырья и культуры микроорганизмов используется различное оборудование (исходя из предъявляемых требований к аппаратуре). Так, проведение анаэробных биотехнологических процессов (производство этанола, органических кислот, некоторых вакцин и др.) не требует подачи воздуха в аппарат, обычно не надо интенсивно перемешивать среду, а в ряде случаев отпадает необходимость соблюдать асептические условия культивирования (культивирование дрожжей).

Для осуществления аэробных процессов производства биологически активных веществ (антибиотиков, аминокислот, ферментов, антигенов, некоторых вакцин), напротив, необходимо обеспечить необходимую аэрацию и перемешивание культуральной жидкости, соблюдать строго асептические условия, решать сложные вопросы пеногашения и прочее. Поэтому возникает необходимость стерилизовать поступающий на участок и в аппаратуру воздух, «зонировать» помещения, стерилизовать приборы и аппараты.

Чтобы процесс культивирования микроорганизмов проходил продуктивно, необходимо соблюдать следующие правила:

1. Обеспечить подвод кислорода к клеткам и отвод образующегося диоксида углерода из культуральной жидкости (для аэробов).

2. Интенсивно перемешивать культуральную жидкость для ее гомогенизации, обеспечения доступа жидких и газообразных субстратов ко всем клеткам, для удаления застойных зон в среде.

3. Осуществлять стерилизацию биореактора и связанных с ним коммуникаций, обеспечить асептические условия проведения процесса культивирования.

4. Иметь системы контроля за ходом культивирования.

Трубопроводы, проводимые к биореакторам и др. аппаратам, с которыми они технологически связаны, должны располагаться системно и обеспечивать возможность их раздельной стерилизации. Конструктивное оформление биореактора определяется также выбранным способом отвода тепла. Известно, что в зависимости от природы микроорганизма и стадии его развития изменяется количество выделяемого тепла.

Выбор типа и конструкции биореактора зависит от пенообразующего свойства питательной среды и способа пеногашения. Под влиянием жиров и др. химических пеногасителей значительно изменяется проницаемость цитоплазматической мембраны у микроорганизмов, ухудшается обмен веществ, что в свою очередь приводит к ингибированию биосинтеза. Естественно поэтому стремление к полной или, если это возможно, хотя бы частичной замене химических средств пеногашения механическими, что влечет за собой конструктивные изменения аппарата.

Применение эффективных механических средств пеногашения без добавления химических пеногасителей усложняет конструкцию аппарата, но при этом значительно снижает расход дефицитных жиров и одновременно интенсифицирует биосинтез.

Значение процесса аэрации культуральной жидкости не ограничивается лишь доставкой молекулярного кислорода к клеткам. В последнее время все бо́льшее внимание исследований уделяется вопросам десорбции газообразных продуктов метаболизма и прежде всего диоксида углерода. Установлено, что лимитирующим фактором при культивировании может быть не массообмен по кислороду, а недостаточная интенсивность десорбции газообразных продуктов метаболизма. В частности, предполагается наличие как минимальной, так и максимальной критической концентрации диоксида углерода.

Процесс аэрации неизбежно сопровождается перемешиванием культуральной жидкости. Однако этот процесс неизбежно связан с механическим воздействием па клетки. Последствия этого воздействия могут быть благоприятными, если наблюдается разрушение конгломератов (гранул) клеток, и вредными, если наблюдается разрушение или повреждение клеток.

Следовательно, ***для каждого контрольного процесса культивирования перемешивание лимитирует процесс по одному из трех следующих направлений:***

1. Массопередача газ - жидкость (создать одинаково высокую турбулентность питательной среды по всему объему аппарата обычно не

удается, поэтому стремятся к тому, чтобы вся жидкость прошла через зоны, где турбулентность наиболее интенсивна).

2. Массопередача жидкость - клетка (определяется перемешиванием в околоклеточной зоне и зависит от размеров клетки).

3. Механическое воздействие на клетку зависит от срезывающих усилий, возникающих в жидкости из-за градиента скорости (сдвига). Количественно срезывающие усилия обычно характеризуются скоростью вращения мешалки.

4. Культуральные жидкости являются классическим примером жидкости, которая хорошо пени тся.

5. Пенообразование при аэробном процессе культивирования, безусловно, следует отнести к категории вредных явлений, осложняющих ведение процесса, поскольку:

- образование пены ведет к уменьшению коэффициента заполнения культиватора;
- увеличиваются потери из-за уноса культуральной жидкости;
- затрудняется борьба с загрязнениями, и могут выйти из строя фильтры для очистки аэрирующего воздуха;
- ухудшаются условия снабжения микроорганизмов O_2, питательными веществами и отвода продуктов метаболизма.

Для регулирования уровня пены при культивировании микроорганизмов и предотвращения ее выброса из биореактора используют различные методы. Их можно разделить на пять групп:

1. Воздействие па пену химическими и физическими средствами: использование питательных сред с пониженными пенообразующими свойствами, добавление ПАВ, уменьшающих прочность пленок пены.

2. Разрушение пены механическими, гидро- и аэродинамическими способами: ударное воздействие поверхностей деталей и элементов; воздействие жидкости или газа; сепарирование пены инерционными, центробежными и другими методами; легкое изменение давления газа в пене; захват и разрушение пены потоками перемешиваемой жидкости.

3. ***Разрушение пены при физических воздействиях:*** колебания звуковой и ультразвуковой частоты; термическое пеногашение острым паром или при помощи нагретой жидкости; электрическое пеногашение.

4. ***Стабилизация уровня пены путем временного уменьшения расхода аэрирующего воздуха:*** отключение механической мешалки, вывод избыточной пены из аппарата.

5. ***Комбинированные воздействия***: на практике применяются в основном химические и механические способы пеногашения, а также их сочетания.

Механические устройства для пеногашения бывают двух типов - вращающиеся и неподвижные (статические).

Действие вращающихся механических устройств пеногашения основано на разрушении пузырьков пены при контакте с их рабочими поверхностями. Гладкий диск, вращающийся с большой скоростью над поверхностью пены. - одна из простейших и наиболее характерных конструкций механического пеногасителя.

Комбинированные системы автоматического пеногашения позволяют более эффективно регулировать уровень пены в ферментере при минимальном расходе электроэнергии и химического пеногасителя. Стабильность уровня пены обеспечивает наиболее благоприятные условия для снабжения микроорг анизмов O_2 и отвода CO_2.

1.3. ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР

Достижения в области развития клеточных культур в первую очередь связаны с созданием широкого ассортимента культуральных и тканевых противовирусных вакцин.

Новый мощный стимул методы выращивания клеточных культур получили в результате разработки гибридомной и ДНК-реком-бинантной технологий, с помощью которых можно получить широкий спектр биопрепаратов и удешевить производство многих традиционных биологически активных веществ.

Необходимо отмстить, что аппаратурное оформление технологических стадий производства противовирусных вакцин существенно отличается от аппаратурного решения производства противобактериальных вакцин в силу своей строгой специфичности.

Развитие новых молекулярно-биологических методов и внедрение их в практику будет осуществляться на фоне успехов в разработке технологического оборудования и технических средств контроля и управления.

С помощью клеточных систем осуществляется лабораторное и промышленное производство различных биопрепаратов. Особо необходимо отметить достижения в гибридомной технологии, на базе которой удалось осуществить производство широкого спектра лечебных и диагностических моноклональных антител. Моноклональные антитела находят применение для лечебных целей и используются для очистки иммуноактивных препаратов.

С использованием клеточных культур осуществляется (в том числе и промышленным способом) производство многих иммуномодуляторов, лимфокинов (интерфероны, интерлейкины и другие препараты). Также налажено производство вирусных инсектицидов - препаратов, не загрязняющих биосферу, устраняющих вредных насекомых и оставляющих полезных живыми. Получаемый в культурах клеток этот вирусный продукт в настоящее время производится в относительно ограниченных масштабах.

Часть гормональных препаратов также предпочтительнее производить в культурах клеток (гормоны, имеющие 50-200 аминокислот).

Используемые питательные среды для систем клеток животных могут быть сложными (60 компонентов и более). В то же время исследователи располагают пока еще недостаточной информацией о том, что и как генерирует растущая клетка и что и как она секретирует в окружающую среду. Поэтому пока трудно сказать, какая конкретно потребуется новая среда, по она должна быть дешевле существующих, проще в изготовлении и применении, содержать бо́льшее число компонентов, обладающих химической определенностью, и отличаться большей универсальностью. Здесь необходимы дальнейшие исследования. Побудительной причиной и ориентиром проведения таких разработок могут служить требования, предъявляемые к системам, предназначенным для производства моноклональных антител.

Существуют два основных подхода к созданию необходимого оборудования. Первый подход предполагает создание оборудования, предназначенного для ведения в оптимальных условиях только данного специфического процесса. Второй подход заключается в том, чтобы сконструировать многоцелевое оборудование, способное выполнять любой вид работы из заданной программы.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА

Задание 1. *Произвести разборку и сборку лабораторного ферментёра.*

Задание 2. *Из имеющегося оборудования скомпоновать минитехнологическую линию для культивирования микроорганизмов.*

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Какое оборудование и приборы входят в аппаратурно-технологичеекую линию производства биопрепаратов?
2. Технологические линии, стадии и этапы производства.
3. Классификация способов и процессов культивирования микроорганизмов.
4. Параметры роста микроорганизмов.
5. Назовите фазы роста микроорганизмов.
6. Классификация биореакторов.
7. Требования к культивированию аэробов.
8. Особенности культивирования клеточных культур.
9. Пенообразование и пеногашение, сущность процессов.
10. Основные способы пеногашения в биореакторах.
11. Требования к производственным помещениям.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение 4

Характеристика объектов биотехнологии. Общая схема и аппаратурное обеспечение биотехнологических процессов. Правила работы с оборудованием и контрольно-измерительными приборами 7

Микроорганизмы - специфический элемент биотехнологических систем. Приготовление, окрашивание и микроскопия препаратов 16

Приготовление питательных основ, сред и дополнительных растворов 31

Основы и методы культивирования микроорганизмов. Непрерывное и периодическое культивирование. Фазы роста микробной культуры при периодическом культивировании 49

Поверхностное и глубинное культивирование микроорганизмов. Оборудование и приборы для промышленного культивирования микроорганизмов. Подготовка реакторов к работе. Режимы и технология стерилизации реакторов 62

Вирусы и клеточные культуры объекты биотехнологии. Методы культивирования вирусов в организме лабораторных животных, куриных эмбрионах и культурах клеток. Отработка методов идентификации вирусов в культуре клеток 70

Промышленное культивирование вирусов. Аппаратное обеспечение. Культивирование вирусов роллерным способом. Работа вирусологической лаборатории 83

Методы получения целевого продукта. Контроль количественных и качественных показателей целевого продукта 100

Технологический процесс. 'Ус зонный и производственный штаммы. Посевные микробные культуры, их приготовление и сертификация. Способы хранения и поддержания штаммов. Проверка чистоты культуры. Определение общей и биологической концентрации 113

Виды вакцин и технология их изготовления. Отработка методов инактивирования и аттенуирования вакцинных штаммов микроорганизмов 121

Основы производства гипериммунных сывороток и иммуноглобулинов. Получение гамма-глобулина риваноловым методом. Контроль качества готового препарата 132

Технология производства диагностических препаратов (сывороток. антигенов, аллергенов, бактериофагов и моноклональных антител). Методы диагностики инфекционных болезней 149
Современная классификация биопрепаратов 175
Методы высушивания биопрепаратов 186
Технология промышленного производства бактериофагов 202
Технология промышленного производства нробиотиков. Приготовление пи тательных сред для культивирования молочнокислых бактерий 218
Электронная микроскопия. Устройство электронного микроскопа. Методы подготовки биологических образцов для исследования в электронном микроскопе 233
Биотехнологические основы производства антибиотиков 249
Особенности получения готовых лекарственных форм биологических препаратов 265
Основные показатели контроля качества биопрепаратов и технологические приемы его проведения. Порядок регистрации и сертификации биопрепаратов 277
Культивирование гтлазмиды pBR 322 293
Получение моноклональных антител. Иммунизация мышей. Гибридизация мисломных и плазматических клеток, скрининг и клонирование гибридом 305
Использование тест-системы ПЦР для идентификации бактерий вида Bacillus anthracis 315