

Белорусский государственный университет

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе



А.Л. Толстик

« *10* » *сентября* 2012 г.

Регистрационный № УД-6068/уч.

Объекты биотехнологии

Учебная программа для специальности:

1-31 01 01 Биология

специализаций 1-31 01 01-01 25 Молекулярная биология

и 1-31 01 01-02 25 Молекулярная биология

2012 г.

СОСТАВИТЕЛЬ:

Ольга Борисовна Русь, доцент кафедры молекулярной биологии, кандидат химических наук, доцент

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Андрей Александрович Гилеп, заведующий лабораторией молекулярной диагностики и биотехнологии Государственного научного учреждения «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси», кандидат химических наук;

Татьяна Ивановна Дитченко, доцент кафедры физиологии и биохимии растений Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ В КАЧЕСТВЕ УЧЕБНОЙ:

Кафедрой молекулярной биологии Белорусского государственного университета (протокол № 9 от 30 января 2012 г.);

Учебно-методической комиссией биологического факультета Белорусского государственного университета (протокол № 7 от 14 марта 2012 г.).

Научно-методическим советом Белорусского государственного университета (протокол № 4 от 30 марта 2012 г.)

Ответственный за редакцию: Ольга Борисовна Русь

Ответственный за выпуск: Ольга Борисовна Русь

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Курс «Объекты биотехнологии» предназначен для студентов биологического факультета, специализирующихся на кафедре молекулярной биологии. Изучение данной дисциплины – важный этап в подготовке современных специалистов в области молекулярной биологии.

Цель курса – расширить у студентов представления об основных генетических конструкциях для экспрессии генов в разных про- и эукариотических системах и областях использования микроорганизмов, клеток растений, животных и др. объектов биотехнологии.

В задачу курса входит изучение векторных молекул для прокариотических и эукариотических систем; знакомство с особенностями клонирования и экспрессии генов в клетках бактерий, дрожжей, растений, животных; принципами культивирования клеток растений и животных и использования их в качестве «фабрик» для получения биологически активных соединений.

В ходе изучения данного курса студенты должны

знать:

- особенности клонирования и экспрессии генов в клетках прокариот и эукариот;
- основные векторы, используемые для клонирования и экспрессии в клетках прокариот и эукариот;
- способы культивирования клеток микроорганизмов, растений и животных;
- методы создания трансгенных растений и животных;
- способы повышения продуктивности промышленных объектов;
- примеры использования различных про- и эукариотических систем для получения рекомбинантных белков;
- сферы использования бактерий, дрожжей, мицелиальных грибов и т.д. в промышленности, сельском хозяйстве, медицине, охране окружающей среды и др.

уметь:

- уметь выделять основные группы микроорганизмов (продуцентов протеолитических, целлюлолитических, амилитических, пектолитических ферментов; молочнокислых бактерий, углеводородокисляющих бактерий, продуцентов антибиотиков и др.),
- уметь выделять препараты ДНК, создавать рекомбинантные молекулы и их анализировать;
- применять знания о закономерностях молекулярно-биологических процессов при изучении научной литературы по тематике курсовых и дипломных работ, а также при изучении смежных биологических дисциплин.

При чтении лекционного курса следует применять технические средства обучения для демонстрации иллюстраций, презентаций.

Для организации самостоятельной работы студентов по курсу необходимо использовать современные информационные технологии:

разместить в сетевом доступе комплекс учебных и учебно-методических материалов (программа, методические указания к лабораторным занятиям, список рекомендуемой литературы и информационных ресурсов, задания в тестовой форме для самоконтроля и др.).

Эффективность самостоятельной работы студентов целесообразно проверять в ходе текущего и итогового контроля знаний в форме устного опроса, коллоквиумов, тестового компьютерного контроля по темам и разделам курса. Для общей оценки качества усвоения студентами учебного материала рекомендуется использование рейтинговой системы.

Программа курса рассчитана на 94 часа, из них 44 аудиторных: 26 – лекционных, 14 – лабораторных занятий, 4 часа – контролируемой самостоятельной работы студентов.

ПРИМЕРНЫЙ ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН

№ п/п	Наименование разделов, тем	Количество часов				Самост. работа
		Аудиторные				
		Лекции	Практ., семинар.	Лаб. занятия	КСР	
1	Введение	2				2
2	Грамотрицательные бактерии	6		6	2	8
3	Грамположительные бактерии	8		6		6
4	Дрожжи	4				6
5	Мицелиальные грибы	2		2		6
6	Вирусы как объекты биотехнологии	2				6
7	Клетки растений и животных как объекты биотехнологии	2			2	16
	ИТОГО:	26		14	4	50

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

1. ВВЕДЕНИЕ

Основные объекты биотехнологии. Принципы подбора биотехнологических объектов. Модельные, базовые и промышленные объекты. Требования, предъявляемые к промышленным штаммам. Общая схема скрининга промышленных микроорганизмов. Выделение организмов-продуцентов. Способы повышения продуктивности промышленных объектов: ступенчатый отбор спонтанных мутантов, ступенчатый отбор индуцированных мутантов, отбор штаммов-продуцентов по их устойчивости к структурным аналогам целевого продукта и др. Генетическое конструирование штаммов-продуцентов - современный метод повышения продуктивности. Понятие

метаболической инженерии. Основные методические приемы метаболической инженерии.

2. ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ

Бактерии группы кишечной палочки. Строение экспрессионного вектора. Факторы, влияющие на процесс экспрессии на уровне ДНК, РНК, белка. Промоторы, используемые для экспрессии чужеродных генов в клетках *E. coli*. Подходы, применяемые к конструированию экспрессионных векторов, позволяющих получать гибридные и индивидуальные белки. Экспрессия белков с использованием T7 РНК-полимеразы и промоторной системы. Способы извлечения из клетки целевого белка. Способы стабилизации чужеродных белков. Экспрессия эукариотических генов в клетках *E. coli*. Конструирование штаммов-продуцентов первичных метаболитов на основе *E. coli*. Получение интерферона и соматостатина в клетках *E. coli*. Биосинтез инсулина человека в клетках *E. coli*. Получение гормона роста человека и интерлейкина в клетках *E. coli*. Использование других представителей группы кишечной палочки в биотехнологии.

Псевдомонады. Системы клонирования и экспрессии в клетках псевдомонад. Усовершенствование путей деградации ксенобиотиков в клетках псевдомонад. Получение биотехнологически значимых продуктов в клетках бактерий рода *Pseudomonas*. Использование бактерий рода *Pseudomonas* для деструкции загрязняющих веществ, создания биопрепаратов для защиты растений и т.д.

3. ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ

Бациллы. Молекулярно-биологическая характеристика рода *Bacillus*. Методы введения чужеродной ДНК в клетки бацилл. Векторы, используемые для клонирования в *Bacillus subtilis*. Экспрессия чужеродных генов в клетках *Bacillus* и ее оптимизация. Примеры использования бактерий рода *Bacillus* в биотехнологии. Получение микробных инсектицидов на основе *B. thuringiensis*.

Молочнокислые бактерии. Молекулярно-биологическая характеристика основных представителей молочнокислых бактерий. Конститутивные и контролируемые системы экспрессии. Метаболическая инженерия молочнокислых бактерий. Области использования молочнокислых бактерий (в пищевой промышленности, при получении силоса и др.).

Коринеформные бактерии. Характеристика основных представителей коринеформных бактерий. Плазмиды коринебактерий. Векторы для клонирования и экспрессии чужеродных генов в клетках коринебактерий.

Векторы для отбора промоторов. Коринебактерии как продуценты аминокислот (глутаминовой кислоты, лизина и др.).

Актиномицеты. Характеристика основных представителей актиномицетов. Векторы для молекулярного клонирования в стрептомицетах. Способы введения чужеродной ДНК в клетки стрептомицетов. Экспрессия чужеродных генов в стрептомицетах. Методы создания продуцентов антибиотиков и способы повышения продуктивности штаммов-продуцентов. Получение гетерологичных белков в клетках *Mycobacterium* и *Rhodococcus*.

Группа фототрофных бактерий и их использование в биотехнологии.

Бактерии, стимулирующие рост растений. Создание штаммов микроорганизмов, способных более эффективно стимулировать рост растений.

4. ДРОЖЖИ

Молекулярно-генетическая организация дрожжей. Жизненный цикл дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae*. Плазмиды *S. cerevisiae*. Дрожжевые вектора (YIp, YEp, YRp, YCp, YAC). Особенности трансформации клеток дрожжей. Экспрессия чужеродных генов в клетках дрожжей. Секреция гетерологичных белков дрожжами. Создание генно-инженерных штаммов дрожжей для продукции биологически активных веществ. Использование дрожжей в промышленности. Пути улучшения промышленных штаммов дрожжей.

5. МИЦЕЛИАЛЬНЫЕ ГРИБЫ

Характеристика основных представителей мицелиальных грибов. Клонирование и экспрессия чужеродных генов в мицелиальных грибах. Области применения мицелиальных грибов (получение антибиотиков, ферментов, органических кислот и др.).

6. ВИРУСЫ КАК ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

Бакуловирусы. Молекулярно-генетическая организация бакуловирусов: вирусы ядерного полиэдроза и гранулеза. Линии клеток насекомых, предназначенные для размножения рекомбинантного бакуловируса. Строение транспортного вектора. Особенности генно-инженерной системы на основе бакуловирусов и клеток насекомых. Создание бакмид. Области применения системы экспрессии на основе бакуловирусов и клеток насекомых. Система Multi-Vac, получение мультиферментных комплексов. Бакуловирусы как инструмент биоконтроля численности насекомых.

Вирусы животных. Векторные системы на основе вирусов животных. Создание рекомбинантных вакцин.

7. КЛЕТКИ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ КАК ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

Способы культивирования растительных клеток-продуцентов. Использование культур растительных клеток для получения вторичных метаболитов. Методы получения и культивирования протопластов растительных клеток. Перспективы использования растительных протопластов.

Методы культивирования клеток животных. Способы введения чужеродной ДНК в клетки млекопитающих. Создание линий клеток для суперпродукции биологически активных веществ. Получение моноклональных антител. Области применения моноклональных антител.

ЛИТЕРАТУРА

Основная:

1. *Глик Б.* Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак. М.: Мир, 2002.
2. *Щелкунов С.Н.* Генетическая инженерия / С.Н. Щелкунов. Новосибирск, Сибирское университетское издательство, 2004.
3. *Патрушев Л.И.* Экспрессия генов / Л.И. Патрушев. М.: Наука, 2000.
4. *Картель Н.А.* Биотехнология в растениеводстве / Н.А. Картель, А.В. Кильчевский. Минск: Технология, 2005.
5. *Рыбчин В.Н.* Основы генетической инженерии / В.Н. Рыбчин. Санкт-Петербург: Издательство СПбГТУ, 2002.

Дополнительная:

1. Клонирование ДНК. Методы / под ред. Д. Гловера. М.: Мир, 1988.
2. Новое в клонировании ДНК. Методы / под ред. Д. Гловера. М.: Мир, 1989.
3. Сельскохозяйственная биотехнология: векторные системы молекулярного клонирования. М.: Агропромиздат, 1991.
4. *Воронин Е.С.* Сельскохозяйственная биотехнология / Е.С. Воронин, Е.А. Калашникова, В.С. Шевелуха, 3-е изд. М: Высшая школа, 2008.
5. *Clark D.P.* Biotechnology. Applying the Genetic Revolution / D. P. Clark, N. J. Pazdernik. Elsevier Academic Press, 2009.
6. *Lewin B.* Genes VIII / Lewin B. Prentice Hall, 2004.
7. Lactic acid bacteria. Microbiological and functional aspects. 3d ed. / ed. by S. Salminen, A. Von Wright, A. Ouwehand, 2004.
8. *Sambamurthy K.* Pharmaceutical biotechnology. / K. Sambamurthy, A.S. Kar. New age international publishers, 2006.