

Белорусский государственный университет

УТВЕРЖДАЮ

Декан биологического
факультета



В.В. Лысак

« 01 » ноября 2011 г.

Регистрационный № УД-403/25р.

Селекция продуцентов

Учебная программа (рабочий вариант) для специальности:
1-31 01 01 Биология (по направлениям)
направлению специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология)

Факультет биологический
(название факультета)

Кафедра генетики
(название кафедры)

Курс (курсы) 4

Семестр (семестры) 7

Лекции 26
(количество часов)

Экзамен _____
(семестр)

Практические (семинарские)
занятия _____
(количество часов)

Зачет 7
(семестр)

Лабораторные
занятия 18
(количество часов)

Курсовой проект (работа) _____
(семестр)

КСР 4
(количество часов)

Всего аудиторных
часов по дисциплине 48
(количество часов)

Всего часов
по дисциплине 66
(количество часов)

Форма получения
высшего образования дневная

Составил(а) Е.А. Храмцова, к.б.н., доцент
(И.О., Фамилия, степень, звание)

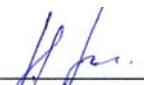
2011 г.

Учебная программа составлена на основе типовой учебной программы
(название типовой учебной
«Селекция продуцентов», 07.10.2011 г, регистрационный № ТД-Г 378/тип
программы (учебной программы (см. разделы 5-7 Порядка)), дата утверждения, регистрационный номер)

Рассмотрена и рекомендована к утверждению на заседании кафедры
генетики
(название кафедры)

07.10.2011 г., протокол № 3
(дата, номер протокола)

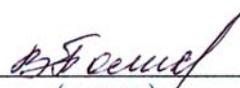
Заведующий кафедрой


(подпись) Н.П. Максимова
(И.О.Фамилия)

Одобрена и рекомендована к утверждению учебно-методической комиссией
биологического факультета

1.11. 2011 г., протокол № 3
(дата, номер протокола)

Председатель


(подпись) В.Д. Поликсенова
(И.О.Фамилия)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Курс «Селекция продуцентов» является одной из важнейших учебных дисциплин, предлагаемых студентам, обучающимся по специализации «Биотехнология». Данный курс раскрывает основные подходы к созданию высокоэффективных штаммов продуцентов, которые используются в биотехнологическом производстве.

Цель дисциплины – обучение студентов способам получения промышленных штаммов-продуцентов различных биологически активных соединений, а также применению полученных теоретических знаний в дальнейшей практической деятельности. Главной задачей дисциплины является ознакомление студентов со способами генетического конструирования штаммов-продуцентов *in vivo* и *in vitro*, дать представление о подборе исходных штаммов для селекции.

В курсе рассматриваются такие важные вопросы селекции продуцентов как получение мутантов с помощью направленного мутагенеза, использование методов гибридизации и принципов отбора штаммов-продуцентов. Подробно изучаются технологии получения промышленных продуцентов аминокислот, ферментов, антибиотиков, полисахаридов, липидов, витаминов, органических кислот и других биологически активных соединений. Кроме того, программа предусматривает изучение таких вопросов как оптимизация экспрессии генов, клонированных в клетках прокариот, особенностей конструирования продуцентов на основе эукариотических микроорганизмов.

Программа курса составлена с учетом межпредметных связей и программ по смежным дисциплинам биологического профиля («Микробиология», «Генетика», «Молекулярная биология», «Биотехнология» и др.).

В результате изучения дисциплины обучаемый должен:

знать:

- способы генетического конструирования штаммов-продуцентов биологически активных соединений *in vivo* и *in vitro*;
- принципы подбора исходного штамма для селекции, требования, предъявляемые к промышленным штаммам;

уметь:

- применить полученные теоретические знания в дальнейшей практической деятельности.
- применять полученные теоретические знания при изучении других биологических дисциплин.

Теоретические положения лекционного курса развиваются и закрепляются на лабораторных занятиях, при выполнении которых студенты приобретают навыки создания штаммов-продуцентов аминокислот и других биологически активных соединений.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

I. ВВЕДЕНИЕ

Микроорганизмы - важнейшие объекты селекции продуцентов. Цели и задачи селекции продуцентов. Основные направления развития селекции продуцентов.

Принципы подбора исходного штамма для селекции. Требования, предъявляемые к промышленным штаммам. Подготовка исходного штамма к селекции.

II. СПОСОБЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНСТРУИРОВАНИЯ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ IN VIVO

Мутагенез *in vivo*. Типы мутагенов, используемых при индуцированном мутагенезе. Способы отбора мутантов. Методы повышения продуктивности мутантов.

Получение рекомбинантов у грибов и дрожжей методом гибридизации. Конъюгация у бактерий. Создание систем конъюгационного переноса плазмид. Трансдукция как метод создания рекомбинантных геномов. Способы сближения *att*-сайтов: метод делеций, метод переноса генов в различные участки, метод слияния плазмид, метод необычной посадки профага, интеграция профага через области гомологии. Трансформация бактерий фаговыми и плазмидными ДНК. Особенности трансформации у дрожжей.

Мобильные генетические элементы про- и эукариот. Характер мутаций, вызываемых мобильными генетическими элементами. Транспозонный мутагенез. Векторы, используемые для введения транспозонов.

Протопласты и сферопласты микроорганизмов. Способы получения протопластов у грамположительных, грамотрицательных бактерий, грибов и дрожжей. Метод слияния протопластов и его использование для получения рекомбинантов у бактерий, грибов и дрожжей.

III. СПОСОБЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНСТРУИРОВАНИЯ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ IN VITRO

Характеристика ферментов, используемых в генной инженерии. Векторные молекулы ДНК. Определение вектора. Требования, предъявляемые к векторам. Плазмидные векторы, используемые для клонирования в клетках прокариот. Векторы для клонирования крупных фрагментов ДНК. Векторы на основе бактериофага λ . Космиды. Особенности клонирования генов с помощью космид. Фазмиды. Характеристика фазмидных векторов. Векторы на основе ДНК нитевидных фагов.

Создание геномной библиотеки. Скрининг полученной коллекции. Скрининг с помощью гибридизации, иммунологический скрининг, скрининг по активности белка. Мутагенез *in vitro*. Метод направленного мутагенеза и его модификации. Олигонуклеотид-направленный мутагенез с использованием ДНК фага M13. Олигонуклеотид-направленный мутагенез с использованием плазмидной ДНК. Олигонуклеотид-направленный мутагенез с использованием ПЦР-амплификации. Случайный мутагенез. Случайный мутагенез с использованием «вырожденных» олигонуклеотидных праймеров. Случайный мутагенез с использованием аналогов нуклеотидов.

IV. ОСОБЕННОСТИ КОНСТРУИРОВАНИЯ ПРОДУЦЕНТОВ НА ОСНОВЕ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Характеристика дрожжевых плазмид. Создание дрожжевых векторов типа YIp, YEр, YRp и мини-хромосом типа pYAC. Эукариотические экспрессирующие векторы. Секреция гетерологичных белков, синтезируемых *Saccharomyces cerevisiae*. Другие дрожжевые системы экспрессии. Секреция гетерологичных белков, синтезируемых *Pichia pastoris*. Экспрессирующие векторы на основе бакуловирусов. Бакмиды. Экспрессирующие векторы для работы с клетками млекопитающих.

V. ОПТИМИЗАЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ЧУЖЕРОДНЫХ ГЕНОВ В МИКРООРГАНИЗМАХ

Повышение экспрессии за счет эффективности транскрипции: использование сильных промоторов, использование регулируемых промоторов, мощного сайта инициации, регуляция расстояния между регуляторной областью и внедряемым геном. Регуляция эффективности трансляции: введение чужеродного гена без собственных регуляторных областей, присоединение сайта связывания рибосом, создание гибридного сайта связывания с рибосомами, добавление к концу клонированного гена терминирующего кодона, получение гибридного оперона, подавление протеолиза белков. Стабилизация белков. Метаболическая перегрузка.

VI. СЕЛЕКЦИЯ ПРОДУЦЕНТОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Селекция продуцентов аминокислот.

Характеристика основных групп микроорганизмов-продуцентов аминокислот. Основные тенденции в развитии селекции продуцентов аминокислот. Селекция продуцентов аминокислот семейства аспарагиновой кислоты. Селекция продуцентов ароматических аминокислот. Селекция продуцентов аминокислот семейства глутаминовой кислоты. Селекция продуцентов пролина и гистидина. Селекция продуцентов ферментов.

Преимущества использования микроорганизмов для создания продуцентов ферментов. Основные тенденции в развитии селекции продуцентов ферментов. Важнейшие классы ферментов, получаемых микробиологическим способом, их основные продуценты. Способы создания продуцентов ферментов. Мировое производство ферментов, основные производители. Селекция продуцентов полисахаридов. Характеристика микробных гликанов. Использование полисахаридов, получаемых микробиологическим способом. Тенденции в развитии селекции продуцентов полисахаридов. Селекция продуцентов липидов. Характеристика микробных липидов. Основные продуценты липидов среди бактерий, грибов и дрожжей. Селекция продуцентов липидов у дрожжей. Селекция продуцентов органических кислот. Характеристика штаммов, используемых для селекции продуцентов органических кислот. Способы конструирования микробных продуцентов органических кислот. Селекция продуцентов нуклеотидов. Использование нуклеотидов и их производных, полученных микробиологическим способом. Характеристика микробных продуцентов нуклеотидов. Получение АТФ, НАД и инозиновой кислоты. Селекция продуцентов витаминов. Характеристика микробных витаминов. Использование бактерий, грибов и дрожжей для создания продуцентов витаминов. Селекция продуцентов каротиноидов. Характеристика микробных каротиноидов. Микроорганизмы, используемые в селекции продуцентов каротиноидов. Селекция продуцентов фитогормонов. Конструирование штаммов-продуцентов гибберелинов и индолил-3-уксусной кислоты и способы повышения их продуктивности. Селекция продуцентов антибиотиков. Разнообразие антибиотических веществ, продуцируемых микроорганизмами. Антибиотики бактерий, актиномицет и мицелиальных грибов. Использование антибиотиков. Методы создания продуцентов антибиотиков и способы повышения их продуктивности.

Программа рассчитана максимально на 66 часов, в том числе 48 часов аудиторных: 28 – лекционных и 18 – лабораторных занятий и 2 часа контролируемой самостоятельной работы студентов.

ПРИМЕРНЫЙ ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН

№ разделов и тем	Наименование разделов и тем	Аудиторные часы			Самост. работа
		Лекции	Лабораторные занятия	КСР	
I.	Введение	2	-	-	
II.	Способы генетического конструирования штаммов-продуцентов <i>in vivo</i>	8		2	2
III.	Способы генетического конструирования штаммов-продуцентов <i>in vitro</i>	6	18		4
IV	Особенности конструирования продуцентов на основе эукариотических микроорганизмов	2	-	-	4
V	Оптимизация экспрессии чужеродных генов в микроорганизмах	2	-	-	4
VI	Селекция продуцентов биологически активных соединений	6	-	2	4
	ИТОГО:	26	18	4	18

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА

Номер раздела, темы, занятия	Название раздела, темы, занятия; перечень изучаемых вопросов	Количество аудиторных часов				Материальное обеспечение занятия (наглядные, методические пособия и др.)	Литература	Формы контроля знаний
		лекции	практические (семинарские) занятия	лабораторные занятия	контролируемая самостоятельная работа студента			
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	I. Введение. Микроорганизмы - важнейшие объекты селекции продуцентов. Цели и задачи селекции продуцентов. Основные направления развития селекции продуцентов. Принципы подбора исходного штамма для селекции. Требования, предъявляемые к промышленным штаммам. Подготовка исходного штамма к селекции.	2 2				мультимедийная презентация	ЛО 3-5	
2	Способы генетического конструирования штаммов-продуцентов <i>in vivo</i>	8				мультимедийная презентация	ЛО 1,4,5	
2.1	Мутагенез <i>in vivo</i> . Типы мутагенов, используемых при индуцированном мутагенезе. Способы отбора мутантов. Методы повышения продуктивности мутантов.	2			2			
2.2	Получение рекомбинантов у грибов и дрожжей методом гибридизации. Конъюгация у бактерий. Трансдукция как метод создания рекомбинантных геномов.. Трансформация бактерий фаговыми и плазмидными ДНК. Особенности трансформации у дрожжей. Мобильные генетические элементы про- и эукариот.. Транспозонный мутагенез.	4						

2.3	Протопласты и сферопласты микроорганизмов. Метод слияния протопластов и его использование для получения рекомбинантов у бактерий, грибов и дрожжей	2						
3	<p>III Способы генетического конструирования штаммов-продуцентов in vitro</p> <p>Характеристика ферментов, используемых в генной инженерии.</p> <p>Векторные молекулы ДНК.. Плазмидные векторы, используемые для клонирования в клетках прокариот. Векторы на основе бактериофага λ. Космиды. Фазмиды. Характеристика фазмидных векторов. Векторы на основе ДНК нитевидных фагов.</p> <p>Мутагенез in vitro. Метод направленного мутагенеза и его модификации. Случайный мутагенез. Случайный мутагенез с использованием «вырожденных» олигонуклеотидных праймеров. Случайный мутагенез с использованием аналогов нуклеотидов..</p>	6		18		Слайды для кадоскопа, мультимедийная презентация	ЛО 3.6; ЛД 2-4	
4	<p>IV. Особенности конструирования продуцентов на основе эукариотических микроорганизмов</p> <p>Характеристика дрожжевых плазмид.. Эукариотические экспрессирующие векторы. Секреция гетерологичных белков, синтезируемых <i>Saccharomyces cerevisiae</i>.</p>	2				мультимедийная презентация	ЛО 1,3,4,6; ЛД 1,5	
5	<p>V. Оптимизация экспрессии чужеродных генов в микроорганизмах</p> <p>Повышение экспрессии за счет эффективности транскрипции.омоторов, мощного сайта инициации, регуляция расстояния между регуляторной областью и внедряемым геном. Регуляция эффективности трансляции: введение чужеродного гена без собственных регуляторных</p>	4				мультимедийная презентация	ЛО 1,3-5; ЛД 4-6	

	областей, присоединение сайта связывания рибосом, создание гибридного сайта связывания с рибосомами, добавление к концу клонированного гена терминирующего кодона, получение гибридного оперона, подавление протеолиза белков. Стабилизация белков. Метаболическая перегрузка						
6	<p>VI. Селекция продуцентов биологически активных соединений</p> <p>Селекция продуцентов аминокислот.</p> <p>Характеристика основных групп микроорганизмов-продуцентов аминокислот.</p> <p>Селекция продуцентов ферментов.</p> <p>Селекция продуцентов полисахаридов.</p> <p>Селекция продуцентов липидов. Характеристика микробных липидов. Основные продуценты липидов среди бактерий, грибов и дрожжей.</p> <p>Селекция продуцентов органических кислот, нуклеотидов, витаминов, каротиноидов, гибберелинов и индолил-3-уксусной кислоты и способы повышения их продуктивности.</p> <p>Селекция продуцентов антибиотиков. Разнообразие антибиотических веществ, продуцируемых микроорганизмами. Антибиотики бактерий, актиномицет и мицелиальных грибов. Использование антибиотиков. Методы создания продуцентов антибиотиков и способы повышения их продуктивности.</p>	6			2	Слайды для кадоскопа, мультимедийная презентация	ЛО 1-6; ЛД 1-8

ИНФОРМАЦИОННАЯ ЧАСТЬ

Основная и дополнительная литература

№№ п/п	Список литературы	Год издания
Основная (ЛО)		
1.	<i>Глик Б.</i> Молекулярная биотехнология. Принципы и применение	2002
2.	<i>Щелкунов С.Н.</i> Основы генетической инженерии	2008.
3.	<i>Дебабов В. Г.</i> Современные методы создания промышленных штаммов микроорганизмов	1988
4.	<i>Негрук В. И.</i> Сельскохозяйственная биотехнология: векторные системы молекулярного клонирования.	1991
5.	<i>Егоров Н. С.</i> Промышленная микробиология.	1989
6.	<i>Хиггинс И.</i> Биотехнология. Принципы и применение.	1988
7.	<i>Елинов Н.П.</i> Основы биотехнологии .	1995
8.	<i>Рыбчин В.Н.</i> Основы генетической инженерии.	1999
Дополнительная (ЛД)		
1.	<i>Воробьева Л. И.</i> Пропионовокислые бактерии.	1995.
2.	<i>Готтишак Г.</i> Метаболизм бактерий.	1982
3.	<i>Жданова Н.И.</i> Методы селекции и свойства штаммов микроорганизмов-продуцентов аминокислот.	1989
4.	<i>Дебабов В. Г.</i> Генетика микроорганизмов и микробиологическая промышленность. Биотехнология.	1984.
5.	<i>Воробьева Л. И.</i> Промышленная микробиология.	1989
6.	www.molbiol.ru - Учебники, научные монографии, обзоры, лабораторные практикумы в свободном доступе на сайте практической молекулярной биологии.	
7.	www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank и www.swissprot.com - База данных по всем нуклеотидным последовательностям генов и первичным структурам белков в свободном доступе.	

ПЕРЕЧЕНЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ

(4 ч. каждое)

1. Определение токсического действия структурных аналогов триптофана на рост бактерий *Pseudomonas mendocina*
2. Получение регуляторных мутантов *P. mendocina*, устойчивых к токсическим аналогам триптофана
3. Отбор клонов *P. mendocina*, устойчивых к токсическим аналогам триптофана
4. Определение продукции триптофана и ИУК клетками регуляторных мутантов бактерии *P. mendocina*.

КОНТРОЛЬ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

(темы)

1. Селекция продуцентов вторичных метаболитов.

**ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ
ПО ИЗУЧАЕМОЙ УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ
С ДРУГИМИ ДИСЦИПЛИНАМИ СПЕЦИАЛЬНОСТИ**

Название дисциплины, с которой требуется согласование	Название кафедры	Предложения об изменениях в содержании учебной программы по изучаемой учебной дисциплине	Решение, принятое кафедрой, разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола)¹
1. Генетика	генетики		
2. Микробиология	микробиология		
3. Биохимия	биохимия		

**ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ
ПО ИЗУЧАЕМОЙ УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ
на ____ / ____ учебный год**

№№ ПП	Дополнения и изменения	Основание

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры
(протокол № ____ от _____ 20__ г.)

Заведующий кафедрой

_____ (степень, звание) _____ (подпись) _____ (И.О.Фамилия)

УТВЕРЖДАЮ
Декан факультета

_____ (степень, звание) _____ (подпись) _____ (И.О.Фамилия)

¹ При наличии предложений об изменениях в содержании учебной программы по изучаемой учебной дисциплине