

Белорусский государственный университет



**УТВЕРЖДАЮ**

Проректор по учебной работе

А.Л. Толстик

«01» ноября 2016 г.

Регистрационный № УД - 3240 /уч.

### Селекция продуцентов

**Учебная программа учреждения высшего образования  
по учебной дисциплине для специальностей:**

1-31 01 01 Биология (по направлениям)

направления специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология)

1-31 01 03 Микробиология

Учебная программа составлена на основе ОСВО 1-31 01 01-2013, ОСВО 1-31 01 03-2013, типовой учебной программы СЕЛЕКЦИЯ ПРОДУЦЕНТОВ. ТД-Г. 574/тип. 2016 г. и учебных планов УВО № G 31-131/уч. 2013 г., G 31-129/уч. 2013 г., G 31з-156/уч. 2013 г.

**СОСТАВИТЕЛИ:**

Храмцова Елена Аркадьевна, доцент кафедры генетики Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент;

Веремеенко Екатерина Геннадьевна, доцент кафедры генетики Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук

**РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:**

Кафедрой генетики Белорусского государственного университета (протокол № 6 от 25 октября 2016 г.);

Научно-методическим советом Белорусского государственного университета (протокол № 1 от 01 ноября 2016 г.)

## ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебная программа по учебной дисциплине «Селекция продуцентов» разработана в соответствии с требованиями образовательного стандарта высшего образования первой ступени по специальности 1-31 01 01 «Биология (по направлениям)». В рамках специальности 1-31 01 01 «Биология (по направлениям)» учебная дисциплина предназначена для студентов направления специальности 1-31 01 01-03 «Биология (биотехнология)» и относится к государственному компоненту цикла специальных дисциплин учебного плана. В качестве дисциплины компонента учреждения высшего образования учебная дисциплина «Селекция продуцентов» также предназначена для студентов специальности 1-31 01 03 «Микробиология».

**Цель учебной дисциплины** – обучение студентов способам получения промышленных штаммов-продуцентов различных биологически активных соединений, а также применению полученных теоретических знаний в дальнейшей практической деятельности.

**Задача учебной дисциплины** – ознакомление студентов со способами генетического конструирования штаммов-продуцентов *in vivo* и *in vitro*, дать представление о подборе исходных штаммов для селекции

Изучение учебной дисциплиной «Селекция продуцентов» базируется на знаниях студентов, полученных по учебным дисциплинам «Генетика», «Микробиология», «Введение в биотехнологию» и др. Сведения, полученные в рамках данной учебной дисциплины, создают базу, необходимую для усвоения материала учебных дисциплин «Выделение и очистка продуктов биотехнологий», «Биотехнология очистки промышленных отходов», «Регуляция метаболизма клетки» и др.

В результате изучения учебной дисциплины студент 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:**

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

**владеть:**

- методами подготовки исходных штаммов к селекции;
- приемами получения продуцентов первичных и вторичных метаболитов;
- навыками создания продуцентов с использованием мутагенеза *in vivo* и *in vitro*.

В соответствии с образовательными стандартами изучение учебной дисциплины «Селекция продуцентов» должно обеспечить формирование у

специалиста следующих компетенций:

АК-1. Уметь применять базовые научно-теоретические знания для решения теоретических и практических задач.

АК-2. Владеть системным и сравнительным анализом.

АК-3. Владеть исследовательскими навыками.

АК-4. Уметь работать самостоятельно.

ПК-1. Квалифицированно проводить научные исследования в области биохимии и молекулярной биологии, проводить анализ результатов экспериментальных исследований, формулировать из полученных результатов корректные выводы.

ПК-2. Осваивать новые модели, теории, методы исследования, участвовать в разработке новых методических подходов.

ПК-3. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научной литературе, составлять аналитические обзоры.

ПК-4. Готовить научные статьи, сообщения, рефераты доклады и материалы к презентациям.

ПК-5. Составлять и вести документацию по научным проектам исследований.

ПК-6. Квалифицированно проводить научно-производственные исследования, выбирать грамотные и экспериментально обоснованные методические подходы, давать рекомендации по практическому применению полученных результатов.

ПК-7. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научно-технических и других информационных источниках.

ПК-8. Организовывать работу по подготовке научных статей и заявок на изобретения и лично участвовать в ней.

ПК-9. Организовывать работу по обоснованию целесообразности научных проектов и исследований.

ПК-10. Составлять и вести документацию по научно-производственной деятельности.

ПК-11. Выполнять работы на современном производственном и лабораторном оборудовании, используя техническую документацию.

ПК-12. Подбирать соответствующее оборудование, аппаратуру, приборы и инструменты и использовать их при осуществлении производственной деятельности.

ПК-13. Учитывать основные принципы организации производств при выполнении профессиональной деятельности и обоснованно формулировать рекомендации по совершенствованию технологического процесса.

ПК-17. Владеть информацией о производствах, основанных на использовании биологических объектов в Республике Беларусь, странах ближнего и дальнего зарубежья, и использовать ее в производственной деятельности.

В соответствии с учебными планами очной формы получения образования программа учебной дисциплины рассчитана максимально на 100 часов, из них аудиторных 48 часов. Распределение по видам занятий: лекции

– 26 часов, лабораторные занятия – 18 часов, аудиторный контроль управляемой самостоятельной работы – 4 часа. Изучение учебной дисциплины осуществляется в 8 семестре.

В соответствии с учебным планом заочной формы получения образования программа учебной дисциплины рассчитана на 100 часов, из них аудиторных 14 часов. Распределение по видам занятий: лекции – 10 часов, лабораторные занятия – 4 часа. Изучение учебной дисциплины осуществляется в 7-8 семестрах.

Форма текущей аттестации по учебной дисциплине – экзамен.

## **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  $\lambda$ . 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 и способы повышения их продуктивности. Селекция продуцентов фармацевтически значимых соединений. 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.

**УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ**  
**Очная форма получения высшего образования**

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСР	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>1</b>	<b>Введение</b>	<b>2</b>						
<b>2</b>	<b>Способы генетического конструирования штаммов-продуцентов in vivo</b>	<b>8</b>			<b>18</b>		<b>4</b>	
2.1	Мутагенез in vivo.	2						
2.2	Получение рекомбинантов у грибов и дрожжей методом гибридизации.	2						
2.3	Трансформация бактерий фаговыми и плазмидными ДНК.	2						
2.4	Метод слияния протопластов и его использование для получения рекомбинантов у бактерий, грибов и дрожжей	2						
<b>3</b>	<b>Способы генетического конструирования штаммов-продуцентов in vitro</b>	<b>4</b>						
3.1	Векторы, используемые для клонирования в клетках про- и эукариот.	2						
3.2	Мутагенез in vitro	2						

<b>4</b>	<b>Особенности конструирования продуцентов на основе эукариотических микроорганизмов</b>	<b>2</b>						
<b>5</b>	<b>Оптимизация экспрессии чужеродных генов в микроорганизмах</b>	<b>4</b>						
5.1	Повышение экспрессии клонированных генов	2						
5.2	Метаболическая перегрузка	2						
<b>6</b>	<b>Селекция продуцентов биологически активных соединений</b>	<b>6</b>						
6.1	Селекция продуцентов аминокислот	2						
6.2	Селекция продуцентов вторичных метаболитов	2						
6.3	Селекция продуцентов антибиотиков	2						

**УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ**  
**Заочная форма получения высшего образования**

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСР	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное		
<b>1</b>	<b>Введение</b>	<b>2</b>						
<b>2</b>	<b>Способы генетического конструирования штаммов-продуцентов in vivo</b>	<b>4</b>			2			
2.1	Мутагенез in vivo.	2						
2.2	Получение рекомбинантов у микроорганизмов методом гибридизации.	2						
<b>3</b>	<b>Селекция продуцентов биологически активных соединений</b>	<b>4</b>			2			
3.1	Селекция продуцентов первичных метаболитов	2						
3.2	Селекция продуцентов вторичных метаболитов	2						

## ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

### ЛИТЕРАТУРА

Основная:

1. *Глик Б.* Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак. М.: Мир, 2002.
2. *Щелкунов С.Н.* Основы генетической инженерии / С.Н.Щелкунов. Новосибирск. Сибирское университетское издательство, 2008.
3. *Дебабов В. Г.* Современные методы создания промышленных штаммов микроорганизмов / В. Г. Дебабов, В. А. Лившиц. М.: Высш. шк., 1988.
4. *Негрук В. И.* Сельскохозяйственная биотехнология: векторные системы молекулярного клонирования / В. И. Негрук. М.: Агропромиздат., 1991.
5. *Егоров Н. С.* Промышленная микробиология / Н. С. Егоров. М.: Высш. шк., 1989.
6. *Хиггинс И.* Биотехнология. Принципы и применение / И. Хиггинс, Д. Бест, Дж. Джонс. М.: Мир, 1988.
7. *Елинов Н.П.* Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. СПб.: Наука, 1995.
8. *Рыбчин В.Н.* Основы генетической инженерии / В.Н. Рыбчин. СПб.: СПбГТУ, 1999.

Дополнительная:

1. *Воробьева Л. И.* Пропионовокислые бактерии / Л. И. Воробьева. М.: Изд-во МГУ, 1995.
2. *Готтшалк Г.* Метаболизм бактерий / Г. Готтшалк. М.: Мир, 1982.
3. *Жданова Н.И.* Методы селекции и свойства штаммов микроорганизмов-продуцентов аминокислот / Жданова Н.И., Гусятинер М.М. Обзор. СЭНТИ. М., 1989.
4. *Дебабов В. Г.* Генетика микроорганизмов и микробиологическая промышленность. Биотехнология. / В. Г. Дебабов. М.: Наука, 1984.
5. *Воробьева Л. И.* Промышленная микробиология / Л. И. Воробьева. М.: Высш. шк., 1989.
6. [www.molbiol.ru](http://www.molbiol.ru) - Учебники, научные монографии, обзоры, лабораторные практикумы в свободном доступе на сайте практической молекулярной биологии.
7. [www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank) и [www.swissprot.com](http://www.swissprot.com) - База данных по всем нуклеотидным последовательностям генов и первичным структурам белков в свободном доступе.

### ПЕРЕЧЕНЬ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ

В качестве формы итогового контроля по учебной дисциплине рекомендован зачет. Для текущего контроля качества усвоения знаний студентами можно использовать следующий диагностический инструментарий:

- защита индивидуальных заданий при выполнении лабораторных работ;
- защита подготовленного студентом реферата;
- проведение коллоквиума;
- устные опросы;
- письменные контрольные работы по отдельным темам курса;
- компьютерное тестирование.

### **ПЕРЕЧЕНЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ**

(очное отделение)

1. Определение токсического действия структурных аналогов триптофана на рост бактерий *Pseudomonas mendocina* (4 часа).
2. Получение регуляторных мутантов *P. mendocina*, устойчивых к токсическим аналогам триптофана (8 часов).
3. Отбор клонов *P. mendocina*, устойчивых к токсическим аналогам триптофана (4 часа).
4. Определение продукции триптофана и ИУК клетками регуляторных мутантов бактерии *P. mendocina* (2 часа).

### **ПЕРЕЧЕНЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ**

(заочное отделение)

1. Получение регуляторных мутантов *P. mendocina*, устойчивых к токсическим аналогам триптофана (2 часа).
2. Определение продукции триптофана и ИУК клетками регуляторных мутантов бактерии *P. mendocina* (2 часа).

### **МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОРГАНИЗАЦИИ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ**

Для организации самостоятельной работы студентов по учебной дисциплине следует использовать современные информационные технологии: разместить в сетевом доступе комплекс учебных и учебно-методических материалов (программа, курс лекций, мультимедийные презентации, методические указания к лабораторным занятиям, список рекомендуемой литературы и информационных ресурсов, задания в тестовой форме для самоконтроля и др.).

## ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ УВО

Название учебной дисциплины, с которой требуется согласование	Название кафедры	Предложения об изменениях в содержании учебной программы учреждения высшего образования по учебной дисциплине	Решение, принятое кафедрой, разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола)
Генетика	Генетики	Отсутствуют Зав. кафедрой Н.П. Максимова	Утвердить согласование протокол № 6 от 25 октября 2016 г.
Выделение и очистка продуктов биотехнологий	Биохимии	Отсутствуют Зав. кафедрой И.В. Семак	Утвердить согласование протокол № 6 от 25 октября 2016 г.
Биотехнология очистки промышленных отходов	Микробиологии	Отсутствуют Зав. кафедрой В.А. Прокулевич	Утвердить согласование протокол № 6 от 25 октября 2016 г.
Регуляция метаболизма клетки	Молекулярной биологии	Отсутствуют Зав. кафедрой А.Н. Евтушенков	Утвердить согласование протокол № 6 от 25 октября 2016 г.

**ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ УВО**  
на \_\_\_\_/\_\_\_\_ учебный год

№№ пп	Дополнения и изменения	Основание

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры  
\_\_\_\_\_ (название кафедры) (протокол № \_\_\_\_ от \_\_\_\_\_ 201\_ г.)

Заведующий кафедрой

\_\_\_\_\_ (ученая степень, ученое звание)

\_\_\_\_\_ (подпись)

\_\_\_\_\_ (И.О.Фамилия)

**УТВЕРЖДАЮ**  
Декан факультета

\_\_\_\_\_ (ученая степень, ученое звание)

\_\_\_\_\_ (подпись)