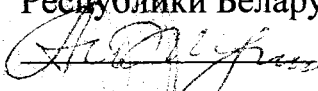


Министерство образования Республики Беларусь
Учебно-методическое объединение по естественнонаучному образованию

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра образования
Республики Беларусь

 А.И. Жук

07 10 2011 г.

Регистрационный № ТД-Г. 378 /тип.

Селекция продуцентов

Типовая учебная программа
для высших учебных заведений по специальности
1-31 01 01 Биология (по направлениям),
направлению специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология)

СОГЛАСОВАНО

Председатель Учебно-методического
объединения по естественно-
научному образованию

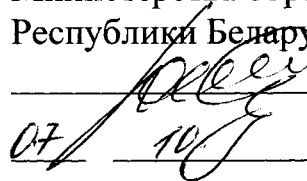
 Л. Толстик

07 10 2011 г.



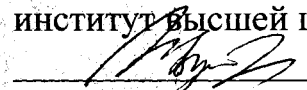
СОГЛАСОВАНО

Начальник Управления высшего и
среднего специального образования
Министерства образования
Республики Беларусь

 Ю.И. Миксюк

07 10 2011 г.

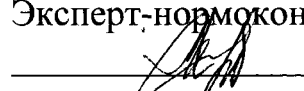
Проректор по учебной и воспитательной
работе Государственного учреждения
образования «Республиканский
институт высшей школы»

 В. И. Шупляк

22 06 2011 г.



Эксперт-нормоконтролер

 С.М. Артемьева

22 06 2011 г.



СОСТАВИТЕЛИ:

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

Наталья Павловна Максимова, заведующая кафедрой генетики биологического факультета Белорусского государственного университета, доктор биологических наук, профессор

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Кафедра биотехнологии и биоэкологии Учреждения образования «Белорусский государственный технологический университет»;

Александр Петрович Ермишин, заведующий лабораторией генетики картофеля Государственного научного учреждения «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, доктор биологических наук

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ В КАЧЕСТВЕ ТИПОВОЙ:

Кафедрой генетики Белорусского государственного университета (протокол № 2 от 14 сентября 2010 г.);

Научно-методическим советом Белорусского государственного университета (протокол № 1 от 03 ноября 2010 г.);

Научно-методическим советом по специальности 1-31 01 01 «Биология (по направлениям)» Учебно-методического объединения по естественному образованию (протокол № 8 от 16 ноября 2010 г.)

Ответственный за редакцию: Елена Аркадьевна Храмцова

Ответственный за выпуск: Елена Аркадьевна Храмцова

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Курс «Селекция продуцентов» 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** курса 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», «Молекулярные основы онтогенеза», «Введение в биотехнологию» и др.).

В результате изучения дисциплины обучаемый должен:

знать:

- принципы подбора исходного штамма микроорганизма для селекции и требования, предъявляемые к промышленным штаммам;
- получение продуцентов с помощью метода гибридизации, мутагенеза *in vivo* и направленного мутагенеза;
- конструирование продуцентов с помощью методов генетической инженерии;
- особенности конструирования продуцентов на основе эукариотических микроорганизмов;

уметь:

- использовать оптимальные подходы к получению продуцентов первичных и вторичных метаболитов;
- разрабатывать способы дерегуляции пути синтеза первичных и вторичных метаболитов;
- использовать подходы к созданию продуцентов с помощью методов генетической инженерии.

При чтении лекционного курса рекомендуется применять технические средства обучения для демонстрации слайдов и презентаций, наглядные материалы в виде таблиц и схем.

Для изучения курса, подготовки к практическим занятиям и КСР студентам можно использовать один из учебников, перечисленных в разделе «Литература. Основная». Для более углубленной подготовки студентам предлагается список дополнительной литературы, включающий учебные пособия, а также ссылки на источники информации в Интернете.

Для организации самостоятельной работы студентов по курсу рекомендуется 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.).

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.

Программа рассчитана на 66 часов, в том числе 48 часов аудиторных: 28 – лекционных и 20 – лабораторных занятий.

ПРИМЕРНЫЙ ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН

№ разделов и тем	Наименование разделов и тем	Аудиторные часы		
		Всего	Лекции	Лабораторные занятия
I.	Введение	2	2	-
II.	Способы генетического конструирования штаммов-продуцентов <i>in vivo</i>	28	8	20
III.	Способы генетического конструирования штаммов-продуцентов <i>in vitro</i>	6	6	-
IV.	Особенности конструирования продуцентов на основе эукариотических микроорганизмов	2	2	-
V.	Оптимизация экспрессии чужеродных генов в микроорганизмах	2	2	-
VI.	Селекция продуцентов биологически активных соединений	8	8	-
ИТОГО:		48	28	20

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.

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

ЛИТЕРАТУРА

О с н о в н а я:

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.

Д о п о л н и т е л ь н а я :

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 - 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.

КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ РЕЗУЛЬТАТОВ УЧЕБНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Баллы	Показатели оценки
1	2
1 (один) НЕЗАЧТЕНО	Отсутствие знаний и компетенций в рамках образовательного стандарта или отказ от ответа
2 (два) НЕЗАЧТЕНО	Фрагментарные знания в рамках образовательного стандарта; знание отдельных литературных источников, рекомендованных учебной программой дисциплины; неумение использовать научную терминологию дисциплины, наличие в ответе грубых ошибок; пассивность на лабораторных занятиях, низкий уровень культуры исполнения заданий
3 (три) НЕЗАЧТЕНО	Недостаточно полный объем знаний в рамках образовательного стандарта; знание части основной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины; использование научной терминологии, изложение ответа на вопросы с существенными ошибками; слабое владение инструментарием учебной дисциплины, некомпетентность в решении стандартных (типовых) задач; неумение ориентироваться в основных теориях, концепциях и направлениях

	изучаемой дисциплины; пассивность на лабораторных занятиях, низкий уровень культуры исполнения заданий
4 (четыре) ЗАЧТЕНО	Достаточный объем знаний в рамках образовательного стандарта; усвоение основной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины; использование научной терминологии, логическое изложение ответа на вопросы, умение делать выводы без существенных ошибок; владение инструментарием учебной дисциплины, умение его использовать в решении стандартных (типовых) задач; умение под руководством преподавателя решать стандартные (типовые) задачи; умение ориентироваться в основных теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им оценку; работа под руководством преподавателя на лабораторных занятиях, допустимый уровень исполнения заданий
5 (пять) ЗАЧТЕНО	Достаточные знания в объеме учебной программы; использование научной терминологии, грамотное логически правильное изложение ответа на вопросы, умение делать выводы; владение инструментарием учебной дисциплины, умение его использовать в решении учебных и профессиональных задач; способность самостоятельно принимать типовые решения в рамках учебной программы; усвоение основной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины; умение ориентироваться в базовых теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им сравнительную оценку; самостоятельная работа на лабораторных занятиях, фрагментарное участие в групповых обсуждениях, достаточный уровень культуры исполнения заданий
6 (шесть) ЗАЧТЕНО	Достаточно полные и систематизированные знания в объеме учебной программы; использование необходимой научной терминологии, грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы, умение делать обобщения и обоснованные выводы; владение инструментарием учебной дисциплины, умение его использовать в решении учебных и профессиональных задач; способность самостоятельно применять типовые решения в рамках учебной программы; усвоение основной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины; умение ориентироваться в базовых теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им сравнительную оценку; активная самостоятельная работа на лабораторных занятиях, периодическое участие в групповых обсуждениях, достаточный уровень культуры исполнения заданий
7 (семь) ЗАЧТЕНО	Систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы; использование научной терминологии (в том числе на иностранном языке), грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы, умение делать обоснованные выводы

	и обобщения; владение инструментарием учебной дисциплины, умение его использовать в постановке и решении научных и профессиональных задач; свободное владение типовыми решениями в рамках учебной программы; усвоение основной и дополнительной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины; умение ориентироваться в основных теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им аналитическую оценку; самостоятельная работа на лабораторных занятиях, участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий
8 (восемь) ЗАЧТЕНО	Систематизированные, глубокие и полные знания по всем поставленным вопросам в объеме учебной программы; использование научной терминологии (в том числе на иностранном языке), грамотное и логически правильное изложение ответа на вопросы, умение делать обоснованные выводы и обобщения; владение инструментарием учебной дисциплины (в том числе техникой информационных технологий), умение его использовать в постановке и решении научных и профессиональных задач; способность самостоятельно решать сложные проблемы в рамках учебной программы; усвоение основной и дополнительной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины; умение ориентироваться в основных теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им аналитическую оценку; активная самостоятельная работа на лабораторных занятиях, систематическое участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий
9 (девять) ЗАЧТЕНО	Систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы; точное использование научной терминологии (в том числе на иностранном языке), грамотное и логически правильное изложение ответа на вопросы; владение инструментарием учебной дисциплины, умение его эффективно использовать в постановке и решении научных и профессиональных задач; способность самостоятельно и творчески решать сложные проблемы в нестандартной ситуации в рамках учебной программы; полное усвоение основной и дополнительной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины; умение ориентироваться в теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им аналитическую оценку; систематическая, активная самостоятельная работа на лабораторных занятиях, творческое участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий

10 (десять) ЗАЧЕТНО	Систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы, а также по основным вопросам, выходящим за ее пределы; точное использование научной терминологии (в том числе на иностранном языке), грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы; безупречное владение инструментарием учебной дисциплины, умение его эффективно использовать в постановке и решении научных и профессиональных задач; способность самостоятельно и творчески решать сложные проблемы в нестандартной ситуации; полное и глубокое усвоение основной и дополнительной литературы по изучаемой учебной дисциплине; умение свободно ориентироваться в теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им аналитическую оценку, использовать научные достижения других дисциплин; творческая самостоятельная работа на лабораторных занятиях, активное творческое участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий
---------------------------	--

ПЕРЕЧЕНЬ РЕКОМЕНДУЕМЫХ СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ

Типовым учебным планом направления специальности 1-31 01 01-03 «Биология (биотехнология)» в качестве формы итогового контроля по дисциплине рекомендован зачет.

Для текущего контроля и самоконтроля знаний и умений студентов по данной дисциплине можно использовать следующий диагностический инструментарий:

- защита выполненных лабораторных работ;
- защита подготовленного студентом реферата;
- проведение устных опросов;
- письменные контрольные работы;
- проведение коллоквиума;
- компьютерные тесты по отдельным разделам (темам) дисциплины.