

**II ЛІТНЯ ШКОЛА "МОЛЕКУЛЯРНА  
МІКРОБІОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ",  
ОДЕСА, 14-26 ТРАВНЯ, 2007р.**

**II SUMMER SCHOOL "MOLECULAR MICROBIOLOGY  
AND BIOTECHNOLOGY",  
ODESA, MAY 14-26, 2007**

*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова МОН України, Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України, Товариство мікробіологів України імені С.М. Виноградського з 14 по 26 травня 2007 року організували та провели II Літню школу з молекулярної мікробіології і біотехнології. Перша Літня школа проходила з 15 по 31 травня 2006 року.*

На базі кафедри мікробіології і вірусології ОНУ проходили I і II Літні школи з молекулярної мікробіології і біотехнології. Матеріально-технічне забезпечення та витрати на проведення занять у школи взяв на себе Одеський національний університет імені І.І. Мечникова. Заняття проводили співробітники Інституту мікробіології і вірусології НАН України на чолі з завідувачем відділу молекулярної вірусології д.б.н. Ф.І.Товкачем та кафедри мікробіології і вірусології ОНУ. Навчання в II Літній школі пройшли 24 молоді викладачі, наукові співробітники, аспіранти, студенти Одеського національного університету імені І.І. Мечникова, Львівського національного університету імені Івана Франка, Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Програма теоретичного курсу «Автономні генетичні елементи бактерій: бактеріофаги, плазміди і транспозони», обсягом 20 годин, прочитаного Ф.І.Товкачем, включала такі питання:

Молекулярна генетика і молекулярна мікробіологія. Сучасні наукові концепції в молекулярній мікробіології. Біологічний метроном. Теорія нейтральної еволюції. Адаптивні мутації. Прокаріотно-еукаріотна дихотомія. Сучасні схеми класифікації прокаріотних і еукаріотних мікроорганізмів та вірусів. Домени життя.

Первинна послідовність геномів. Методи встановлення первинної послідовності — сіквенс. Бактеріальна геноміка. Топологія цілісних бактеріальних геномів. Ортологи і паралоги. Кластери ортологічних генів (COG). Концепція «найменшого» геному.

Автономні генетичні елементи бактерій. Інсерційні послідовності, транспозони, системи рестрикції-модифікації, плазміди, бактеріофаги, острівки і острови патогенності. Ієрархія і мобільність автономних генетичних елементів. Автономні генетичні елементи і виникнення нових патогенних бактерій.

Бактеріальні віруси. Сучасна класифікація бактеріофагів. Фаги з хвостовими відростками — порядок *Caudovirales*. Помірні і вірулентні бактеріофаги. Стратегія розвитку каудовірусів. Віруси еубактерій і архебактерій.



Фаги ентеробактерій і молочнокислих бактерій. Фаготерапія.

Геноміка профагів і островів патогенності. Фагова лізогенна конверсія. Фагові токсини. Концепція «моронів». Острови патогенності і система секреції III типу.

Дефектні бактеріофаги і бактеріоцини. Роль в міжбактеріальному антагонізмі. Перспективи використання бактеріоцинів – типування бактерій, біоконтроль бактеріальних популяцій і терапія раку.

Геноміка плазмід. Плазмідні детермінанти патогенності. Вектори на основі плазмід. Молекулярна генетика плазмиди pTi – C58 *Agrobacterium tumefaciens*. Трансгенні рослини.

Бактеріальні транспозони, IS-елементи, інтегрони і генні касети. Формування множинної антибіотикостійкості у бактерій. Концепція внутрішньогеномних перебудов – геномний інженеринг.

Екологія бактеріальних вірусів. Поширення і роль в глобальних обмінах речовини. Нові методи в екології бактеріофагів. Світовий океан і віріопланктон.

Учасники II Літньої школи пройшли практичний курс навчання обсягом 60 годин, який включав 5 лабораторних занять.

**Лабораторне заняття 1.** Фаги порядку *Caudovirales*. Бактеріофаги *Escherichia coli*: T7 (родина *Podoviridae*), лямбда (*Syphoviridae*), P1 і T4 (*Myoviridae*). Класифікація. Морфотипи, організація віріонів. Віріонна ДНК.

Титрування фагів. Фагові бляшки (плаки), їх зв'язок з морфотипом, розміром віріонів та природою вірусів.

Препаративне одержання фагових часток. Метод злитного лізису чутливої культури. Концентрування фагових часток методом ПЕГ-преципітації (процедура Ямамото).

Виділення віріонної ДНК. Правила роботи з ДНК.

Рестрикційний аналіз. Ідентифікація бактеріальних вірусів за рестрикційними патернами їх геномів.

**Лабораторне заняття 2.** Молекулярна генетика помірною коліфага P1. Загальна і спеціалізована P1-трансдукція генетичних маркерів. Плазмідний профаг. Фагова система рестрикції-модифікації EcoP.

Температурна індукція лізогена *E. coli* C600 [P1::Tn9 (Cm<sup>r</sup>cts 100)].

Одержання та тестування P1-лізогенів.

Плазмідні профілі лізогенів.

Обмеження продуктивного розвитку бактеріофага лямбда в клітинах *E. coli* (P1) за рахунок R/M системи EcoP1.

Лізогенізація фагом P1::Tn 9 клітин *Erwinia carotovora*.

Інкорпорація транспозона Tn9 в криптичну плазмиду pCA25 *E. carotovora*.

**Лабораторне заняття 3.** Плазмідні профілі бактерій. Форма і розмір позахромосомних кільцевих ДНК.

Особливості виділення плазмід у грамнегативних бактерій із природних екологічних ніш. Лужний метод Kado і Liu.

Ізоляція плазмідного профага P1 та плазмід ентеробактерій F, RP4, pCA25, pCA25::Tn9. Електрофоретичне розділення плазмідної ДНК. Залежність електрофоретичної рухливості ДНК від її розміру.

**Лабораторне заняття 4.** Транскон'югація і трансформація. Створення умов для горизонтального перенесення плазмід в бактеріальні клітини. Мобільність плазмід. Плазмідні вектори.

Транскон'югативні плазмиди. Перенесення плазмиди R68.45 із *E. coli* в *E. carotovora*. Селекція реципієнта і контрелекція донора. Частота транскон'югації.



Одержання кальцій-компетентних клітин та плазмідної ДНК.

Трансформація *E. coli* DH і JM109 голубими плазмідами pUC 18 і pBluescript. Частота трансформації. Плазмідні профілі транскон'югантів та трансформантів.

*Лабораторне заняття 5.* Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) – синтез певного фрагменту ДНК *in vitro*. Різновиди ПЛР. ПЛР-діагностика бактеріального раку винограду: виявлення послідовностей Ті-плазміди патогенних штамів *Agrobacterium tumefaciens* і *Agrobacterium vitis*. Метод "біо-ПЛР" у діагностиці хвороб рослин. Правила роботи у ПЛР-лабораторії.

Виділення плазмідної ДНК методом теплового лізису бактеріальних клітин. Реакційні суміші для проведення ПЛР.

Ампліфікація послідовностей Ті-плазміди штамів *Agrobacterium tumefaciens* і *Agrobacterium vitis*. Електрофорез продуктів ПЛР.

По завершенні учасники отримали посвідчення про те, що вони пройшли курс навчання в II Літній школі з молекулярної мікробіології і біотехнології.

**В.О. Іваниця**

