Белорусский государственный университет

Культура клеток, тканей и органов растений

Учебная программа учреждения высшего образования по учебной дисциплине для специальности:
1-31 01 01 Биология
направления 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология)

Факультет биологический
(название факультета)

Кафедра физиологии и биохимии растений
(название кафедры)

Курс (курсы) 4

Семестр (семестры) 7

Лекции 26
(количество часов)

Экзамен 7
(семестр)

Практические (семинарские) занятия _____
(количество часов)

Зачет _____
(семестр)

Лабораторные занятия 10
(количество часов)

Курсовой проект (работа) _____
(семестр)

УСР 4
(количество часов)

Всего аудиторных часов по дисциплине 40
(количество часов)

Всего часов по дисциплине 102
(количество часов)

Форма получения высшего образования дневная

Составил(а) Т.И. Дитченко, к.б.н., доцент
(И.О., Фамилия, степень, звание)

2013 г.

Учебная программа составлена на основе учебной программы учреждения высшего образования по учебной дисциплине «Культура клеток, тканей и органов растений», 18.03.2011 г, регистрационный № УД-4050/уч.

(название типовой учебной программы (учебной программы (см. разделы 5-7 Порядка)), дата утверждения, регистрационный номер)

Рассмотрена и рекомендована к утверждению на заседании кафедры физиологии и биохимии растений

(название кафедры)

30.05.2013 г., протокол № 27

(дата, номер протокола)

Заведующий кафедрой _____ В.В. Демидчик

(подпись) (И.О.Фамилия)

Одобрена и рекомендована к утверждению учебно-методической комиссией биологического факультета

30.05.2013 г., протокол № 10

(дата, номер протокола)

Председатель _____ В.Д. Поликсенова

(подпись) (И.О.Фамилия)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Культура клеток высших растений является уникальной экспериментально созданной биологической системой – популяцией дедифференцированных соматических клеток, имеющих возможность в определенных условиях регенерировать интактное растение. Такая система может служить модельным объектом для изучения многих биохимических и физиологических процессов в растительном организме. За последние десятилетия культура клеток из лабораторного метода превратилась в теоретическую и технологическую основу биотехнологии растений. Поэтому изучение биологии растительных клеток *in vitro* и возможностей их использования для создания перспективных, принципиально новых биотехнологий является важным компонентом подготовки студентов-биотехнологов.

Предметом курса «Культура клеток, тканей и органов растений» являются принципы и методы культивирования *in vitro* клеток и тканей растений, а также биотехнологии на их основе. Курс предусматривает изучение физиологических, цитологических и генетических особенностей, свойственных клеткам растений, культивируемым *in vitro,* поскольку такие знания совершенно необходимы для разработки современных биотехнологических методов и процессов.

Цель курса – освоение студентами теоретических основ и методических принципов культивирования клеток, тканей и органов растений и ознакомление с фундаментальными и прикладными аспектами использования культивируемых растительных клеток.

В **задачи дисциплины** входит изучение методов получения и поддержания в условиях *in vitro* каллусных, суспензионных культур, гаплоидных клеток, изолированных протопластов; изучение физиолого-биохимических процессов в растительных клетках в культуре, а также биотехнологий на основе культивируемых растительных клеток.

Учебная программа составлена с учетом межпредметных связей и учебных программам по смежным дисциплинам («Культивирование клеток», «Введение в биотехнологию», «Иммобилизованные клетки и ферменты» и др.).

В результате изучения учебной дисциплины обучаемый должен:

знать:

- технику введения в культуру и методы выращивания *in vitro* изолированных клеток и тканей растений;
- цитологические, генетические и физиолого-биохимические особенности популяций длительно культивируемых растительных клеток и тканей;
- перспективы использования клеточных культур для получения экономически важных биологически активных веществ;
- суть технологий микроклонального размножения растений и получения оздоровленного посадочного материала;
- технологии для облегчения и ускорения селекционного процесса, а также способы генетической трансформации растений;

- место и роль культуры клеток и тканей в сохранении генофонда высших растений.

уметь:

- осуществлять асептические процедуры по получению и пассированию каллусных и суспензионных культур;
- производить учет показателей роста клеточных культур, оценку их жизнеспособности и морфологических характеристик;
- определять направление морфогенеза в культуре клеток и тканей на основе варьирования соотношения ауксинов и цитокининов в питательной среде;
- применять знания об особенностях культивируемых растительных клеток при осуществлении биотехнологических процессов на их основе;

владеть:

- навыками работы в асептических условиях.

Программа учебного курса рассчитана на 102 часа, в том числе 40 часов аудиторных: 26 – лекционных, 10 – лабораторных занятий, 4 – управляемой самостоятельной работы.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

1. ВВЕДЕНИЕ

Культура клеток, тканей и органов растений: предмет, задачи. История развития методов культивирования изолированных клеток, тканей и органов растений. Значение культуры клеток, тканей и органов растений для решения фундаментальных проблем биологии. Культура клеток и тканей как основа биотехнологии растений.

2. МЕТОДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ IN VITRO КЛЕТОК И ТКАНЕЙ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Условия асептики при выполнении работ по культивированию растительных объектов *in vitro*. Методы и приемы стерилизации растительного материала при введении в культуру. Питательные среды. Регуляторы роста растений и их применение для культивирования растительных клеток и тканей *in vitro*. Влияние физических факторов на физиологическое состояние изолированных клеток и тканей растений.

Каллусные культуры. Роль каллусной ткани в интактном растении. Получение каллусных тканей *in vitro*. Молекулярно-физиологические основы процесса дедифференциации клеток. Типы каллусных культур и их характеристика. Субкультивирование каллусов. Показатели роста каллусных культур. Использование каллусных тканей в фундаментальных исследованиях и биотехнологии.

Суспензионные культуры. Основные преимущества культивирования клеточных суспензий. Способы получения суспензионных культур. Типы

клеточных суспензий. Факторы, влияющие на степень их агрегированности. Основные параметры суспензионных культур. Способы культивирования клеточных суспензий.

Культивирование одиночных клеток. Методы изолирования одиночных клеток. Методы выращивания *in vitro* одиночных клеток (метод культуры – няньки, метод плейтинга, метод микрокультуры). «Фактор кондиционирования». Значение культуры отдельных клеток для доказательства тотипотентности растительной клетки.

Культуры гаплоидных клеток. Методы получения гаплоидных растений. Основные пути андрогенеза. Факторы, влияющие на эффективность андрогенеза. Метод культуры пыльников и метод культуры микроспор, их преимущества и недостатки. Гиногенез *in vitro*. Способы идентификации гаплоидов.

Культуры изолированных протопластов. Использование изолированных протопластов для решения теоретических и прикладных проблем биологии. Методы получения протопластов. Условия и способы культивирования протопластов. Методы слияния протопластов, механизм слияния протопластов.

3. БИОЛОГИЯ КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ IN VITRO

Основные перестройки, происходящие при переводе клеток растений в культуру *in vitro*. Сравнительная характеристика соматических клеток высших растений и клеток, культивируемых в условиях *in vitro*. Морфологическая и генетическая гетерогенность популяций длительно культивируемых клеток высших растений. Сохранение эпигенетических особенностей растения донора. Асинхронность клеточных культур.

Рост клеток в культуре *in vitro*. Характеристика фаз ростового цикла. Способы синхронизации клеточных культур.

Дифференцировка клеток к культуре *in vitro*. Типы дифференцировки. Молекулярно-физиологические основы процесса дифференциации. Основные типы дифференцировки. Гистогенез. Физиологические аспекты стимуляции флоэмо- и ксилемогенеза. Морфогенез. Прямой и непрямой морфогенез. Морфофизиологическая характеристика ризогенеза, флорального и стеблевого органогенеза. Факторы, определяющие возможность и направленность процесса органогенеза. Соматический эмбриогенез. Регенерация растений.

4. БИОТЕХНОЛОГИИ НА ОСНОВЕ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК, ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ РАСТЕНИЙ

Биотехнологии клонального микроразмножения и оздоровления растений. Преимущества клонального микроразмножения в сравнении с традиционными методами вегетативного размножения растений. Области применения микроразмножения. Требования к объектам, используемым для клонального микроразмножения растений *in vitro*. Способы микроклонирования растений. Характеристика основных этапов

микроразмножения. Физиологические особенности регенерантов и необходимость в создании особых условий их адаптации *ex vitro*. Факторы, влияющие на эффективность процесса микроклонального размножения растений. Методы получения безвирусного посадочного материала, возможности и перспективы их использования.

Клеточные технологии получения экономически важных биологически активных веществ растительного происхождения. Преимущества использования клеточных культур в качестве продуцентов биологически активных веществ по сравнению с интактными растениями. Особенности вторичного метаболизма в культурах изолированных клеток высших растений. Факторы, влияющие на накопление вторичных метаболитов культивируемыми клетками растений.

Ферментерное выращивание биомассы клеток-продуцентов, конструктивные особенности биореакторов. Режимы культивирования растительных клеток в биореакторах. Этапы работ по созданию промышленных технологий для получения биологически активных веществ с помощью культивируемых клеток растений. Преимущества и перспективы использования иммобилизованных растительных клеток в биотехнологических производствах. Основные направления использования культивируемых растительных клеток для биотрансформации.

Культура изолированных клеток и тканей в селекции и генетической инженерии растений. Общая характеристика технологий на основе культивируемых растительных клеток, применяемых в селекции и генетике растений.

Использование метода эмбриокультуры для преодоления *in vitro* прогамной и постгамной несовместимости при скрещивании таксономически отдаленных партнеров. Культивирование незрелых гибридных зародышей. Экспериментальная гаплоидия. Основные преимущества и направления использования гаплоидов в генетической и селекционной работах. Сомаклональная вариабельность растительных клеток и ее использование в биотехнологии. Мутагенез и клеточная селекция растений в культуре *in vitro*. Гибридизация соматических клеток (межвидовая и межродовая) и ее роль в селекционном процессе. Цибридизация. Перенос клеточных органелл.

Генететическая трансформация растений. Основные направления в создании трансгенных растений. Общие принципы разработки конструкций для генетической трансформации растений. Характеристика методов введения экзогенного генетического материала в растительные клетки. Генетическая трансформация растений *in vitro* с помощью *Agrobacterium* spp. Баллистический метод генетической трансформации растений.

Использование культур растительных клеток для сохранение генофонда высших растений. Необходимость и проблемы сохранения генофонда растений. Особенности методов сохранения растительных культур *in vitro*. Характеристика пересадочных коллекций. Депонирование культур клеток, тканей и органов растений. Основные этапы технологии криоконсервации растительных объектов.

№ п/п	Наименование разделов, тем	Количество часов				
		Аудиторные				Самост. работа
		Лекции	Практ., семинар.	Лаб. занятия	КСР	
1	Введение	2	–	–	–	4
2	Методы культивирования *in vitro* клеток и тканей высших растений	10	–	8	–	22
3	Биология клеток высших растений *in vitro*	4	–	2	2	10
4	Биотехнологии на основе культивируемых клеток, тканей и органов растений	10	–	–	2	26
	ИТОГО:	**26**	**–**	**10**	**4**	**62**

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	**Введение.** Культура клеток, тканей и органов растений как метод и экспериментальная система. Значение для решения фундаментальных и прикладных проблем биологии.	**2** 2				Мульти-медийная презентация	ЛО 2,4,6	
	Методы культивирования *in vitro* клеток и тканей высших растений.	**10**		**8**				
2	2.1. Методы культивирования *in vitro* клеток, тканей и органов растений Общие требования к лаборатории. Условия асептики. Питательные среды. Физические факторы культивирования.	2		2		Мульти-медийная презентация	ЛО 1,3-7, 11 ЛД 3,4	
3	2.2. Каллусные культуры Получение каллусных культур. Молекулярно-физиологические основы процесса дедифференциации. Типы каллусов.	2		4		Мульти-медийная презентация	ЛО 1,3-7,11 ЛД 3,4	
4	2.3. Культуры клеточных суспензий. Культивирование одиночных клеток. Способы получения и культивирования клеточных суспензий. Основные параметры суспензионных культур. Методы культивирования *in vitro* одиночных клеток.	2		2		Мульти-медийная презентация	ЛО 1,3,4,6,11 ЛД 3,4	

5	2.4. Культуры гаплоидных клеток. Использование гаплоидов в селекционных и генетических работах. Андрогенез in vitro. Гиногенез in vitro. Идентификация гаплоидов.	2				Мульти-медийная презентация	ЛО 1,3,4,6,11 ЛД 3,4	
6	2.5. Культуры изолированных протопластов. Методы получения протопластов. Условия и способы культивирования изолированных протопластов. Слияние протопластов. Введение органелл.	2				Мульти-медийная презентация	ЛО 1,3,4,6,11 ЛД 3,4	
	Биология клеток высших растений *in vitro*.	**4**		**2**	**2**			Промежу-точный зачет
7	3.1. Особенности популяций длительно культивируемых *in vitro* растительных клеток. Морфологическая, физиолого-биохимическая, генетическая гетерогенность. Ростовой цикл, характеристика фаз ростового цикла. Способы синхронизации клеточных культур.	2				Мульти-медийная презентация	ЛО 2,3,6 ЛД 4	
8	3.2. Дифференцировка в культуре *in vitro*. Типы и основные этапы дифференцировки клеток. Гистогенез. Характеристика ризогенеза, флорального и стеблевого органогенеза, соматического эмбриогенеза.	2		2		Мульти-медийная презентация	ЛО 2,3,6 ЛД 3,4	
	Биотехнологии на основе культивируемых клеток, тканей и органов растений.	**10**			**2**			Промежу-точный зачет
9	4.4. Биотехнологии клонального микроразмножения и оздоровления растений. Способы микроклонального размножения. Основные этапы микроклонирования растений. Области применения. Методы получения безвирусного посадочного материла.	2				Мульти-медийная презентация	ЛО 1-3,6 ЛД 4	
10	4.2. Клеточные технологии получения экономически важных биологически активных веществ растительного происхождения. Особенности вторичного метаболизма в культурах изолированных клеток. Промышленное получение экономически ценных метаболитов с использованием культур клеток.	2				Мульти-медийная презентация	ЛО 1-3,6,9,10,12 ЛД 1,3,4	

11	4.3. Культура изолированных клеток и тканей в селекции растений. Оплодотворение *in vitro*. Экспериментальная гаплоидия. Сомаклональная вариабельность. Мутагенез и клеточная селекция. Соматическая гибридизация.	2				Мульти-медийная презентация	ЛО 1-3,6,9,10,12 ЛД 1,3,4	
12	4.4. Культура изолированных клеток и тканей в генетической инженерии растений. Генетическая трансформация растений. Общая характеристика методов. Основные направления в создании трансгенных растений.	2				Мульти-медийная презентация	ЛО 1-3,6,12 ЛД 2,4	
13	4.5. Сохранение генофонда растений. Пересадочные коллекции. Депонирование культур. Криосохранение.	2				Мульти-медийная презентация	ЛО 1-3,6,12 ЛД 4	

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Основная и дополнительная литература

№ п/п	Список литературы	Год издания
	Основная (ЛО)	
1.	**Биотехнология растений: культура клеток**	1989
2.	*Бутенко, Р.Г.* **Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: учеб. пособие**	1999
3.	*Валиханова, Г.Ж.* **Биотехнология растений**	1996
4.	*Войнов Н. А.* **Современные проблемы и методы биотехнологии: электрон. учеб. пособие**	2009
5.	*Войнов Н. А.* **Современные проблемы и методы биотехнологии: лаб. практикум**	2009
6.	*Дитченко, Т.И.* **Культура клеток, тканей и органов растений: курс лекций**	2007
7.	*Дитченко, Т.И.* **Культура клеток, тканей и органов растений: методические рекомендации к лабораторным занятиям, задания для контроля самостоятельной работы студентов**	2007
8.	*Егорова, Т.А.* **Основы биотехнологии: учеб. пособие**	2003
9.	*Картель, Н. А.* **Биотехнология в растениеводстве: учебник**	2005
10.	*Муромцев, Г.С.* **Основы сельскохозяйственной биотехнологии**	1990
11.	*Першина Л.А.* **Культивирование изолированных клеток и тканей высших растений: учеб. пособие. Ч. 1.**	2000
12.	*Шевелуха, В.С.* **Сельскохозяйственная биотехнология: учебник**	2003
	Дополнительная (ЛД)	
1.	**Биотехнология сельскохозяйственных растений**	1987
2.	*Глик, Б.* **Молекулярная биотехнология. Принципы и применение**	2002
3.	*Калинин*, Ф.Л. **Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений**	1980
4.	*Endreb R.* **Plant Cell Biotechnology**	1994

ПЕРЕЧЕНЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ

(2 ч. каждое)

1. Методы стерилизации при проведении работ с культурой изолированных клеток и тканей растений
2. Получение каллусной ткани и ее субкультивирование
3. Определение морфологических и ростовых показателей каллусных культур
4. Получение и субкультивирование суспензионной культуры. Оценка жизнеспособности клеток и степени агрегированности суспензионных культур
5. Влияние фитогормонов на направление морфогенеза в культуре клеток растений

ПЕРЕЧЕНЬ КОНТРОЛЬНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ УПРАВЛЯЕМОЙ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

(темы)

1. Биология клеток высших растений *in vitro*.
2. Биотехнологии на основе культивируемых клеток, тканей и органов растений.

ПЕРЕЧЕНЬ РЕКОМЕНДУЕМЫХ СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ

Для текущего контроля качества усвоения знаний студентами рекомендуется использовать следующий диагностический инструментарий:

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

СТРУКТУРА РЕЙТИНГОВОЙ ОЦЕНКИ ЗНАНИЙ

ИТОГОВАЯ ОЦЕНКА:

Определяется по формуле (минимум 4, максимум 10 баллов):

$$\textbf{Итоговая оценка} = \boldsymbol{A} \times 0{,}2 + \boldsymbol{Б} \times 0{,}8$$

где $\boldsymbol{A}$ – средний балл по лабораторным занятиям и КСР,
$\boldsymbol{Б}$ – экзаменационный балл

Итоговая оценка выставляется только в случае успешной сдачи экзамена (4 балла и выше)

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]**
Трансгенные эукариотические организмы	Микро-биологии		

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 _____ 201_ 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