

Белорусский государственный университет



« 10 » июня 2016 г.

Регистрационный № УД- 2120 /уч.

Культура клеток, тканей и органов растений

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

2016 г.

Учебная программа составлена на основе ОСВО 1-31 01 01-2013 и учебного плана УВО № G31-131/уч. 2013 г.

СОСТАВИТЕЛЬ:

Дитченко Татьяна Ивановна, доцент кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений Белорусского государственного университета (протокол № 24 от 19 мая 2016 г.);

Учебно-методической комиссией биологического факультета Белорусского государственного университета (протокол № 10 от 25 мая 2016 г.)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебная дисциплина «Культура клеток, тканей и органов растений» относится к компоненту УВО цикла специальных дисциплин учебного плана направления специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология) и является одним из спецкурсов.

Предметом учебной дисциплины «Культура клеток, тканей и органов растений» являются принципы и методы культивирования *in vitro* клеток и тканей растений, а также биотехнологии на их основе. Учебная дисциплина 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 учебной дисциплины – 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 учебной 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 программ по смежным дисциплинам («Культивирование клеток», «Введение в биотехнологию», «Иммобилизованные клетки и ферменты», «Трансгенные эукариотические организмы» 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 микрклонального 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.

В соответствии с учебным планом изучение учебной дисциплины осуществляется в 7 семестре. Программа рассчитана на 110 часов, в том числе 40 аудиторных часов, из них 26 – лекционных, 10 – лабораторных занятий, 4 часа – аудиторного контроля управляемой самостоятельной работы студентов. Форма текущей аттестации по учебной дисциплине – экзамен.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

1. ВВЕДЕНИЕ

Культура клеток, тканей и органов растений: предмет и задачи. Исторические этапы 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. МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ РАСТЕНИЙ *IN VITRO*

Условия и принципы культивирования растительных объектов in vitro. Требования к биотехнологической лаборатории для получения и поддержания культур клеток, тканей и органов растений. Условия асептики при выполнении работ по культивированию растительных объектов *in vitro*. Методы и приемы стерилизации растительного материала при введении в культуру.

Состав питательных сред и роль отдельных их компонентов. Фитогормоны и регуляторы роста как важнейшие компоненты питательных сред, их применение для культивирования растительных клеток и тканей *in vitro*. Варианты питательных сред и их назначение.

Основные требования к физическим условиям культивирования: температура, освещенность, аэрация, состав газовой фазы.

Рост клеток в культуре *in vitro*. Характеристика фаз ростового цикла. Показатели роста. Необходимость регулярных субкультивирований.

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. 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 и др.). «Фактор кондиционирования». Значение культуры отдельных клеток для доказательства тотипотентности растительной клетки.

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

3. БИОЛОГИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Особенности популяций длительно культивируемых *in vitro* растительных клеток. Сравнительная характеристика соматических клеток высших растений и клеток, культивируемых в условиях *in vitro*. Основные перестройки, происходящие при переводе клеток растений в культуру *in vitro*.

Цитоморфологическая гетерогенность каллусных и суспензионных культур. Физиолого-биохимические особенности растительных клеток в культуре *in vitro*. Асинхронность клеточных культур и способы их синхронизации. Явление «привыкания» (гормоннезависимость). Генетическая гетерогенность популяций длительно культивируемых растительных клеток: типы, причины, значение. Сохранение эпигенетических особенностей растения донора.

Типы дифференцировки в культуре *in vitro*. Клеточная дифференцировка. 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 размножения и оздоровления растений. Преимущества клонального размножения в сравнении с традиционными методами вегетативного размножения растений. Области применения клонального размножения. Требования к объектам, используемым для клонального размножения растений *in vitro*. Способы клонирования растений.

Характеристика основных этапов микроразмножения. Физиологические особенности регенерантов и необходимость в создании особых условий их адаптации *ex vitro*. Факторы, влияющие на эффективность процесса клонального размножения растений.

Методы получения безвирусного посадочного материала, возможности и перспективы их использования. Термотерапия, хемотерапия.

Биотехнологические способы сохранения генофонда 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.

Производство вторичных метаболитов культуре клеток и органов растений. Биотехнология лекарственных растений как источник фармакологически ценных вторичных соединений. Преимущества использования клеточных культур в качестве продуцентов биологически активных веществ по сравнению с интактными растениями. Тенденции развития биотехнологий лекарственных растений в производстве фармацевтически важных продуктов. Растения как «биореакторы» для получения рекомбинантных терапевтических белков.

Особенности вторичного метаболизма в культурах клеток и тканей растений. Регуляция синтеза вторичных метаболитов. Способы повышения выхода целевых продуктов. Оптимизация сред и режимов культивирования для аккумуляции биомассы и БАВ. Элиситация как фактор повышения выхода целевого продукта. Использование методов иммобилизации и биотрансформации.

Биотехнологические источники получения растительных вторичных метаболитов: суспензионные культуры и культуры трансформированных корней. Системы культивирования клеток для получения вторичных метаболитов. Ферментерное выращивание биомассы клеток-продуцентов, конструктивные особенности биореакторов. Режимы культивирования растительных клеток в биореакторах.

Техника получения культуры генетически трансформированных корней. Морфологические и биохимические особенности генетически трансформированных корней. Оптимизация роста и продуктивности культивируемых корней. Недостатки метода.

Технологии клеточной инженерии в селекции растений. Общая характеристика технологий на основе культивируемых растительных клеток, применяемых в селекции и генетике растений.

Гибридизация соматических клеток (межвидовая и межродовая) и ее роль в селекционном процессе. Методы слияния протопластов. Механизм слияния. Отбор продуктов слияния протопластов. Цибридизация. Перенос клеточных органелл.

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. 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.

Соматональная вариабельность растительных клеток и ее использование в биотехнологии. Основные направления практического использования клеточной селекции. Использование мутагенов для клеточной селекции. Основные методы клеточной селекции: прямая (позитивная), непрямая (негативная), визуальная, тотальная. Этапы клеточной селекции и получение растений-регенерантов.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСП	Формы контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские Занятия	Лабораторные занятия	Иное		
1	Введение	2						
2	Методические основы культивирования клеток и тканей растений <i>in vitro</i>							
2.1	Условия и принципы культивирования растительных объектов <i>in vitro</i>	2			2			
2.2	Каллусные и суспензионные культуры	2			6			
2.3	Культуры одиночных клеток и изолированных протопластов	2						
3	Биология растительных клеток в культуре <i>in vitro</i>							
3.1	Особенности популяций длительно культивируемых <i>in vitro</i> растительных клеток	2						
3.2	Типы дифференцировки в культуре <i>in vitro</i>	2			2	2	Письменная контрольная работа	
4	Биотехнологии на основе культивируемых клеток, тканей и органов растений							
4.1	Биотехнологии клонального размножения и оздоровления растений.	4						
4.2	Биотехнологические способы сохранения генофонда растений	2						
4.3	Производство вторичных метаболитов культуре клеток и органов растений	4						
4.4	Технологии клеточной инженерии в селекции растений	4				2	Письменная контрольная работа	

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

ПЕРЕЧЕНЬ ОСНОВНОЙ И ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная литература

1. Биотехнология: теория и практика / Н.В. Загоскина [и др.]; под общ. ред. Н.В. Загоскиной, Л.В. Назаренко. – М.: Издательство Оникс, 2009. – 496 с.
2. *Бутенко, Р.Г.* Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: учеб. пособие / Р.Г. Бутенко. – М.: ФБК–ПРЕСС, 1999. 160 с.
3. *Войнов Н.А.* Современные проблемы и методы биотехнологии: электрон. учеб. пособие / Н.А. Войнов, Т.Г. Волова, Н.В. Зобова и др. ; под науч. ред. Т.Г. Воловой. – Красноярск: ИПК СФУ, 2009.
4. *Дитченко, Т.И.* Культура клеток, тканей и органов растений: курс лекций / Т.И. Дитченко. – Мн.: БГУ, 2007.
5. *Ермишин, А.П.* Биотехнология растений и биобезопасность: пособие / А.П. Ермишин, Е.В. Воронкова. – Мн.: БГУ, 2015.

Дополнительная литература

1. Биотехнология биологически активных веществ / под ред. И.М. Грачевой, Л.А. Ивановой. – М.: Изд-во Элевар, 2006. – 453 с.
2. Биотехнология растений: культура клеток. М. : Агропромиздат, 1989. 280 с.
3. *Валиханова, Г.Ж.* Биотехнология растений / Г.Ж. Валиханова. Алматы : «Конжык», 1996. 272 с.
4. *Егорова, Т.А.* Основы биотехнологии: учеб. пособие / Т.А. Егорова, С.М. Клунова, Е.А. Живухина. М. : Изд. Центр «Академия», 2003. 208 с.
5. *Ефимова Н.В.* Введение в прикладную биотехнологию / Н.В. Ефимова. – Петропавловск-Камчатский: КамчатГТУ, 2004. – 95 с.
6. *Першина Л.А.* Культивирование изолированных клеток и тканей высших растений: учеб. пособие. Ч. 1. / Л.А. Першина. Новосибирск : НГУ, 2000. 46 с.
7. Сельскохозяйственная биотехнология: учебник / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, Е.С. Воронин [и др.]. М. : Высш. шк., 2003. 469 с.
8. *Цыренов, В.Ж.* Основы биотехнологии: культивирование клеток человека и животных. Учебно-методическое пособие / В.Ж. Цыренов. – Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ, 2005. – 48 с.

ПЕРЕЧЕНЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ

(2 ч. каждое)

1. Техника работы в ламинар-боксе.
2. Субкультивирование каллусных тканей
3. Определение морфологических и ростовых показателей каллусных культур
4. 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.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОРГАНИЗАЦИИ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

Для организации самостоятельной работы студентов по учебной дисциплине курсу 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.).

Эффективность самостоятельной работы студентов целесообразно проверять в ходе текущего и итогового контроля знаний. Для общей оценки качества усвоения студентами учебного материала рекомендуется использование рейтинговой системы.

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):

$$\text{Итоговая оценка} = A \times 0,3 + B \times 0,7$$

где *A* – средний балл по письменным контрольным работам,

B – 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	Микробиологии	Отсутствуют Зав. кафедрой Прокулевич В.А.	Утвердить согласование протокол № 24 от 19 мая 2016 г.
Культивирование клеток	Микробиологии	Отсутствуют Зав. кафедрой Прокулевич В.А.	Утвердить согласование протокол № 24 от 19 мая 2016 г.
Введение в биотехнологию	Молекулярной биологии	Отсутствуют Зав. кафедрой Евтушенков А.Н.	Утвердить согласование протокол № 24 от 19 мая 2016 г.
Иммобилизованные клетки и ферменты	Клеточной биологии и биоинженерии растений	Отсутствуют Зав. кафедрой Демидчик В.В.	Утвердить согласование протокол № 24 от 19 мая 2016 г.

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