

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ  
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

**Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений**

**НАБОРОВСКАЯ  
Анна Михайловна**

**ВОЗДЕЙСТВИЕ ИММОБИЛИЗАЦИИ В КАЛЬЦИЙ-АЛЬГИНАТ-  
ХИТОЗАНОВЫХ ГРАНУЛАХ НА БИОСИНТЕТИЧЕСКИЙ  
ПОТЕНЦИАЛ КЛЕТОК СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ  
*VINCA MINOR L.***

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:  
кандидат биологических наук,  
доцент С.Н. Филиппова

Допущена к защите

«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 г.

Зав. кафедрой клеточной биологии  
и биоинженерии растений,

доктор биологических наук, доцент В.В. Демидчик

Минск, 2018

# ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>РЕФЕРАТ</b>	5
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	8
<b>ГЛАВА 1. Обзор литературы</b>	11
1.1 Характеристика растения <i>Vinca minor</i> L.	11
1.1.1 Географическое распространение	11
1.1.2 Ботаническое описание	11
1.1.3 Биохимический состав вторичных метаболитов	13
1.1.4 Фармакологические свойства	14
1.2 Описание культур клеток и тканей растений	16
1.2.1 Морфо-физиологические особенности	16
1.2.2 Классификация	17
1.2.2.1 Каллусная культура	17
1.2.2.2 Суспензионная культура	18
1.2.2.3 Культура протопластов	19
1.2.2.4 Культура отдельных клеток	20
1.3 Иммобилизация клеток растений	21
1.3.1 Общая характеристика метода	21
1.3.2 Классификация иммобилизующих носителей	22
1.3.2.1 Органические полимерные носители	23
1.3.2.2 Неорганические носители	25
1.3.3 Иммобилизация в $\text{Ca}^{2+}$ -альгинатных гранулах	26
1.3.4 Иммобилизация в альгинат-хитозановых гранулах	28
<b>ГЛАВА 2. Материалы и методы</b>	32
2.1 Культивирование клеток каллусной ткани <i>Vinca minor</i> L.	32
2.2 Получение суспензионной культуры <i>Vinca minor</i> L.	32
2.3 Иммобилизация в монослойных $\text{Ca}^{2+}$ -альгинат-хитозановых гранулах	32
2.4 Иммобилизация в бислойных $\text{Ca}^{2+}$ -альгинат-хитозановых гранулах	34
2.5 Определение ростовых показателей	36
2.6 Анализ жизнеспособности клеток	36
2.7 Количественное определение суммы фенольных соединений	36
2.8 Количественное определение суммы флавоноидов	37
2.9 Статистическая обработка данных	37
<b>ГЛАВА 3. Результаты и их обсуждение</b>	39
3.1 Иммобилизация клеток суспензионной культуры <i>Vinca minor</i> L. в бислойных и монослойных $\text{Ca}^{2+}$ -альгинат-хитозановых гранулах	39
3.1.1 Оптимизация метода	39
3.1.1.1 Исследование растворимости хитозана	39
3.1.1.2 Определение оптимальных условий для формирования стабильных бислойных $\text{Ca}^{2+}$ -альгинат-хитозановых гранул	40

3.1.2 Влияние иммобилизации в бислойных и монослойных $\text{Ca}^{2+}$ -альгинат-хитозановых капсулах на физиолого-биохимические характеристики клеток суспензионной культуры <i>Vinca minor</i> L.	41
3.1.2.1 Оценка ростовых показателей	41
3.1.2.2 Анализ дегидрогеназной активности	44
3.1.2.3 Содержание суммы фенольных соединений и флавоноидов в иммобилизованных бислойных и монослойных $\text{Ca}^{2+}$ -альгинат-хитозановых капсулах клеток <i>Vinca minor</i> L.	45
3.2 Влияние альгината натрия на физиолого-биохимические характеристики клеток суспензионной культуры <i>Vinca minor</i> L.	48
3.2.1 Ростовые параметры	48
3.2.2 Содержание суммы фенольных соединений	50
3.2.3 Накопление флавоноидов	52
3.3 Влияние хитозана на физиолого-биохимические характеристики клеток суспензионной культуры <i>Vinca minor</i> L.	54
3.3.1 Ростовые параметры	54
3.3.2 Содержание суммы фенольных соединений	56
3.3.3 Накопление флавоноидов	58
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b>	60
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b>	61

## РЕФЕРАТ

Дипломная работа 64 с., 16 рис., 44 источника

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ИММОБИЛИЗАЦИЯ, АЛЬГИНАТ НАТРИЯ, ХИТОЗАН, СУСПЕНЗИОННАЯ КУЛЬТУРА, ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ, ФЛАВОНОИДЫ, *VINCA MINOR L.*

Объектом исследования служила суспензионная культура *Vinca minor L.*

Целью данной работы являлось установление закономерностей влияния инкапсулирования клеток суспензионной культуры *Vinca minor L.* в  $\text{Ca}^{2+}$ -альгинат-хитозановых гранулах на биосинтетический потенциал.

Основными методами исследования являлись метод иммобилизации клеток, морфометрические и спектрофотометрические.

В результате проведенной работы установлено, что иммобилизация клеток суспензионной культуры *Vinca minor L.* в монослойных  $\text{Ca}^{2+}$ -альгинат-хитозановых гранулах приводила к стимуляции экскреции вторичных метаболитов – суммы фенольных соединений и флавоноидов в экстрактах клеток и в среде инкубации, а в бислойных гранулах – в среде инкубации по сравнению со свободными клетками. Выявлены специфические особенности воздействия иммобилизации в монослойных и бислойных  $\text{Ca}^{2+}$ -альгинат-хитозановых гранулах, а также индивидуальных соединений – альгината натрия и хитозана на жизнеспособность, ростовые параметры, накопление фенольных соединений и флавоноидов в клетках и среде инкубации суспензионной культуры *Vinca minor L.* Определены оптимальные условия, приводящие к стимуляции вышеуказанных характеристик.

## РЭФЕРАТ

Дыпломная праца 64 с., 16 мал., 44 крыніцы

КЛЮЧАВЫЯ СЛОВЫ: ІМАБІЛІЗАЦЫЯ, АЛЬГІНАТ НАТРЫЮ, ХІТАЗАН, СУСПЕНЗІОННАЯ КУЛЬТУРА, ФЕНОЛЬНЫЯ ЗЛУЧЭННІ, ФЛАВАНОІДЫ, *VINCA MINOR L.*

Аб'ектам даследавання служыла суспензійная культура *Vinca minor L.*

Мэтай дадзенай працы з'яўлялася ўсталяванне заканамернасцяў уплыву інкапсуліравання клетак суспензійнай культуры *Vinca minor L.* у  $\text{Ca}^{2+}$ -альгінат-хітазанавых гранулах на біясінтэтычны патэнцыял.

Асноўнымі метадамі даследавання з'яўляліся метады імабілізацыі клетак, морфаметрычныя і спектрафотаметрычныя.

У выніку праведзенай работы ўстаноўлена, што імабілізацыя клетак суспензійнай культуры *Vinca minor L.* у монаслаёвых  $\text{Ca}^{2+}$ -альгінат-хітазанавых гранулах прыводзіла да стымуляцыі экскрэцыі другасных метабалітаў – сумы фенольных злучэнняў і флаваноідаў у экстрактах клетак і ў сераду інкубацыі, а ў біслойных гранулах – у сераду інкубацыі ў параўнанні са свабоднымі клеткамі. Выяўлены спецыфічныя асаблівасці ўздзеяння імабілізацыі ў монаслаёвых і біслаёвых  $\text{Ca}^{2+}$ -альгінат-хітазанавых гранулах, а таксама індыўідуальных злучэнняў – альгіната натрыю і хітазана на жыццяздольнасць, раставыя параметры, назапашванне фенольных злучэнняў і флаваноідаў у клетках і серадзе інкубацыі суспензійнай культуры *Vinca minor L.* Вызначаны аптымальныя ўмовы, якія прыводзяць да стымуляцыі вышэйзгаданых характарыстык.

## ABSTRACT

Course work 64 sec., 16 fig., 44 of the sources

KEYWORDS: IMMOBILIZATION, SODIUM ALGINATE, CHITOSAN, SUSPENSION CULTURE, PHENOLIC COMPOUNDS, FLAVONOIDES, *VINCA MINOR* L.

The object of the study was a suspension culture of *Vinca minor* L.

The aim of this study was to establish the regularities of influence of encapsulation of the suspension cell culture of *Vinca minor* L. in the Ca<sup>2+</sup>-alginate-chitosan granules on biosynthetic potential.

The main methods of investigation were the method of immobilization of cells, morphometric and spectrophotometric.

As a result of the work it found that the immobilization of the suspension cell culture of *Vinca minor* L. in monolayer Ca<sup>2+</sup>-alginate-chitosan granules led to stimulation of excretion of secondary metabolites – the sum of phenolic compounds and flavonoids in cell extracts and incubation medium, and in bilayer granules – in the incubation medium compared with free cells. The specific features of the impact of immobilization in monolayer and bilayer Ca<sup>2+</sup> - alginate-chitosan granules, as well as individual compounds – sodium alginate and chitosan on the viability, growth parameters, the accumulation of phenolic compounds and flavonoids in the cells and incubation medium of the suspension cell culture of *Vinca minor* L. The optimal conditions leading to the stimulation of above characteristics were determined.