

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ



УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе  
и образовательным инновациям

О.И.Чуприс

2019 г.

Регистрационный № УД- 7289/уч.

**Practicals on Cell and Molecular Biology**

**Учебная программа учреждения высшего образования  
по учебной дисциплине для специальности:**

1-31 80 01 Biology

профилизация Molecular and Cell Biology

2019 г.

Учебная программа составлена на основе ОСВО 1-31 80 01-2019 и учебного плана УВО № G 31a-092/уч. 2019 г., утвержденного 11.04.2019 г.

**СОСТАВИТЕЛЬ:**

В.В. Демидчик, декан биологического факультета Белорусского государственного университета, доктор биологических наук, профессор, доцент;

В.А. Костюк, профессор кафедры биохимии Белорусского государственного университета, доктор химических наук, доцент;

Е.А. Николайчик, доцент кафедры молекулярной биологии Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент;

С.В. Глушен, доцент кафедры генетики Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент;

В.С. Мацкевич, старший преподаватель кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений

**РЕЦЕНЗЕНТЫ:**

Л.Ф. Кабашникова, заведующий лабораторией прикладной биофизики и биохимии Государственного научно учреждения «Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси», доктор биологических наук, доцент;

А.В. Сидоров, профессор кафедры физиологии человека и животных Белорусского государственного университета, доктор биологических наук

**РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:**

Кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений  
(протокол № 23 от 24 июня 2019 г.)

Научно-методическим Советом БГУ  
(протокол № 5 от 28 июня 2019 г.)

Зав. кафедрой клеточной биологии  
и биоинженерии растений, к.б.н., доцент \_\_\_\_\_ И.И. Смолич



## ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

### **Цели и задачи учебной дисциплины**

**Цель** учебной дисциплины – сформировать у студентов практические навыки в области клеточной и молекулярной биологии, позволяющие разрабатывать фундаментальные и прикладные проблемы физиологии, биохимии, биофизики и биоинженерии.

### **Задачи учебной дисциплины:**

- 1) освоение методов электрофизиологии, анализа генерации активных форм кислорода и развития симптомов запрограммированной клеточной гибели и автофагии в клетках эукариот;
- 2) ознакомление с принципами исследований клеток с использованием различных типов микроскопии;
- 3) овладение приемами работы с культурами клеток растений и животных;
- 4) освоение методов статической цитометрии, определения жизнеспособности клеток с использованием флуоресцентных зондов;
- 5) приобретение навыков конструирования и анализа плазмидных конструкций.

### **Место учебной дисциплины** в системе подготовки магистра

Учебная дисциплина относится к компоненту учреждения высшего образования учебного плана и входит в учебный модуль «Методы клеточной биологии».

**Связи** с другими учебными дисциплинами, включая учебные дисциплины компонента учреждения высшего образования, дисциплины специализации и др.

Изучение учебной дисциплины «Практикум по клеточной и молекулярной биологии» базируется на знаниях, полученных студентами по учебным дисциплинам «Клеточная биология», «Методы биологических и экологических исследований». Учебная программа составлена с учетом межпредметных связей с учебными дисциплинами «Биоинформатика», «Сигнальная трансдукция у высших растений», Структурно-функциональная организация геномов».

### **Требования к компетенциям**

Освоение учебной дисциплины «Практикум по клеточной и молекулярной биологии» должно обеспечить формирование специализированной компетенции СК-4 «Владеть современными знаниями и практическими навыками в области электрофизиологии, анализа генерации активных форм кислорода и развития симптомов запрограммированной клеточной гибели и автофагии в клетках эукариот, быть способным разрабатывать фундаментальные и прикладные проблемы физиологии,

биохимии, биофизики и биоинженерии с использованием методов пэтч-кламп, фиксации потенциала, спектроскопии электронного парамагнитного резонанса и других современных подходов клеточной биологии».

В результате освоения учебной дисциплины студент должен:

**знать:**

- современные методические подходы, используемые в клеточной и молекулярной биологии;
- морфологические и биохимические симптомы запрограммированной гибели клеток у высших растений;
- физико-химические свойства триплетного кислорода, концепцию окислительного стресса, классификацию антиоксидантов, роль активных форм кислорода в жизни растений;
- основные пути биосигнализации у животных и растений, характеристик вторичных мессенджеров;

**уметь:**

- проводить определение количества ДНК в клетках животных и растений с помощью статической цитометрии;
- проводить определение жизнеспособности клеток с использованием флуоресцентных зондов;
- осуществлять конструирование и анализ плазмидных конструкций;
- использовать полимеразную цепную реакцию для изучения клеточных ответов;

**владеть:**

- приемами работы с культурами клеток растений и животных;
- протоколами методик обнаружения разрывов одно- и двухцепочечных ДНК;
- методами измерения продукции активных форм кислорода в живых системах;
- программными обеспечением для анализа изображений и построения графиков ImageJ, Sigmaplot10.0, Visio 2016, статистического анализа экспериментальных данных.

### **Структура учебной дисциплины**

Дисциплина изучается в 1-3 семестрах. Всего на изучение учебной дисциплины « Практикум по клеточной и молекулярной биологии » отведено:

– для очной формы получения высшего образования – 630 часов, в том числе 292 аудиторных часа, из них в 1 семестре: лекции – 4 часа, практические занятия – 120 часов, во 2 семестре: лекции – 4 часа, практические занятия – 94 часа, в 3 семестре: лекции – 4 часа, практические занятия – 66 часов.

Трудоемкость учебной дисциплины составляет 18 зачетных единиц.

Форма текущей аттестации – зачет (1, 2, 3 семестры).

# СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

## Section 1. Introduction

**Topic 1.1 Introduction to Cell and Molecular Biology.** Introduction to Biological research. Designing scientific papers and reports. Learning resources. Scientific information, plagiarism and referencing. Approaches used in Cell and Molecular Biology. Laboratory equipment. Toolkit for carrying out a scientific experiment.

## Section 2. The use of cell, tissue and whole plant cultures in Cell Biology and Biotechnology

**Topic 2.1 Seed harvesting and preservation.** Harvesting of wet and dry seeds. Storage conditions and facilities. Seed banks. Long-term storage. Germination testing. Seeds priming, scarification, warm and cold stratification. Seeds sterilization protocols.

**Topic 2.2 Growing plants in non-sterile conditions.** Nutrient solutions for plants: composition, solidifying agents, protocols. Knop's medium, Murashige and Scoog medium. Growing plants using roll method. Growing plants in pots in growth chambers, hydroponic systems.

**Topic 2.3 Growing plants in sterile conditions.** Sterilization of media and tools, laminar flow cabinets. Model plants used in plant cell biology and physiology studies. Obtaining an aseptic culture of *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. Growth tests using medium exchange technique. Cultivation of moss *Physcomitrella patens* L.

## Section 3. Introduction to the methods of animal cell cultivation

**Topic 3.1 Types of cultured animal cells.** Types of cultured cells, the benefits and guidelines for their use. Equipment and materials necessary for working with cell cultures.

**Topic 3.2 Basic techniques for working with cell cultures:** counting and determination of cell viability, cell seeding and removal. Methods of assessing cellular responses.

## Section 4. Methods of the cell cycle analysis

**Topic 4.1. The cell cycle model.** Genetic control of the cell cycle in animal and plants. Kinetics of cell populations.

**Topic 4.2. Analysis of cell proliferation.** Determination of the amount of DNA in cells in animals and plants with help of static cytometry. Application of the DNA-histogram method for the analysis of cell proliferation.

## **Section 5. Transport of substances through membranes**

**Topic 5.1 The structure and function of ion channels.** Transportation of substances and intracellular signaling processes. Molecular genetic analysis of ion channels. Measurement of potassium fluxes with K<sup>+</sup>-selective macroelectrode.

## **Section 6. Methods of detection and analysis of cell death**

**Topic 6.1. Contemporary forms of cell death.** Programmed cell death, apoptosis and necrosis. Types of programmed cell death in plants. Morphological and biochemical symptoms of programmed cell death in cells of higher plants. .

**Topic 6.2. Analysis of apoptosis and necrosis.** Methods of detection and analysis of apoptosis and necrosis in cell suspensions and tissue slices. Cell viability tests using fluorescent probes.

**Topic 6.3 DNA degradation and methods of its detection.** Genotoxicity. Apoptotic DNA fragmentation. Methods of its detection: The DNA laddering assay, the TUNEL assay, the single cell gel electrophoresis assay (Comet assay). Comet assay protocols for detecting single strand breaks and double strand breaks.

## **Section 7. Statistical analysis of experimental data**

**Topic 7.1 Statistical analysis of experimental data.** Representation of experimental data. Software for image analysis and graphs plotting: ImageJ, Sigmaplot10.0, Visio 2016. Graphs, histograms, box plots. Mean, standard deviation of the mean, standard error of the mean, p-value. Comparison of data with normal distribution. Statistical tests: t-test, one-way ANOVA test.

## **Section 8. Reactive oxygen species and their role in biological systems**

**Topic 8.1 Activation of triplet oxygen, general concepts of reactive oxygen species (ROS) and free radicals.** Physical and chemical properties of triplet oxygen, its activation and recovery. Evolutionary aspects of use and general concepts of ROS. The concepts of oxidizing agent, reducing agent, redox reactions and standard reduction potentials.

**Topic 8.2 The most important ROS in plant systems, the concept oxidative stress, antioxidants and ROS-dependent regulation.** The main ROS found in biological systems. Chemical and physical properties of ROS with biological activity. Hierarchy significance of individual ROS from the physiological point of view. Crossstock between individual ROS. Scheme of the formation of ROS in various cell compartments and plant tissues. Definition oxidative stress, its nature and consequences. Concept and classification antioxidants. General views on the regulatory role of ROS. ROS generation as a side mechanism and ROS synthesis for regulatory purposes *de novo*.

**Topic 8.3. Methods of measuring ROS production in living systems.** Tests on superoxide generation and its localization within cells and tissues:

colorimetry, spectrophotometry, electron spectroscopy paramagnetic resonance (EPR), use of fluorescent and luminescent probes, inherited indicators (HyPer) and other methods. Localization of superoxide synthesis in plant cells and tissues in connection with regulation of physiological functions.

## **Section 9. Design and analysis of plasmid constructs**

**Topic 9.1. Essential functional elements in plasmids of main vector types.** Plasmid vector databases. Software packages suitable for viewing and analysis of plasmid constructs. Restriction analysis *in silico* and planning of restriction digests.

**Topic 9.2. Modeling of molecular cloning experiments (virtual cloning).** Task 1: design of an expression plasmid. Task 2: design of a suicidal plasmid for gene knockout. Task 3: design of a plasmid for complementation assay.

## **Section 10. Design of synthetic oligonucleotides**

**Topic 10.1. Properties of oligonucleotides suitable for various purposes.** Reaction conditions influencing oligonucleotide properties. Principles of and software packages for calculation of oligonucleotide annealing temperature. Calculation of stability of stem-loop structures and oligonucleotide dimers. Multiplexing of PCR primers. Oligonucleotides with redundant bases.

**Topic 10.2. Checking oligonucleotide specificity with PrimerBLAST.** Task 1: design of oligonucleotides for hybridisation experiments. Task 2: design of oligonucleotides for routine and multiplex PCR. Task 3: design of oligonucleotide primers and hydrolysis probes for qualitative PCR.

## **Section 11. The use of PCR to study cellular responses**

**Topic 11.1. The use of PCR to study metabolic and signaling cellular responses** Methods for isolating total RNA from various sources. Protocol for the reverse transcription reaction. Selection of oligonucleotide primers. Real-time PCR using the intercalation dye Sybr Green. Calculation of mRNA expression of cell response by direct comparison of threshold cycles.

## **Section 12. Cellular biotechnology**

**Topic 12.1 Cellular cultures and their role in Cell and Molecular Biology studies.** Immortalised cell lines: HEK 293 (Human embryonic kidney 293), HeLa (cervical cancer cells from Henrietta Lacks), Their role in uncovering the mechanisms of the carcinogenesis. Using HEK293 expression system to study plant proteins.

### **Section 13. Biosignaling at the level of biomembranes**

**Topic 13.1 Second messenger systems.** The main biosignaling pathways in animals and plants, the relationship with secondary messenger systems and mineral exchange.  $\text{Ca}^{2+}$  signaling. Aequorin-based measurements of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$ -signatures in plant root cells.

### **Section 14. Genetically modified organisms and transgenic lines**

**Topic 14.1 Using GMO and transgenic lines in Cell and Molecular Biology, Biotechnology and Medicine.** Biotechnology based on the cultures of plant cells, tissues and organs (receiving economically important secondary metabolites, microclonal reproduction and plant recovery, cellular technologies in plant breeding, obtaining transgenic plants, preservation of the gene pool of rare and endangered species). Mutant and transgenic lines of *Arabidopsis thaliana*, their verification.



## УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

Дневная форма получения образования

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСР	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические Занятия	Семинарские Занятия	Лабораторные занятия	Иное		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>1</b>	<b>Introduction</b>							
1.1	Introduction to Cell and Molecular Biology	4						
<b>2</b>	<b>The use of cell, tissue and whole plant cultures in Cell Biology and Biotechnology</b>							устный опрос
2.1	Seed harvesting and preservation		6					
2.2	Growing plants in non-sterile conditions		12					
2.3	Growing plants in sterile conditions		16					
<b>3</b>	<b>Introduction to the methods of animal cell cultivation</b>							устный опрос
3.1	Types of cultured animal cells		10					
3.2	Basic techniques for working with cell cultures		10					
<b>4</b>	<b>Methods of the cell cycle analysis</b>							презентация
4.1	Cell cycle model		6					
4.2	Analysis of cell proliferation		16					

<b>5</b>	<b>Transport of substances through membranes</b>							
5.1	The structure and function of ion channels		6					
<b>6</b>	<b>Primary reactions of cells to stress</b>							устный опрос
6.1	Contemporary forms of cell death		10					
6.2	Analysis of apoptosis and necrosis		10					
6.3	DNA degradation and methods of its detection		12					
<b>7</b>	<b>Statistical analysis of experimental data</b>							отчеты по практическим задачам
7.1	Statistical analysis of experimental data		6					
<b>8</b>	<b>Reactive oxygen species and their role in biological systems</b>							реферат
8.1	Activation of triplet oxygen, general concepts of reactive oxygen species (ROS) and free radicals	4						
8.2	The most important ROS in plant systems, the concept oxidative stress, antioxidants and ROS-dependent regulation		12					
8.3	Methods of measuring ROS production in living systems		12					
<b>9</b>	<b>The use of PCR to study cellular responses</b>							презентация
9.1	The use of PCR to study metabolic and signaling cellular responses		20					
<b>10</b>	<b>Design and analysis of plasmid constructs</b>							отчеты по практическим задачам
10.1	Essential functional elements in plasmids of main vector types		12					
10.2	Modeling of molecular cloning experiments (virtual cloning).		12					

<b>11</b>	<b>Design of synthetic oligonucleotides</b>							отчеты по практическим задачам
11.1	Properties of oligonucleotides suitable for various purposes		12					
11.2	Checking oligonucleotide specificity with PrimerBLAST		14					
<b>12</b>	<b>Cellular biotechnology</b>							устный опрос
12.1	Cellular cultures and their role in Cell and Molecular Biology studies	4	18					
<b>13</b>	<b>Biosignaling at the level of biomembranes</b>							презентация
13.1	Second messenger systems		24					
<b>14</b>	<b>Genetically modified organisms and transgenic</b>							реферат
14.1	Using GMO and transgenic lines in Cell and Molecular Biology, Biotechnology and Medicine		24					

## **ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ**

### **Перечень основной литературы**

1. Molecular Cell Biology 8th edition / H. Lodish, et al. – New York, USA: W.H. Freeman and Company, 2016. – 1150 p.
2. Molecular Biology of the Cell 6th edition / B. Alberts, et al. – New York, USA: W.W. Norton & Company, 2014. – 1464 p.
3. Campbell Biology 11th Edition / N.A. Campbell & L.A. Urry, et al. – London, UK: Pearson, 2017. – 1488 p.
4. Essential Cell Biology 4th Edition / B. Alberts, et al. – New York, USA: Garland Science, 2013. – 864 p.

### **Перечень дополнительной литературы**

1. Instant Notes in Animal Biology 2nd edition / R.D. Jurd. – London, UK: Taylor & Francis (Bios), 2003. – 312 p.
2. Instant Notes in Plant Biology 2nd edition / A. Lack & D.E. Evans – London, UK: Taylor & Francis (Bios), 2001. – 370 p.
3. Cell Biology 3rd edition / T. Pollard, et al. – London, UK: Elsevier, 2016. – 908 p.
4. Cell Biology: A Short Course / S.R. Bolsover et al. – Hoboken, USA: John Wiley & Sons Inc., 2016. – 411 p.
5. The Biology of Cancer 2nd edition / R.A. Weinberg. – London, UK: Taylor & Francis, 2013. – 850 p.

### **Перечень рекомендуемых средств диагностики и методика формирования итоговой оценки**

Оценка за ответы на практических занятиях может включать в себя полноту ответа, наличие аргументов, примеров из практики и т.д.

При оценивании реферата обращается внимание на: содержание и полноту раскрытия темы, структуру и последовательность изложения, источники и их интерпретацию, корректность оформления и т.д.

В качестве средств диагностики также проводится контроль решения задач открытого и закрытого типа.

### **Описание инновационных подходов и методов к преподаванию учебной дисциплины**

При организации образовательного процесса используется практико-ориентированный подход, который предполагает:

- освоение содержания образования через решения практических задач;
- приобретение навыков эффективного выполнения разных видов профессиональной деятельности;

- ориентацию на генерирование идей, реализацию групповых студенческих проектов, развитие предпринимательской культуры;
- использованию процедур, способов оценивания, фиксирующих сформированность профессиональных компетенций.

При организации образовательного процесса также используются методы и приемы развития критического мышления, которые представляют собой систему, формирующую навыки работы с информацией в процессе чтения и письма; понимания информации как отправного, а не конечного пункта критического мышления.

### **Методические рекомендации по организации самостоятельной работы обучающихся**

При изучении учебной дисциплины рекомендуется использовать следующие формы самостоятельной работы:

- поиск (подбор) и обзор литературы и электронных источников по индивидуально заданной проблеме курса;
- работы, предусматривающие решение задач и выполнение упражнений, выдаваемых на практических занятиях;
- изучение материала, вынесенного на самостоятельную проработку;
- подготовка к практическим занятиям;
- подготовка к зачету;
- подготовка презентаций на заданные темы.

### **Примерный перечень вопросов к зачету**

1. Подходы, используемые в клеточной и молекулярной биологии.
2. Модельные растения, используемые в биологических и физиологических исследованиях. Использование клеточных, тканевых растительных культур в клеточной биологии и биотехнологии.
3. Выращивание растений в стерильных условиях: соблюдение условий асептики, питательные среды.
4. Типы культивируемых клеток животных и человека, преимущества и рекомендации по их применению.
5. Основные приемы работы с клеточными культурами.
6. Генетический контроль клеточного цикла у животных и растений. Кинетика клеточных популяций.
7. Структура и функции ионных каналов.
8. Молекулярно-генетический анализ ионных каналов.
9. Транспорт веществ и внутриклеточные сигнальные процессы.
10. Запрограммированная клеточная гибель: определение и типы.
11. Отличия запрограммированной клеточной гибели (ЗКГ) у растений и животных. Морфологические и биохимические симптомы апоптозоподобной ЗКГ в клетках высших растений.
12. Методика TUNEL.

13. Флуорофоры, флуоресцентные красители и флуоресцентные белки.
14. Принципы исследований клеток с использованием различных типов микроскопии.
15. Активные формы кислорода (АФК) и их роль в биологических системах.
16. Схема образования АФК в различных клеточных компартментах и растительных тканях.
17. Окислительный стресс, его природа и последствия. Понятие и классификация антиоксидантов.
18. Методы измерения продукции АФК в живых системах.
19. Плазмидно-векторные базы данных. Пакеты программ, подходящие для просмотра и анализа плазмидных конструкций.
20. Проверка специфичности олигонуклеотидов с помощью PrimerBLAST.
21. Методы выделения тотальной РНК из различных источников.
22. Использование ПЦР для изучения метаболических и сигнальных клеточных.
23. Вторичные посредники. Характеристика и роль в передаче внутриклеточного сигнала. Каскады реакций, запускаемых вторичными посредниками.
24. Культуры эукариотических клеток. Общая характеристика, методы получения, поддержания и применение.
25. Биотехнологические приемы на основе клеточных культур и знаний клеточной биологии.

## ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ УВО

Название учебной дисциплины, с которой требуется согласование	Название кафедры	Предложения об изменениях в содержании учебной программы учреждения высшего образования по учебной дисциплине	Решение, принятое кафедрой, разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола)
Структурно-функциональная организация геномов	Молекулярной биологии	Изменения не требуются	Утвердить согласование без внесения изменений, протокол № 23 от 24 июня 2019 г.
Биоинформатика	Биохимии	Изменения не требуются	Утвердить согласование без внесения изменений, протокол № 23 от 24 июня 2019 г.
Сигнальная трансдукция у высших растений	Клеточной биологии и биоинженерии растений	Изменения не требуются	Утвердить согласование без внесения изменений, протокол № 23 от 24 июня 2019 г.

**ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ ПО  
ИЗУЧАЕМОЙ УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ**

на \_\_\_\_ / \_\_\_\_ учебный год

№ п/п	Дополнения и изменения	Основание

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры  
\_\_\_\_\_ (протокол № \_\_\_\_ от \_\_\_\_\_ 201\_ г.)

Заведующий кафедрой

\_\_\_\_\_

УТВЕРЖДАЮ  
Декан факультета

\_\_\_\_\_