

Белорусский государственный университет


УТВЕРЖДАЮ
Проректор по учебной работе и
образовательным инновациям
_____ О.И. Чуприс

« 31 » мая 2018 г.

Регистрационный № УД - 5130 /уч.

Спецпрактикум

**Учебная программа учреждения высшего образования
по учебной дисциплине для специальности:
1-31 80 01 Биология**

2018 г.

Учебная программа составлена на основе ОСВО 1-31 80 01-2012 и учебного плана УВО № G 31-235/уч. 2017 г.

СОСТАВИТЕЛЬ:

Демидчик Вадим Викторович, заведующий кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений, доктор биологических наук, доцент

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений Белорусского государственного университета (протокол № 13 от 19 апреля 2018 г.);

Учебно-методической комиссией биологического факультета Белорусского государственного университета (протокол № 9 от 26 апреля 2018 г.)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебная программа по учебной дисциплине «Спецпрактикум» составлена с учетом требований следующих нормативных и методических документов:

Образовательный стандарт Республики Беларусь «Высшее образование. Вторая ступень (магистратура). Специальность 1-31 80 01 «Биология», утвержден постановлением Министерства образования Республики Беларусь от 24.08.2012 г. № 108, а также с учетом изменений и дополнений, утвержденных постановлением Министерства образования Республики Беларусь от 27.12.2017 г. № 163;

Учебный план по специальности 1-31 80 01 «Биология», утвержденный ректором 26.05.2017 г. (регистрационный № G 31-235/уч.).

Цель и задачи учебной дисциплины

Цель учебной дисциплины – приобретение навыков практической работы по культивированию растительных объектов для проведения работ в области клеточной биологии и биоинженерии, а также освоение современных биолюминесцентных, фотометрических, электрофизиологических и др. методов анализа.

В рамках поставленной цели **задачи учебной дисциплины** состоят в следующем:

1. Формирование практических навыков по культивированию растительных объектов в нестерильных и асептических условиях для проведения исследований в области клеточной биологии и биоинженерии растений.

2. Освоение методов анализа роста и развития растений на клеточном, тканевом и организменном уровнях с использованием инвертированной световой микроскопии, а также фото-и видеорегистрации.

3. Освоение методов анализа изменений активности ионов кальция в цитоплазме и генерации активных форм кислорода в клетках высших растений.

4. Ознакомление с техникой пэтч-кламп для анализа электрических характеристик мембран высших растений.

Место учебной дисциплины в системе подготовки магистра.

Учебная дисциплина относится к циклу дисциплин специальной подготовки, входит в компонент учреждения высшего образования и предназначена для магистрантов кафедры клеточной биологии биоинженерии растений.

Изучение учебной дисциплины «Спецпрактикум» базируется на знаниях, полученных студентами по учебным дисциплинам «Физиология растений», «Биофизика», «Культура клеток, тканей и органов растений» и др.

Программа составлена с учетом межпредметных связей с учебными дисциплинами «Клеточная биология», «Современные проблемы биологии»,

«Прикладные проблемы биологии, биотехнологии и экологии», «Биохимия мембран и межклеточных коммуникаций».

В результате освоения учебной дисциплины студент должен:

знать:

- принципы подготовки растительных объектов для исследований в области клеточной биологии и биоинженерии растений;
- подходы для регистрации симптомов запрограммированной клеточной гибели в тканях высших растений;
- химическую природу флуоресцентных зондов, разнообразие тестируемых процессов и основные протоколы их использования;

уметь:

- использовать рулонный метод культивирования растительных объектов в нестерильных условиях, в т.ч. для получения семян;
- проводить измерение и анализа роста высших растений на организменном, тканевом и клеточном уровнях;
- применять фотометрические методы для анализа изменений активности ионов кальция в цитоплазме и генерации активных форм кислорода в клетках высших растений;
- осуществлять регистрацию электрических параметров мембран при помощи техники пэтч-кламп;

владеть:

- техникой введения растительных объектов культуру *in vitro*, навыками их длительного поддержания в условиях *in vitro*;
- фотометрическими и электрофизиологическими методами, приемами инвертированной световой микроскопии и др.

Требования к компетенциям

Освоение учебной дисциплины «Спецпрактикум» должно обеспечить формирование следующих академических, социально-личностных и профессиональных компетенций:

академические компетенции:

АК-1. Иметь способность к самостоятельной научно-исследовательской деятельности (анализ, сопоставление, систематизация, абстрагирование, моделирование, проверка достоверности данных, принятие решений и др.), готовность генерировать и использовать новые идеи.

АК-2. Применять методологические знания и исследовательские умения, обеспечивающие решение задач научно-исследовательской, научно-производственной, производственной, научно-педагогической, управленческой и инновационной деятельности.

АК-3. Использовать междисциплинарный подход при решении проблем, совершенствовать навыки, связанные с использованием технических устройств, управлением информацией и работой с компьютером.

АК-4. Самостоятельно изучать новые методы исследований, приобретать новые знания и умения, в том числе в областях знаний, непосредственно не связанных со сферой деятельности, повышать свою квалификацию в течение всей жизни, обеспечивать личностное и профессиональное саморазвитие.

социально-личностные компетенции:

СЛК-4. Анализировать и принимать решения по социальным, этическим, научным и техническим проблемам, возникающим в профессиональной деятельности.

СЛК-6. Проявлять инициативу и креативность, в том числе в нестандартных ситуациях.

профессиональные компетенции:

ПК-1. Квалифицированно проводить научные исследования (осуществлять постановку научной проблемы, выбирать грамотные и экспериментально обоснованные методические подходы, проводить анализ результатов экспериментальных исследований, оценивать их достоверность и осуществлять статистическую обработку, формулировать из полученных результатов корректные выводы).

ПК-2. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научных, научно-технических и других информационных источниках, составлять аналитические обзоры;

ПК-3. Организовывать работу по подготовке научных статей, сообщений, рефератов и заявок на изобретения и лично участвовать в ней.

ПК-11. Выполнять работы на современном производственном и лабораторном оборудовании, используя техническую документацию.

Структура учебной дисциплины

Структура содержания учебной дисциплины включает такие дидактические единицы, как разделы, в соответствии с которыми разрабатываются и реализуются соответствующие лабораторные занятия.

Всего на изучение учебной дисциплины «Спецпрактикум» отведено 280 часов, в том числе 100 аудиторных часов. Примерное распределение аудиторных часов по видам занятий: лабораторные занятия – 100 часов.

Трудоемкость учебной дисциплины составляет 7 зачетных единиц.

Форма текущей аттестации – зачет.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

1. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ И БИОИНЖЕНЕРИИ

Основные технические подходы, используемые при культивировании растений в нестерильных условиях. Принципы подготовки растительного материала для исследований в области клеточной биологии и биоинженерии растений. Рулонный метод культивирования проростков высших растений. Культивирование растений *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (*A. thaliana*) и других видов для получения семян. Культивирование микроклонально-размноженных растений в условиях *ex vitro*. Черенкование древесных

растений, анализ формирования корневой системы у декоративных древесных растений.

Культивирование растений в стерильных условиях. Генерация и поддержание культуры целых растений *A. thaliana*. Техника введения в культуру *in vitro*. Микрочеренкование декоративных древесных растений в условиях *in vitro*. Генерация и поддержание культуры проростков *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume. Инициация и поддержание культуры *in vitro* *Physcomitrella patens* (*P. patens*). Индукция роста протонемы мха *P. patens*. Поддержание культуры *in vitro* однолетних и многолетних травянистых растений различных таксонов на примере наиболее важных сортов и культиваров земляники садовой, папоротников, гейхер и хост. Получение и культивирование каллусных культур *A. thaliana*.

2. ИЗМЕРЕНИЕ И АНАЛИЗ МОДИФИКАЦИИ РОСТА ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ НА ОРГАНИЗМЕННОМ, ТКАНЕВОМ И КЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ

Тестирование ростовых процессов с использованием объектов, выращенных в нестерильных условиях. Анализ длины основного корня у злаков и других сельскохозяйственных растений, выращенных рулонным методом. Использование открытых ростовых сосудов и систем секционной гидропоники для анализа скорости роста и формирования боковых корней у растений пшеницы, ячменя, гороха и подсолнечника. Анализ формирования и роста корневой системы у черенков декоративных древесных растений.

Измерение показателей роста растений в стандартизованных стерильных условиях. Тестирование воздействия химических агентов, введенных в среду культивирования, на рост проростков *A. thaliana* в вертикальной фитогелевой культуре. Техника замены среды и ее использование для анализа ростовых процессов у модельных растительных объектов. Анализ воздействия химических агентов, обладающих низкой термостабильностью, с использованием иммерсионного подхода. Использование компьютерной среды и специализированных приложений ImageJ для анализа ростовых процессов у высших растений.

3. ТЕСТИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ РАЗВИТИЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ НА ТКАНЕВОМ И КЛЕТОЧНОМ УРОВНЯХ

Измерение основных параметров архитектуры корня *A. thaliana* при помощи стандартной инвертированной световой микроскопии. Фото- и видеорегистрация ростовых процессов с использованием инвертированной световой микроскопии и CCD-камеры высокого разрешения. Анализ морфологии и анатомии протокормов семейства *Orchidaceae* Juss. Анализ качественных изменений анатомо-морфологических характеристик высших растений, вызываемых фитогормонами.

4. ИЗМЕРЕНИЕ И РЕГИСТРАЦИЯ СИМПТОМОВ ЗАПРОГРАММИРОВАННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ В ТКАНЯХ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Использование подходов инвертированной микроскопии для исследования процессов запрограммированной клеточной гибели в клетках коры корня и эпиблемы высших растений. Использование *Forsythia × intermedia* в качестве модельной системы для тестирования симптомов запрограммированной клеточной гибели у древесных растений. Тестирование жизнеспособности клеток высших растений с использованием красителя Evans Blue.

5. ФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ИЗМЕНЕНИЙ АКТИВНОСТИ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В ЦИТОПЛАЗМЕ И ГЕНЕРАЦИИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В КЛЕТКАХ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Тестирование целых корней *A. thaliana* для регистрации биолюминесцентных Ca^{2+} -зависимых сигналов. Анализ Ca^{2+} -экворинового свечения в протопластах, изолированных из корней высших растений. Подсчет активности кальция в цитоплазме с использованием эмпирических уравнений. Анализ веществ, активирующих процессы кальциевой сигнализации у высших растений.

Флуоресцентные зонды: химическая природа, разнообразие тестируемых процессов и основные протоколы использования. Анализ изображений, полученных при помощи эпифлуоресцентной микроскопии растительных объектов. Представление экспериментальных данных, полученных при анализе флуоресцентных сигналов.

6. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНИКИ ПЭТЧ-КЛАМП ДЛЯ АНАЛИЗА ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МЕМБРАН ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Культивирование и подготовка объекта исследования, выделение протопластов из различных тканей и органов высших растений, обладающих высокой степенью очистки мембраны, необходимой для работы с техникой пэтч-кламп. Изготовление стеклянных микропипеток с использованием стекла КИМАХ-51 и полуавтоматического пуллера на примере пуллеров производства Narishige (Япония) и Sutter (США). Разработка растворов для пэтч-пипеток и силинга. Регистрация электрических параметров мембран при помощи техники пэтч-кламп. Основные протоколы фиксации напряжения. Получение и анализ вольт-амперных характеристик мембран, значений проводимости и точек нулевого тока. Анализ ион-селективности проводимостей мембран клеток растений, биофизические расчеты последовательностей селективности.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

Номер занятия	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
1	КУЛЬТИВИРОВАНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ И БИОИНЖЕНЕРИИ				16			Устные опросы, письменные отчеты по лабораторным работам
1.1	Рулонный метод культивирования проростков высших растений. Культивирование растений <i>A. thaliana</i> и других видов для получения семян				4			
1.2	Культивирование растений в стерильных условиях. Генерация и поддержание культуры целых растений <i>A. thaliana</i>				4			
1.3	Микрочеренкование декоративных древесных растений в условиях <i>in vitro</i> . Генерация и поддержание культуры проростков <i>Phalaenopsis × hybridum</i> Blume				4			
1.4	Инициация и поддержание культуры <i>in vitro</i> <i>P. patens</i> . Индукция роста протонемы мха <i>P. patens</i>				4			
2	ИЗМЕРЕНИЕ И АНАЛИЗ МОДИФИКАЦИИ РОСТА ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ НА ОРГАНИЗМЕННОМ, ТКАНЕВОМ И КЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ				16			Устные опросы, письменные отчеты по лабораторным работам

2.1	Анализ длины основного корня у злаков и других сельскохозяйственных растений, выращенных рулонным методом				4			
2.2	Тестирование воздействия химических агентов, введенных в среду культивирования, на рост проростков <i>A. thaliana</i> в вертикальной фитогелевой культуре				4			
2.3	Техника замены среды и ее использование для анализа ростовых процессов у модельных растительных объектов				4			
2.4	Использование компьютерной среды и специализированных приложений ImageJ для анализа ростовых процессов у высших растений				4			
3	ТЕСТИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ РАЗВИТИЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ НА ТКАНЕВОМ И КЛЕТОЧНОМ УРОВНЯХ				12			Устные опросы, письменные отчеты по лабораторным работам
3.1	Измерение основных параметров архитектуры корня <i>A. thaliana</i> при помощи стандартной инвертированной световой микроскопии				4			
3.2	Фото- и видеорегистрация ростовых процессов с использованием инвертированной световой микроскопии и CCD-камеры высокого разрешения				4			
3.3	Анализ морфологии и анатомии протокормов семейства <i>Orchidaceae</i> Juss				4			
4	ИЗМЕРЕНИЕ И РЕГИСТРАЦИЯ СИМПТОМОВ ЗАПРОГРАММИРОВАННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ В ТКАНЯХ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ				20			Устные опросы, письменные отчеты по лабораторным работам
4.1	Использование подходов инвертированной микроскопии для исследования процессов запрограммированной клеточной гибели в клетках коры корня и эпиблемы высших растений.				8			

4.2	Использование <i>Forsythia × intermedia</i> в качестве модельной системы для тестирования симптомов запрограммированной клеточной гибели у древесных растений				4			
4.3	Тестирование жизнеспособности клеток высших растений с использованием красителя Evans Blue				8			
5	ФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ИЗМЕНЕНИЙ АКТИВНОСТИ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В ЦИТОПЛАЗМЕ И ГЕНЕРАЦИИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В КЛЕТКАХ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ				20			Устные опросы, письменные отчеты по лабораторным работам
5.1	Тестирование целых корней <i>A. thaliana</i> для регистрации биоломинесцентных Ca ²⁺ -зависимых сигналов. Подсчет активности кальция в цитоплазме с использованием эмпирических уравнений				8			
5.2	Флуоресцентные зонды: химическая природа, разнообразие тестируемых процессов и основные протоколы использования. Анализ изображений, полученных при помощи эпифлуоресцентной микроскопии растительных объектов				8			
5.3	Представление экспериментальных данных, полученных при анализе люминометрических и флуоресцентных сигналов				4			
6	ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНИКИ ПЭТЧ-КЛАМП ДЛЯ АНАЛИЗА ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МЕМБРАН ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ				16			Устные опросы, письменные отчеты по лабораторным работам, защита реферата
6.1	Подготовка объекта исследования для использования в экспериментах с применением техники пэтч-кламп				4			

6.2	Изготовление стеклянных микропипеток с использованием стекла КИМАХ-51 и полуавтоматического пулера. Разработка растворов для пЭтЧ-пипеток и силинга				4			
6.3	Выделение протопластов из тканей высших растений для использования в экспериментах с применением техники пЭтЧ-кламп. Регистрация электрических параметров мембран при помощи техники пЭтЧ-кламп				4			
6.4	Получение и анализ вольт-амперных характеристик мембран, значений проводимости и точек нулевого тока. Анализ ион-селективности проводимостей мембран клеток растений, биофизические расчеты последовательностей селективности				4			

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Перечень основной литературы

1. Biochemistry & molecular biology of plants / eds.: В.В. Buchanan, W. Gruissem, R.L. Jones. – ASPB, 2015. – 1280 p.
2. Biochemistry: a short course / ed.: J.L. Tymoczko, J.M. Berg, L. Stryer. – W.H. Freeman & Company, 2015. – 761 p.

Перечень дополнительной литературы

1. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений / под ред. Вл.В. Кузнецова, В.В. Кузнецова, Г.А. Романова. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. – 487 с.
2. Plant Electrophysiology: Theory and Methods / ed.: A.G. Volkov. – Springer Science & Business Media, 2007. – 508 p.
3. Molecular cell biology / ed.: J. Darnell, H. Lodish, D. Baltimore. – W. H. Freeman and Company, 1986. – 1187 p.
4. Флуоресцентные белки: физико-химические свойства и использование в клеточной биологии / О.В. Степаненко [и др.] // Цитология. – 2007. – Т.49, № 5. – С. 395–420.
5. Справочник по ботанической микротехнике : Основы и методы / Р.П. Барыкина, Т.Д. Веселова, А.Г. Девятков [и др.] ; под ред. Г.Г. Есвкова. – М. : Изд-во Моск. ун-та, 2004. – 311 с.
6. An *in vivo* root hair assay for determining rates of apoptotic-like programmed cell death in plants / B.V. Hogg [et al] // Plant Methods. – 2011. – Vol. 7, № 45. – doi: 10.1186/1746-4811-7-45.
7. Hawkes, P.W., Spence, J.C.H. Science of Microscopy / eds.: P. Hawkes, J.C.H. Spence. – Springer, 2006. – 1322 p.
8. Loyola-Vargas, V.M., Vázquez-Flota, F. Plant Cell Culture Protocols / eds.: V.M. Loyola-Vargas, F. Vázquez-Flota. – Humana Press, 2006. – 394 p.
9. Molecular Biology of the Cell / B. Alberts [et al]. – Garland Science, 2002. – 1560 p.
10. Periasamy, A. Methods in Cellular Imaging / ed.: A. Periasamy. – Oxford University Press, 2000. – 448 p.
11. Phenotypic analysis of the *Arabidopsis* heat stress response during germination and early seedling development / J. Silva-Correia [et al] // Plant Methods. – 2014. – Vol. 10, № 7. – doi: 10.1186/1746-4811-10-7.
12. Programmed Cell Death: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology / eds.: H. Puthalakath, C.J. Hawkins. – Springer Science Business Media, 2016. – 305 p.

Интернет-ресурсы:

1. The Arabidopsis Book [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.arabidopsisbook.org/>

Перечень рекомендуемых средств диагностики

Для текущего контроля качества усвоения знаний студентами используется следующий диагностический инструментарий:

- устные опросы;
- письменные отчеты по лабораторным работам;
- защита подготовленного студентом реферата.

Методы и технологии обучения

1. Метод проектного обучения.
2. Методы эвристического обучения.

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) ¹
Клеточная биология	Клеточной биологии и биоинженерии растений	Отсутствуют	Утвердить согласование протокол № 13 от 19.04.2018 г.
Современные проблемы биологии	Биохимии Генетики Молекулярной биологии	Отсутствуют	Утвердить согласование протокол № 13 от 19.04.2018 г.
Прикладные проблемы биологии, биотехнологии и экологии	Биохимии Генетики Молекулярной биологии	Отсутствуют	Утвердить согласование протокол № 13 от 19.04.2018 г.
Биохимия мембран и межклеточных коммуникаций	Биохимии	Отсутствуют	Утвердить согласование протокол № 13 от 19.04.2018 г.

ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ

на ____/____ учебный год

№№ ПП	Дополнения и изменения	Основание

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры
_____ (название кафедры) (протокол № ____ от _____ 20 г.)

Заведующий кафедрой

_____ (ученая степень, ученое звание)

_____ (подпись)

_____ (И.О.Фамилия)

УТВЕРЖДАЮ
Декан факультета

_____ (ученая степень, ученое звание)

_____ (подпись)

_____ (И.О.Фамилия)