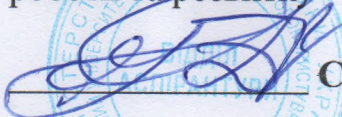


**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
роботи та розвитку



С. М. Кваша

« 01 » 06 2021 р.

РОЗГЛЯНУТО І СХВАЛЕНО


на засіданні вченої ради агробіологічного
факультету

Протокол № 4 від «18» 05 2021 р.

Декан  Тонха О. Л.

на засіданні кафедри екобіотехнології та
біорізноманіття

Протокол № 9 від «23» листопада 2021 р.

Завідувач кафедри  Патики М. В.

РОБОЧА ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

«КЛІТИННІ ТЕХНОЛОГІЇ»

1. Рівень вищої освіти – Третій освітньо-науковий
2. Галузь знань – 20 «Аграрні науки та продовольство»
3. Спеціальність – 201 «Агрономія»
4. Освітньо-наукова програма – «Агрономія»
5. Гарант ОНП: Танчик Семен Петрович
6. Розробники:

Патика М. В., завідувач кафедри екобіотехнології та біорізноманіття, д. с.-г. н.,
член-кор. НААН

Патика Т. І., професор кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики,
д. с.-г. н., с. н. с.

Київ – 2021

1. Опис навчальної дисципліни «Клітинні технології»

Галузь знань, спеціальність, освітній ступінь		
Галузь знань	20 «Аграрні науки та продовольство»	
Освітньо-науковий рівень	Третій	
Освітній ступінь	Доктор філософії	
Спеціальність	201 «Агрономія»	
Освітньо-наукова програма	«Агрономія»	
Характеристика навчальної дисципліни		
Вид	Вибіркова	
Загальна кількість годин	150	
Кількість кредитів ECTS	5	
Кількість змістових модулів	-	
Форма контролю	Екзамен	
Показники навчальної дисципліни для денної та заочної форм навчання		
	Денна та вечірня форми навчання	Заочна форма навчання
Рік підготовки (курс)	1	2
Семестр	2	1
Лекційні заняття	20	20
Практичні, семінарські заняття	-	-
Лабораторні заняття	30	30
Самостійна робота	100	100
Індивідуальні завдання	-	-
Кількість тижневих аудиторних годин для денної форми навчання	5	-

2. Мета та завдання навчальної дисципліни

За визначенням Європейської біотехнологічної федерації (ЄБФ) біотехнологія є такою інтеграцією природничих та інженерних наук, за допомогою якої використання клітин, клітинних структур і окремих біомолекул уможливорює одержання якісніших і дешевших продуктів медичного і промислового призначення або проведення інших корисних маніпуляцій.

На основі сучасних розроблених клітинних технологій відпрацьовані різні прийоми створення нових форм організмів за рахунок розширення міжгібридизації рослин (соматичної або парасексуальної гібридизації), реконструкції клітин (перенесення таких органел як ядра, мітохондрії, пластиди від однієї клітини до іншої), що значно підвищує можливість отримання генетичного різноманіття серед важливих для селекції генотипів рослин.

Клітини рослин за їх культивування на поживних середовищах мають здатність до утворення меристемних зон, з яких розвиваються цілі рослини-регенеранти. Ця здатність рослинної клітини до тотіпотентності (здатність однієї клітини багатоклітинного організму давати початок цілому новому організму шляхом поділу) – лягла в основу метода культури клітин та тканин. На сьогоднішній день цей метод широко використовується для мікроклонального розмноження рослин, отримання оздоровленого від вірусної інфекції посадкового матеріалу, отримання цінних продуктів метаболізму, зникаючих або рідких лікарських рослин та інше.

Отже, вирощування і маніпуляції з клітинами, тканинами і органами рослин поза організмом на штучних живильних середовищах у строго контрольованих умовах дозволяє:

- отримувати результати незалежно від клімату, сезону, ґрунтових умов;
- вивчати такі складні процеси як ріст, клітинна диференціація і розвиток рослинного організму, метаболізм і його регуляція у клітинах і тканинах цілої рослини;
- проводити швидке розмноження у дуже великих кількостях;
- отримувати безвірусний рослинний матеріал;
- створювати принципово нові технології для промисловості і сільського господарства;
- скорочувати селекційний процес у 2–3 рази.

На сьогодні клітинні технології розглядаються як фундаментально-прикладна ланка методичного конструювання клітин нового типу на основі їх культивування, гібридизації та реконструкції. За допомогою клітинних технологій (інженерії) вдається поєднати геноми різних видів (навіть тих, що належать до різних царств).

Клітинна інженерія – розділ біотехнології, основним напрямком якого є культура соматичної тканини, отримання гаплоїдів *in vitro*, суспензійні культури, культура протопластів і парасексуальна гібридизація, запилення та запліднення *in vitro*, мікроклональне розмноження, отримання безвірусного садивного матеріалу методом культури меристем, виробництво вторинних метаболітів рослин в культурі *in vitro*, ембріокультура, збереження рослинного матеріалу в культурі *in vitro* і кріоконсервація та ін.

Метою даного курсу є формування у аспірантів сучасних знань щодо молекулярних, генетичних механізмів і процесів в живій клітині, фундаментальних основ клітинної організації, сучасних клітинних технологій. Розглядати клітину – як фундаментальну одиницю життя, "цеглинку", з якої будується все різноманіття "архітектури" життя.

Завдання курсу: формування знань про об'єкти досліджень при клітинних технологіях, селекції (калюсна тканина, суспензійна культура, ізольовані протопласти), селективні фактори, отримання мутантних форм на клітинному рівні, соматклональну мінливість (варіабельність), її практичне використання і перспективи застосування, різні типи мінливості (наприклад, геному в процесі культивування *in vitro*, або цитоплазмонів у соматклональних варіантів); блок матеріалу відносно природного генетичного різноманіття клітин рослин, значення генотипу і вихідних експлантів, впливу умов культивування і регенерації рослин, генетичний аналіз соматклонів, напрямки клітинної селекції на стійкість в умовах *in vitro* (відбір клітин, стійких до: гербіцидів, засолення; екстремальних температур; патогенів тощо; відбір клітин, що характеризуються підвищеним синтезом незамінних амінокислот), виявлення механізмів адаптації клітин до стресового чинника та ін.

3. Програма та структура навчальної дисципліни для повного терміну денної (заочної) форми навчання

Теми 1-2. Клітинна технологія: основні напрями, методичні можливості та перспективи. Отримання і культивування калюсної тканини. Пасаж тканини, облік ростових характеристик культури. Отримання суспензійної культури. Індукція соматичного ембріогенезу в тканині. Оцінка життєздатності клітин і ступеню агрегації суспензії. Визначення щільності суспензійної культури та оцінка її ростової активності. Визначення ступеня агрегації і життєздатності клітинної суспензії. Висів суспензій на тверде агаризоване середовище для отримання одноклітинних клонів. Культура ізольованих протопластів. **Тканинна селекція - один із напрямів клітинних технологій *in vitro*** (пряма (позитивна) селекція, при якій виживає лише певний шуканий мутантний тип клітин; непряма (негативна) технологія, заснована на виборчій загибелі клітин, які діляться дикого

типу і виживання метаболічно неактивних клітин, але вимагає додаткової ідентифікації у них мутаційних змін; тотальна селекція, при якій індивідуально тестуються всі клітинні клони; візуальна селекція і неселективний відбір, коли варіантна лінія може бути ідентифікована серед всієї популяції клітин візуально або при використанні біохімічних методів (тонкошарова або рідинна хроматографія, радіоімунний аналіз, мікроспектрофотометри та ін.).

Теми 3-4. Клітинна селекція. Застосування методу культури тканин у селекції рослин. Селекція мутантів на рівні клітинних колоній (мутантних форм калюсних культур, стійких до гербіцидів, антибіотиків, токсинів патогенів, важких металів, посухи тощо). Висів суспензії на селективне живильне середовище. Культура ізольованих клітин і тканин в селекції рослин. Метод прямої клітинної селекції на основі культури ізольованих клітин, тканин і органів рослин *in vitro*.

Тема 5. Сомаклональна мінливість (варіабельність: типи, практичне використання і перспективи реалізації. Мінливість геному в процесі культивування *in vitro*. Мінливість цитоплазмонів у соматоклональних варіантах. Природне генетичне різноманіття клітин рослин. Значення генотипу і вихідних експлантів. Вплив умов культивування і регенерації рослин, генетичний аналіз соматоклонів.

Теми 6. Особливості мутагенезу та селекції мутантів в умовах *in vitro*. Вплив мутагенів на виживання клітин, культивованих *in vitro*. Методи селекції клітинних варіантів.

Теми 7-8. Практичне застосування біотехнологічних підходів для створення нових сортів рослин. Стійкість до амінокислот та їх аналогів. Стійкість до стресових факторів. Стійкість до збудників хвороб.

Тема 9-10. Колекції та кріобанки клітинних культур. Кріозберігання рослинного матеріалу. Вивчення захисної дії кріопротекторів на стійкість рослинних клітин до дії низьких температур. Вплив кріопротекторів на білки цитоплазми рослинних клітин за дії негативних температур.

Структура навчальної дисципліни

Назви тем	Кількість годин											
	денна форма						Заочна форма					
	усьо- го	у тому числі					усьо- го	у тому числі				
1	л	п	лаб	інд	с. р.	2	л	п	лаб	інд	с. р.	
Тема 1. Клітинна технологія: основні напрями, методичні можливості та перспективи. Отримання і культивування калюсної тканини. Пасаж тканини, облік ростових характеристик культури. Отримання	14	2		2		10	14	2		2		10

суспензійної культури. Індукція соматичного ембріогенезу в тканині. Оцінка життєздатності клітин і ступеню агрегації суспензії. Визначення щільності суспензійної культури та оцінка її ростової активності. Визначення ступеня агрегації і життєздатності клітинної суспензії. Висів суспензій на тверде агаризоване середовище для отримання одноклітинних клонів. Культура ізольованих протопластів										
Тема 2. Тканинна селекція як один із напрямів клітинних технологій <i>in vitro</i> : пряма (позитивна) селекція; непряма (негативна) технологія, додаткова ідентифікація мутаційних змін; тотальна селекція, індивідуальне тестування клітинних клонів; візуальна селекція і неселективний відбір.	14	2	2	10	14	2	2	10		
Тема 3. Клітинна селекція. Застосування методу культури тканин у селекції рослин. Селекція мутантів на рівні клітинних колоній (мутантних форм калюсних культур, стійких до гербіцидів, антибіотиків, токсинів патогенів, важких металів, посухи тощо).	14	2	2	10	14	2	2	10		
Тема 4. Пасаж суспензії на селективне живильне середовище. Культура ізольованих клітин і тканин в селекції рослин. Метод прямої клітинної селекції на основі культури ізольованих клітин, тканин і органів рослин <i>in vitro</i> .	12	2		10	12	2		10		
Тема 5. Сомаклональна мінливість (варіабельність: типи, практичне використання і перспективи реалізації. Мінливість геному в процесі культивування <i>in vitro</i> . Мінливість цитоплазмонів у сомаклональних варіантах. Природне генетичне різноманіття клітин рослин. Значення генотипу і вихідних експлантів. Вплив умов культивування і регенерації рослин, генетичний аналіз сомаклонів.	16	2	4	10	16	2	4	10		
Тема 6. Особливості мутагенезу та селекції мутантів в умовах <i>in vitro</i> . Вплив мутагенів на виживання клітин, культивованих <i>in vitro</i> . Методи селекції клітинних варіантів.	16	2	4	10	16	2	4	10		
Тема 7. Практичне застосування біотехнологічних підходів для створення нових сортів рослин. Стійкість до амінокислот та їх аналогів.	16	2	4	10	16	2	4	10		
Тема 8. Стійкість до стресових факторів. Стійкість до збудників хвороб.	14	2	2	10	14	2	2	10		

Тема 9. Колекції та кріобанки клітинних культур. Кріозберігання рослинного матеріалу. Вивчення захисної дії кріопротекторів на стійкість рослинних клітин до дії низьких температур.	16	2	4	10	16	2	4	10
Тема 10. Вплив кріопротекторів на білки цитоплазми рослинних клітин за дії негативних температур.	18	2	6	10	18	2	6	10
Усього годин	150	20	30	100	150	20	30	100

4. Теми лабораторних занять

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	Сомаклональна мінливість. Вихідний генотип. Стадії розвитку експланту.	6
2	Ідентифікація та скринінг корисних генотипів (на прикладі тест-культур).	6
3	Основні типи реакції-відповіді рослин на стресові фактори.	6
4	Пряма клітинна селекція мутантів.	6
5	Клітинна селекція на стійкість до патотоксинів	6

5. Самостійна робота

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1.	Метод культури ізольованих клітин, тканин та органів рослин <i>in vitro</i> .	20
2.	Різноманіття клітинних ліній та рослин-регенерантів.	20
3.	Генетична нестабільність клітин <i>in vitro</i> .	20
4.	Морфологічна та цитогенетична різноякісність клітинних популяцій. Фітогормони.	20
5.	Вивчення умов стабілізації клітинних культур і селекції клітинних популяцій певної плоідності.	20

6. Методи навчання

Успіх навчання загалом залежить від внутрішньої активності аспірантів, від характеру їхньої діяльності, то саме характер діяльності, ступінь самостійності та творчості мають бути важливими критеріями у виборі методу.

Пояснювально-ілюстративний метод. Аспіранта здобувають знання, слухаючи розповідь, лекцію, з навчальної або методичної літератури, через екранний посібник у «готовому» вигляді. Сприймаючи й осмислюючи факти, оцінки, висновки, вони залишаються в межах репродуктивного (відтворювального) мислення. Такий метод якнайширше застосовують для передавання значного масиву інформації. Його можна використовувати для викладення й засвоєння фактів, підходів, оцінок, висновків.

Репродуктивний метод. Ідеться про застосування вивченого на основі зразка або правила. Діяльність тих, кого навчають, є алгоритмічною, тобто відповідає інструкціям, розпорядженням, правилам – в аналогічних до представленого зразка ситуаціях.

Метод проблемного викладення. Використовуючи будь-які джерела й засоби, педагог, перш ніж викладати матеріал, ставить проблему, формулює пізнавальне завдання, а потім, розкриваючи систему доведень, порівнюючи

погляди, різні підходи, показує спосіб розв'язання поставленого завдання. Студенти стають ніби свідками і співучасниками наукового пошуку.

Частково-пошуковий, або евристичний метод. Його суть – в організації активного пошуку розв'язання висунутих педагогом (чи самостійно сформульованих) пізнавальних завдань або під керівництвом педагога, або на основі евристичних програм і вказівок. Процес мислення набуває продуктивного характеру, але його поетапно скеровує й контролює педагог або самі студенти на основі роботи над програмами (зокрема й комп'ютерними) та з навчальними посібниками. Такий метод, один з різновидів якого є евристична бесіда, – перевірений спосіб активізації мислення, спонукання до пізнання.

Дослідницький метод. Після аналізу матеріалу, постановки проблем і завдань та короткого усного або письмового інструктажу ті, кого навчають, самостійно вивчають літературу, джерела, ведуть спостереження й виміри та виконують інші пошукові дії. Ініціатива, самостійність, творчий пошук виявляються в дослідницькій діяльності найповніше. Методи навчальної роботи безпосередньо переходять у методи, які імітують, а іноді й реалізують науковий пошук.

7. Форми контролю

Контроль знань і умінь (поточний і підсумковий) з дисципліни здійснюють згідно з кредитно-модульною системою організації навчального процесу. Рейтинг студента із засвоєння дисципліни визначається за 100 бальною шкалою. Він складається з рейтингу з навчальної роботи, для оцінювання якої призначається 70 балів, і рейтингу з атестації (екзамену) – 30 балів.

Критерії оцінки рівня знань на лабораторних, семінарських та практичних заняттях. На лабораторних заняттях кожен аспірант з кожної теми виконує індивідуальні завдання. Рівень знань оцінюється: “відмінно” – аспірант дає вичерпні, обґрунтовані, теоретично і практично вірні відповіді не менш ніж на 90% запитань, рішення задач та лабораторні вправи вірні, демонструє знання підручників, посібників, інструкцій, проводить узагальнення і висновки, акуратно оформляє завдання, був присутній на лекціях, має конспект лекцій чи реферати з основних тем курсу; “добре” – коли аспірант володіє знаннями матеріалу, але допускає незначні помилки у формуванні термінів, категорій і розрахунків, проте за допомогою викладача швидко орієнтуються і знаходять правильні відповіді, був присутній на лекціях, має конспект лекцій чи реферати з основних тем курсу; “задовільно” – коли аспірант дає правильну відповідь не менше ніж на 60 % питань, або на всі запитання дає недостатньо обґрунтовані, невичерпні відповіді, допускає грубі помилки, які виправляє за допомогою викладача. При цьому враховується наявність конспекту за темою завдань та самостійність; “незадовільно з можливістю повторного складання” – коли студент дає правильну відповідь не менше ніж на 35 % питань, або на всі запитання дає необґрунтовані, невичерпні відповіді, допускає грубі помилки. Має неповний конспект лекцій.

Підсумкова (загальна оцінка) курсу навчальної дисципліни. Є сумою рейтингових оцінок (балів), одержаних за окремі оцінювані форми навчальної

діяльності: поточне та підсумкове тестування рівня засвоєння теоретичного матеріалу під час аудиторних занять та самостійної роботи (модульний контроль); оцінка (бали) за виконання лабораторних досліджень. Підсумкова оцінка виставляється після повного вивчення навчальної дисципліни, яка виводиться як сума проміжних оцінок за змістовні модулі. Остаточна оцінка рівня знань складається з рейтингу з навчальної роботи, для оцінювання якої призначається 70 балів, і рейтингу з атестації (екзамену) – 30 балів.

8. Розподіл балів

Оцінювання здобувачів відбувається згідно положення «Про екзамени та заліки у НУБіП України» від 25.09.2019 р. протокол № 2

Оцінка національна	Оцінка ЄКТС	Визначення оцінки ЄКТС	Рейтинг здобувача, бали
Відмінно	A	ВІДМІННО – відмінне виконання лише з незначною кількістю помилок	90–100
Добре	B	ДУЖЕ ДОБРЕ – вище середнього рівня з кількома помилками	82–89
	C	ДОБРЕ – в загальному правильна робота з певною кількістю грубих помилок	74-81
Задовільно	D	ЗАДОВІЛЬНО – непогано, але зі значною кількістю недоліків	64–73
	E	ДОСТАТНЬО – виконання задовольняє мінімальні критерії	60-63
Незадовільно	FX	НЕЗАДОВІЛЬНО – потрібно працювати перед тим як отримати залік	35–39
	F	НЕЗАДОВІЛЬНО – необхідна серйозна подальша робота	01–34

Для визначення рейтингу здобувача із засвоєння дисципліни $R_{\text{дис}}$ (до 10 балів) одержаний рейтинг з атестації (до 30 балів) додається до рейтингу здобувача з навчальної роботи $R_{\text{НР}}$ (до 70 балів):

$$R_{\text{дис}} = R_{\text{НР}} + R_{\text{АТ}}$$

9. Методичне забезпечення

Науково-методичне забезпечення навчального процесу передбачає: державні стандарти освіти, навчальні плани, навчальні програми з усіх нормативних і вибіркового навчальних дисциплін; програми навчальної, виробничої та інших видів практик; підручники і навчальні посібники; інструктивно-методичні матеріали до семінарських, практичних і лабораторних занять; індивідуальні навчально-дослідні завдання; контрольні роботи; текстові та електронні варіанти тестів для поточного і підсумкового контролю, методичні матеріали для організації самостійної роботи аспірантів.

10. Рекомендована література

Базова:

1. Кравців Р. Й., Буцяк В. І., Колотницький А. Г. Навчальний посібник “Клітинна інженерія”. Львів, 2005. 101 с.
2. Сидоров В. А. Биотехнология растений. Клеточная селекция. К. : Наукова думка, 1990. 280 с.
3. Шемедюк Н. П. Клітинна інженерія: навчальний посібник. Львів, 2018. 130 с.
4. Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки: В 3-х т., т.1. М.: Мир, 1994. 517 с.
5. Ченцов Ю. С. Введение в клеточную биологию. М.: Наука, 2004. 495 с.
6. Molecular Cell Biology. W.H. Freeman and Company, 2003. 572 p.
7. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P., Molecular Biology of the Cell. New York: Garland Publishing; 2002. 1462 с.
8. Stansfield W. D., Colome J. S., Cano R. J. Molecular and cell biology. New York: McGraw-Hill Companies, Inc., 2003. 122 p.
9. Bolsover S. R., Hyams J. S., Shephard E. A., White H. A., Wiedemann C. G. Cell biology. A short course. Hoboken: Wiley, 2004. 531 p.
10. Глеба Ю. Ю., Сытник К. М. Клеточная инженерия растений. К. : Наукова думка, 1984. 159 с.

Додаткова:

1. Капрельянц Л. В. Теоретичні основи біотехнології: навчальний посібник. Харків, ФАКТ, 2020. 296 с.
2. Ed. Balasubramanian D., Bryce C. F. A., Dharmalingam K., Green J. Concepts in Biotechnology. Costed-IBN. Sangam Books, 2004. 425 p.
3. Кольман Я., Рем К. Г. Наглядная биохимия. М. : Мир, 2000. 469 с.
4. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Пер. с англ. М. : Мир, 2002. 589 с.
5. Кушнір Г. П., Сарнацька В. В. Мікроклональне розмноження рослин. К. : Наукова думка, 2003. 528 с.
6. Патика Т. І., Патика М. В. Біотехнологія мікробного синтезу. К., 2017. 270 с.
7. Пирог Т. П., Пенчук Ю. М. Біохімічні основи мікробного синтезу: підручник. К. :Видавництво Ліра-К, 2019. 258 с.