

Міністерство освіти і науки України

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Кафедра фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів

**“ЗАТВЕРДЖУЮ”**

Проректор з науково-педагогічної роботи

\_\_\_\_\_ А.В. Пантелеймонов

Робоча програма навчальної дисципліни

**Генна інженерія рослин** \_\_\_\_\_.

(назва навчальної дисципліни)

рівень вищої освіти другий (магістерський) \_\_\_\_\_.

галузь знань 09 Біологія \_\_\_\_\_.  
(шифр і назва)

спеціальність 091 Біологія \_\_\_\_\_.  
(шифр і назва)

освітня програма Біологія \_\_\_\_\_.  
(шифр і назва)

спеціалізація \_\_\_\_\_.  
(шифр і назва)

вид дисципліни за вибором \_\_\_\_\_.  
обов'язкова / за вибором

факультет біологічний \_\_\_\_\_.

2019 / 2020 навчальний рік

Програму рекомендовано до затвердження вченою радою факультету

19 червня 2019 року, протокол № 6

РОЗРОБНИКИ ПРОГРАМИ: Тимошенко В.Ф., кандидат біологічних наук, доцент кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів

Програму схвалено на засіданні кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів

Протокол від 14 червня 2019 року, № 21

В.о. завідувача кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів

\_\_\_\_\_ В.Ф. Тимошенко  
(підпис)

Програму погоджено методичною комісією біологічного факультету

Протокол від 18 червня 2019 року, № 11

Голова методичної комісії біологічного факультету

\_\_\_\_\_ В.В. Мартиненко  
(підпис)

## Вступ

Програма навчальної дисципліни ГЕННА ІНЖЕНЕРІЯ РОСЛИН складена відповідно до освітньо-професійної програми підготовки «Біологія»

другий (магістерський)

(назва рівня вищої освіти)

спеціальності 091 Біологія

### 1. Опис навчальної дисципліни

1.1 Метою викладення навчальної дисципліни ГЕННА ІНЖЕНЕРІЯ ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ РОСЛИН є набуття студентами теоретичних знань з методів генетичної модифікації рослин та навичок практичної орієнтації, необхідних для професійної діяльності в галузі біології.

1.2 Основним завданням навчальної дисципліни ГЕННА ІНЖЕНЕРІЯ ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ РОСЛИН є сформування цілісного уявлення про методи введення в рослинну клітину органел та мікроорганізмів; методи генетичної трансформації рослин шляхом векторного перенесення в рослину генів, а також методами трансфекції.

1.3. Кількість кредитів 4

1.4. Загальна кількість годин 120

1.5. Характеристика навчальної дисципліни	
За вибором	
Денна форма навчання	Заочна форма навчання
Рік підготовки	
1-й	1-й
Семестр	
1-й	1-й
Лекції	
16 год.	4 год.
Практичні, семінарські заняття	
16 год.	6 год.
Лабораторні заняття	
0 год.	0 год.
Самостійна робота	
88 год.	110 год.
Індивідуальні завдання	
10 год. (за рахунок самостійної роботи)	

1.6. Заплановані результати навчання. В результаті навчання за даним курсом студенти повинні знати: методи соматичної гібридизації рослинних клітин, способи реконструкції клітин при злитті субпротопластів, можливості створення штучних асоціацій рослинних протопластів з мікроорганізмами, методи аналізу гібридів. Студенти повинні засвоїти методи створення рекомбінантних молекул ДНК, конструювання векторів на основі Ті-плазмід, методи трансформації рослин за допомогою плазмідної ДНК, аналізу рослинного матеріалу на трансгенність. При подальшому навчанні і професійній діяльності студенти повинні бути здатними осмислювати нову інформацію в контексті набутих знань про методи генетичної трансформації рослин.

## 2. Тематичний план навчальної дисципліни

### *Розділ 1. Клітинна інженерія.*

#### **Тема 1. Соматична гібридизація рослинних клітин.**

Клітинна інженерія - розділ генної інженерії рослин. Соматична гібридизація рослинних клітин та можливості, які вона відкриває в реконструкції рослин. Переваги парасексуальної гібридизації у порівнянні з половим схрещуванням. Виділення ізольованих протопластів. Фактори, які впливають на ефективність злиття протопластів. Методичні прийоми, які використовуються для індукції злиття протопластів. Метод, запропонований Н. Као (1977р.). Механізми злиття протопластів. Реконструкція клітин при злитті субпротопластів. Розробка методів пересадки метафазних хромосом. Генетична мінливість рослинних клітин у зв'язку з маніпуляціями *in vitro*. Зміни ядерних та неядерних детермінант після парасексуальної гібридизації. Збереження варіантних клітинних ліній. Методи відокремлення продуктів соматичної гібридизації: метод генетичної комплементации, фізіологічної комплементации, механічна ізоляція. Методи аналізу гібридів: гібридологічний аналіз, клонування, цитогенетичне вивчення, біохімічний аналіз радіо-імунохімічний аналіз. Селекція мутантів та варіантних ліній. Практичне використання результатів соматичної гібридизації

#### **Тема 2. Створення штучних асоціацій рослинних протопластів з мікроорганізмами.**

Цілі створення асоціацій та їх реалізація на сьогоднішній день. Уведення мікроорганізмів в рослинні протопласти. Запровадження мікроорганізмів в популяції рослинних клітин.

### *Розділ 2. Генетичні вектори рослин.*

#### **Тема 3. Потенційні вектори та їх характеристика.**

Потенційні вектори рослин. Властивості, бажані для вектора. Методи виділення та вивчення структури плазмід *Agrobacterium tumefaciens* та *A. rhizogenes*. Загальна характеристика Ti- та Ri- плазмід та їх значення для агробактерій. Перенесення плазмід в клітини рослин та інтеграція T-ДНК в геном господаря. Використання Ti-плазмід в генній інженерії. Віруси - потенційні вектори в генній інженерії рослин. Віроїди та можливості їх використання як векторів. Транспозони, їх характеристика та використання в генній інженерії рослин.

#### **Тема 4. Конструювання векторів на основі Ti-плазмід.**

Проблеми в виділенні рослинних генів. Ідентифікація та виділення необхідної послідовності ДНК. Можливі маніпуляції з виділеною ДНК: фрагментація, депротейнізація, денатурація та ренатурація, фракціонування. Створення рекомбінантних молекул ДНК. Конструювання векторів на основі Ti-плазмід. Створення проміжних векторів. Бінарні вектори. Конструювання космідних векторів.

#### **Тема 5. Методи трансформації рослин.**

Трансформація клітин дводольних рослин за допомогою Ti-плазмід агробактерій. Трансформація великих гетерогенних експлантатів за допомогою Ti-плазмід. Пряма регенерація трансформованих рослин на прикладі трансформації листових дисків табака. Регенерація трансформованих рослин через стадію калуса: на прикладі трансформації експлантатів проростків льону. Трансформація протопластів шляхом сумісного культивування з агробактеріями. Трансформація рослинних клітин шляхом трансфекції ДНК. Трансформація протопластів за допомогою поліетиленгліколя. Мікроін'єкції ДНК в рослинну клітину.

Електропорація, як метод генної інженерії рослин.

Досягнення у конструюванні та використанні векторів. ДНК хлоропластів, мітохондрій та генної інженерні маніпуляції з ними.

#### **Тема 6. Аналіз рослинного матеріалу на трансгенність.**

Приклади та аналіз ДНК трансгенних рослин. Методи ДОТ-гібридизації та блоттінг аналізу.

### *Розділ 3. Практичні досягнення генної інженерії рослин.*

#### **Тема 7. Підвищення стійкості до зовнішніх несприятливих умов.**

Виведення рослин стійких до шкідливих комах, вірусів, грибів, бактерій, несприятливих кліматичних умов. Рослини стійкі до гербіцидів.

#### **Тема 8. Зміна якості врожаю.**

Регуляція швидкості дозрівання плодів. Зміна харчової цінності рослин. Рослини як біореактори. Зміна зовнішнього вигляду плодів, зміна забарвлення квітів.

### 3. Структура навчальної дисципліни

Назви модулів і тем	Кількість годин											
	Денна форма						Заочна форма					
	Усього	у тому числі					Усього	у тому числі				
		л	п	лаб	інд	ср		л	п	лаб	інд	ср
<b>Розділ 1. Клітинна інженерія.</b>												
Тема 1. Соматична гібридизація рослинних клітин.	22	3	3	0	0	16	20	1	1	0	0	18
Тема 2. Створення штучних асоціацій рослинних протопластів з мікроорганізмами	18	2	2	0	0	14	20	0	1	0	0	19
Разом за розділом 1	40	5	5	0	0	30	40	1	2	0	0	37
<b>Розділ 2. Генетичні вектори рослин.</b>												
Тема 3. Потенційні вектори та їх характеристика.	10	2	2	0	0	6	10	1	1	0	0	8
Тема 4. Конструювання векторів на основі плазмід агробактерій.	18	2	2	0	4	10	18	1	1	0	4	12
Тема 5. Методи трансформації рослин	22	3	3	0	4	12	22	0	1	0	4	17
Тема 6. Аналіз рослинного матеріалу на трансгенність.	10	2	2	0	0	6	10	1	0	0	0	9
Разом за розділом 2	60	9	9	0	8	34	60	3	3	0	8	46
<b>Розділ 3. Практичні досягнення генної інженерії рослин.</b>												
Тема 7. Підвищення стійкості до зовнішніх несприятливих умов.	11	1	1	0	2	7	11	0	0	0	2	9
Тема 8. Зміна якості врожаю.	9	1	1	0	0	7	9	0	1	0	0	8
Разом за розділом 3	20	2	2	0	2	14	20	0	1	0	2	17
<b>Усього годин</b>	<b>120</b>	<b>16</b>	<b>16</b>	<b>0</b>	<b>10</b>	<b>78</b>	<b>120</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>0</b>	<b>10</b>	<b>100</b>

#### 4. Теми семінарських (практичних, лабораторних) занять

##### Теми семінарських занять

№ з/п	Назва теми	Кількість годин	
		Денна форма	Заочна форма
1	Клітинна інженерія рослин	2	1
	Створення штучних асоціацій рослинних протопластів з мікроорганізмами	3	1
2	Потенційні вектори. Конструювання векторів	4	1
3	Методи трансформації рослин	3	2
4	Аналіз рослинного матеріалу на трансгенність	2	0
5	Практичні досягнення генної інженерії	2	1
	<b>Разом</b>	<b>16</b>	<b>6</b>

#### 5. Завдання для самостійної роботи

№ з/п	Види, зміст самостійної роботи	Кількість годин	
		Денна форма	Заочна форма
1	Засвоїти методи злиття субпротопластів рослинних клітин. Отримання і використання для гібридизації нуклеопластів і цитопластів. Розробка методів пересадки метафазних хромосом.	16	18
2	Які відомі методи введення мікроорганізмів в рослинні протопласти? Запровадження мікроорганізмів в популяції рослинних клітин, проблеми та перспективи.	14	19
3	Дати характеристику вірусів і віроїдів, як потенційних векторів. Характеристика і використання CMV вірусів. Використання в генній інженерії віроїдів.	6	8
4	Знати можливі маніпуляції з виділеною ДНК: фрагментація, депротейнізація, денатурація та ренатурація, фракціонування.	10	12
5	Як відбувається регенерація трансформованих рослин через стадію калуса: на прикладі трансформації експлантатів паростків льону? Трансформація протопластів шляхом сумісного культивування з агробактеріями.	12	17
6	Засвоїти методи аналізу рослинного матеріалу на трансгенність. Методи гібридизації за Саузерном та ДОТ –гібридизація. Використання ПЛР-аналізу для доказу трансгенності рослин.	6	9
7	Як забезпечити підвищення стійкості до зовнішніх несприятливих умов? Методи виведення рослин стійких до шкідливих комах, вірусів, грибів, бактерій, несприятливих кліматичних умов. Рослини стійкі до гербіцидів.	7	9
8	Засвоїти методи зміни якості врожаю. Як регулювати швидкість дозрівання плодів, зміну харчової цінності рослин. Методи зміни зовнішнього вигляду плодів, зміни забарвлення квітів.	7	8
9	Виконання індивідуального науково-дослідного завдання	10	10
	<b>Разом</b>	<b>88</b>	<b>110</b>

## 6. Індивідуальні завдання

№ з/п	Теми рефератів
1	Досягнення у конструюванні та використанні векторів.
2	Трансформація клітин дводольних рослин за допомогою Ті-плазмід агробактерій.
3	Пряма регенерація трансформованих рослин на прикладі трансформації листових дисків тютюну.
4	Регенерація трансформованих рослин через стадію калуса: на прикладі трансформації експлантатів проростків льону.
5	Трансформація протопластів шляхом сумісного культивування з агробактеріями.
6	Трансформація протопластів за допомогою поліетиленгліколя.
7	Мікроін'єкції ДНК в рослинну клітину.
8	Електропорація, як метод генної інженерії рослин.
9	ДНК хлоропластів, мітохондрій та генної інженерні маніпуляції з ними.
10	Виведення рослин стійких до шкідливих комах, вірусів, грибів, бактерій.

## 7. Методи контролю

При викладанні курсу використовуються наступні методи навчання: метод готових знань, словесні та наочні методи, пояснювально-ілюстративний метод. Для перевірки знань студентів використовуються: методи творчої діяльності, методи перевірки і оцінювання знань та умінь.

### Поточний контроль.

1. Опитування за темами лекцій та темами самостійної роботи на семінарських заняттях.
2. Написання реферату.

### Підсумковий контроль:

1. Письмова екзаменаційна робота (денна форма навчання).
2. Письмова екзаменаційна робота (заочна форма навчання).

## 8. Схема нарахування балів

Поточний контроль, самостійна робота, індивідуальні завдання								Екзамен	Сума		
Розділ 1		Розділ 2				Розділ 3				Індивідуальне завдання	Разом
15		20				10		15	60	40	100
T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8				
7	8	5	5	5	5	5	5				

## Шкала оцінювання

Сума балів за всі види навчальної діяльності протягом семестру	Оцінка для чотирирівневої шкали оцінювання
90 – 100	відмінно
70-89	добре
50-69	задовільно
1-49	незадовільно

## 9. Рекомендована література

### Основна література

1. Генная инженерия растений. Лабораторное руководство : [пер. с англ.] / [под ред. Дж. Дрейпера, Р. Скотта]. – М. : Мир, 1991. – 408 с.
2. Глеба Ю. Ю. Слияние протопластов и генетическое конструирование высших растений / Ю. Ю. Глеба, К. М. Сытник. – К. : Наук. думка, 1987. – 104 с.
3. Глик Н. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение : учебн. / Н. Глик, В. Бернанд ; [пер. с англ. Пастернак Н. Е., Баскакова Ю. М.] – М. : Мир, 2002. – 589 с. (Лучший зарубежный учебник).
4. Щелкунов С. Н. Генетическая инженерия / С. Н. Щелкунов. – Новосибирск : Сибирское университетское издательство, 2004. – 496 с.
5. Кучук Н. В. Генетическая инженерия высших растений. / Н. В. Кучук/ – К. : Наукова думка, 2002. – 150 с.

### Допоміжна література

1. Божков А. И. Биотехнология. Фундаментальные и промышленные аспекты / А. И. Божков. – Х. : Изд-во Федорко М. Ю, 2008. – 363 с.
2. Нестабильность генома и эпигенетическое наследование эукариот / [Котлова Т. Ю., Волянский А. Ю., Кучма И. Ю. и др.]. – Х. : Око, 2007. – 288 с.
3. Пирузян Э. С. Плазмиды агробактерий и генетическая инженерия растений / Э. С. Пирузян. – М. : Наука, 1988. – 304 с..
4. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды / А. Сассон ; [пер. с англ. ; под ред. В. Г. Дебабова]. – М. : Мир, 1987. – 411 с.
5. Сидоров В. А. Биотехнология растений. Клеточная селекция / В. А. Сидоров. – К. : Наук. думка, 1990. – 280 с.
6. Сельскохозяйственная биотехнология : учеб. / [В. С. Шевелуха, Е. А. Калашникова, С. В. Дегтярев и др.] ; под ред. В. С. Шевелухи. – М. : Высш. школа, 1998. – 416 с.
7. Современные проблемы генетики, биотехнологии и селекции растений : сб. тезис. междунар. конф. молодых ученых. – Х. : Ин-т растениеводства им. В. Я. Юрьева, 2001. – 312 с.

## 10. Посилання на інформаційні ресурси в Інтернеті, відео-лекції.

1. [Subscribe.ru](http://Subscribe.ru) / новости науки
2. [elementy.ru](http://elementy.ru)
3. [ElLibrary.ru](http://ElLibrary.ru)

### Інше методичне забезпечення.

1. Електронний варіант конспекту лекцій «Генна інженерія рослин», ілюстративний матеріал – комплекс презентацій «Генна інженерія рослин».

2. Бібліотечний фонд кафедри.

4. Генная инженерия растений: учебное пособие для студентов пятого курса биологического факультета / В.Ф.Тимошенко, В.В.Жмурко, В.В.Тимошенко.-Х.: ХНУ шимени В.Н. Каразина. 2013.- 108с.