

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт химической биологии и фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской академии наук**



УТВЕРЖДАЮ
Директор ИХБФМ СО РАН
чл.-корр. РАН
Д.В. Пышный

Рабочая программа

Клеточная биология

Научная специальность: 1.5.22 Клеточная биология

Уровень подготовки:

высшее образование - подготовка кадров высшей квалификации - программа подготовки научных и научно - педагогических кадров в аспирантуре

Форма обучения: очная

Новосибирск, 2022

Рабочая программа составлена на основании федеральных государственных требований к структуре программ подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре, утвержденных Приказом Министерства науки и высшего образования РФ от 20 октября 2021 г. №951.

Программу составили: академик РАН, профессор, д.б.н. И.Ф. Жимулев, профессор, д.б.н. Е.И. Рябчикова.

Программа утверждена Ученым советом ИХБФМ СО РАН от 24.06.2022 протокол №8.

Количество зачетных единиц 6 з.е. /216 часов: 5 з.е. /180 часов самостоятельная работа, 1 з.е. /36 часов кандидатский экзамен. Самостоятельное изучение предусматривает возможность консультации с преподавателями и научными сотрудниками Института по вопросам учебного курса и посещение лекций, разработанных профессорско-преподавательским составом кафедры молекулярной биологии и биотехнологий ФЕН НГУ – сотрудниками ИХБФМ СО РАН.

1. Организационно-методический раздел.

Дисциплина «Клеточная биология» предназначена для углубленного изучения современного состояния науки, занимающейся исследованием происхождения, строения, развития, функционирования клеток и тканей, их взаимодействия в процессе жизнедеятельности организма как в норме, так и при различных патологических нарушениях.

Основной целью освоения дисциплины является создание основ для глубокого понимания процессов функционирования тканей, клеток, клеточных органелл, происходящих на всех уровнях организации живой материи.

Для достижения поставленной цели выделяются задачи курса: Изучение насущных проблем, новейших достижений, а также современных методик клеточной биологии, биотехнологии и генной инженерии, а также обучение аспирантов работать с научной литературой, решать задачи клеточной биологии. По окончании изучения курса аспирант должен иметь представление о взаимосвязи таких фундаментальных биологических дисциплин как клеточная биология, молекулярная генетика, генетика, иммуногенетика, молекулярная биология, биохимия, физиология и современных приложений этих наук в виде клеточной инженерии, биотехнологии, генной инженерии, знать закономерности цито- и гистогенеза, строения и функции клеток и тканей; закономерности дифференцировки клеток и тканей, их физиологической регенерации и регуляции этих процессов; роль клеточных органелл, их взаимодействий в процессах развития и функционирования биологических систем; молекулярные, иммунологические и физиологические аспекты изучения клеток многоклеточных организмов в норме и патологии; принципы разработки экспериментальных моделей, методов цитологической диагностики, морфометрии, маркерной гисто- и цитохимии и способы модификации генов с целью изменения метаболических процессов при создании трансгенных организмов.

Формы контроля.

Для контроля усвоения дисциплины учебным планом предусмотрен экзамен.

2. Тематический план курса

Наименование разделов и тем
1. Введение в клеточную биологию. Методы клеточной биологии.
2. Клетка и ее жизненный цикл
3. Организация и функционирование ядра. Цитоплазма
4. Мембраны. Цитоскелет и внеклеточный матрикс
5. Микроскопия

3. Содержание дисциплины

Введение

Основу настоящей программы составляют современные данные по клеточной биологии, включающие представления об общих принципах и закономерностях дифференцировки клеток и тканей, их физиологической регенерации и регуляции этих процессов, а также о процессах дифференцировки и жизнедеятельности недифференцированных клеток, сведения по взаимоотношению клеток, тканей и функциональных систем организмов, изменчивости организмов, а также по регуляции экспрессии генов млекопитающих.

1. Клеточная теория.

Положения клеточной теории. Органеллы клетки. История открытия клеточных органелл. Хромосомная теория наследственности - история развития и доказательства. Локализация основных внутриклеточных процессов.

2. Организация и функционирование ядра.

Идентификация хромосом. Кариотип и идеограмма. Дифференциальные окраски хромосом. "Правило Меллера" и синтения.

Структурная организация клеточного ядра. Ядерная оболочка. Ядерные поры. Ядерный матрикс. Пространственная организация хромосом в интерфазном ядре. Методы исследования пространственной организации интерфазного ядра.

Клеточный цикл. Периоды клеточного цикла. Митоз. Митотический аппарат: веретено деления, клеточный центр, кинетохор. Цитокинез. Регуляция клеточного цикла - роль циклинов и циклин-зависимых киназ. Митотический осциллятор. Стадийное усложнение клеточного цикла в онтогенезе дрозофилы. Точки контроля клеточного цикла. Лицензионный фактор репликации и оболочка ядра. Апоптоз и его механизмы.

Метафазная хромосома. Центромерные и теломерные районы (роль теломеразы). Эу- и гетерохроматин. Исследование хромосом с помощью FISH. Хромосомные перестройки. А и В хромосомы.

Гетерохроматин. Различия эу- и гетерохроматина. Время репликации гетерохроматина. Состав ДНК гетерохроматина. Гены, расположенные в гетерохроматине. Интеркалярный и прицентромерный гетерохроматин. Гетерохроматин и рекомбинация. Эффект положения гена и гетерохроматин.

Политенные хромосомы. Распространенность политении в природе. Хромомерная организация. Пуфы в политенных хромосомах. Использование политенных хромосом в цитогенетике.

Организация транскрипции в интерфазном ядре. Посттранскрипционные процессы. Ядрышко. Регуляция транскрипции.

Уровни упаковки ДНК в хромосомах. Нуклеосомная организация хромосом. Ковалентные модификации гистонов и ДНК. Ремоделирование хроматина. Гистоновый код. Эпигенетика. Дозовая компенсация.

3. Мембраны.

Химический состав мембран. Производные терпенов и жирных кислот. Белки. Гликолипиды и гликопептиды. Избирательная проницаемость мембран. Сигнальные последовательности. Аппарат Гольджи. Процессы фосфорилирования и гликозилирования-дегликозилирования, в аппарате Гольджи. Везикулярный транспорт. Клатриновые пузырьки. Лизосомы, строение и функции. Вакуоль растительной клетки. Трансляция. Организация процессов трансляции. Рибосомы. Превращения белков в эндоплазматической сети (ЭПС). Посттрансляционные изменения белков в ЭПС.

Аутофагия как механизм элиминации поврежденных клеточных структур. Морфологические характеристики аутофагии. Клеточные структуры, обеспечивающие деградацию материала в процессе аутофагии.

4. Митохондрии и хлоропласты.

Особенности строения мембран митохондрий. Организация процессов окислительного фосфорилирования. Хлоропласты. Пространственная организация световой и темновой стадий фотосинтеза. Синтез углеводов и других соединений в хлоропластах. Особенности строения хлоропластов у C4 растений.

5. Цитоскелет и внеклеточный матрикс.

Микротрубочки, микрофиламенты, промежуточные филаменты. Строение. Организация в клетке. Функции. Роль цитоскелета во внутриклеточном транспорте веществ. Клеточные структуры, образованные элементами цитоскелета. Межклеточные контакты (связь с белками опухолевой супрессии). Ras сигналинг и другие типы сигналинга, управляющие клеточной пролиферацией. Морфогены и их движение по ткани (транцитоз).

6. Мейоз.

Роль мейоза в жизненном цикле. Стадии мейоза. На каких стадиях мейоза детерминируется и реализуется кроссинговер и сегрегация хромосом? Транскрипционная активность хромосом в профазе мейоза. Хромосомы типа ламповых щеток. Амплификация ДНК рибосомных генов. Хромосомные перестройки, их поведение в митозе и мейозе. Мейоз у полиплоидов. Организация сперматогенеза и оогенеза у *Drosophila melanogaster*.

Гибель клетки. Гибель клетки как условие существования многоклеточных организмов. Программируемая клеточная гибель, её морфологические характеристики и механизмы (апоптоз и некроптоз). Некроз – форма «внезапной» клеточной гибели.

7. Методы клеточной биологии.

Пересадка ядер и доказательство роли ядра в развитии. Слияние клеток и картирование генов. Клеточный цикл у гетерокарионов, полученных при слиянии клеток, находящихся на разных стадиях клеточного цикла. Получение межвидовых гибридов с помощью слияния протопластов у растений. Методы гибридизации *in situ* для локализации генов и выявления тканеспецифичности транскриптов. Многоцветная *in situ* гибридизация. Локализация белков с помощью антител. Методы трансгенеза у животных и растений. Направленный мутагенез и сайленсинг генов с помощью РНК интерференции. GFP белок и его использование в цитологии. Дрожжевая дигибридная система для поиска белок-белковых взаимодействий. Метод фагового дисплея для нахождения белков, связывающихся с заданным белком. Метод поиска белок-белковых взаимодействий основанный на явлении FRET между двумя спектрально-сдвинутыми GFP белками. Метод поиска белок-белковых взаимодействий основанный на восстановлении свечения GFP в белковых комплексах. Проект по насыщению генома встраивками GFP ловушки. Изучение внутриклеточной динамики белка с помощью GFP гибридных белков и метода фотовыжигания флуоресценции (FRAP). Изучение внутриклеточной динамики белков при помощи фотоактивируемых GFP гибридов. Метод лазерной микродиссекции. Метод микроманипулирования с помощью светового давления лазерного луча.

Культуры клеток: типы клеточных культур, методы культивирования клеток, методы визуализации живых клеточных культур. Применение клеточных культур в научных исследованиях.

8. Методы микроскопии.

Световая микроскопия в проходящем свете оптическая схема. Ход лучей и разрешающая способность. Поляризационная и темнопольная микроскопия. Метод фазового и интерференционного контраста. Флуоресцентная микроскопия. Ход лучей и разрешающая способность. Конфокальная микроскопия - принцип формирования изображения при сканировании. Туннельная и атомно-силовая микроскопия - принцип работы. Принцип работы проточного цитометра и клеточного сортера. Приготовление препаратов для флуоресцентной микроскопии.

Электронная микроскопия, просвечивающая и растровая, их отличия. Особенности подготовки объектов для электронно-микроскопического исследования, обусловленные физическими условиями в колонне микроскопа. Органоиды клетки, видимые только с помощью просвечивающего электронного микроскопа.

Перечень контрольных вопросов.

1. Упаковка ДНК в хромосомах
2. Точки контроля клеточного цикла
3. Фактор репликации, обеспечивающий чередование репликации и митоза
4. Методы клеточной биологии
5. Метод репортерных генов для изучения тканеспецифичности работы генов
6. Роль клеточного ядра в развитии
7. Тотипотентность генома
8. Конфокальная микроскопия - принцип получения изображений при сканировании.
9. Стадия мейоза, когда детерминируется сегрегация хромосом и кроссинговер
10. Детерминация и дифференцировка
11. Апоптоз
12. Флуоресцентная микроскопия, ход лучей, разрешающая способность.

13. Раннее эмбриональное развитие дрозофилы
14. Дифференциальная активность генов в ходе развития
15. Гомология генов, контролирующая раннее развитие
16. Причины возникновения опухолей
17. Кариотип и идеограмма
18. Дифференциальные окраски хромосом
19. Микроскопия в проходящем свете, ход лучей и разрешающая способность.
20. Стадия мейоза, когда реализуется сегрегация и кроссинговер
21. Многоцветная *in situ* гибридизация.
22. Различия эу- и гетерохроматина. Время репликации гетерохроматина и состав его ДНК. Интеркалярный и прицентромерный гетерохроматин.
23. Слияние клеток и картирование генов.
24. Туннельная и атомно-силовая микроскопия, принцип работы.
25. Формирование гетерохроматиновых районов в онтогенезе дрозофилы. Интеркалярный гетерохроматин в пахитенных хромосомах кукурузы.
26. Межклеточные контакты. Роль межклеточных контактов в регуляции пролиферации
27. Эффект положения гена и гетерохроматин.
28. Регуляция клеточного цикла - роль циклинов и циклин-зависимых киназ
29. Гетерохроматин и рекомбинация
30. Организация политенных хромосом, диски, междиски, пuffs.
31. GFP белок и его использование в цитологии.
32. Геномные проекты. Методика микроэмульсий.
33. Гетерокарионы. Применение метода соматической гибридизации для изучения процессов дифференцировки и картирования.
34. Метод репортерных генов.
35. Изучение внутриклеточной динамики белка с помощью GFP гибридных белков и метода фотовыжигания флуоресценции (FRAP).
36. Флуоресцентная микроскопия, ход лучей, разрешающая способность.
37. Методы гибридизации *in situ* для локализации генов и выявления тканеспецифичности транскриптов.
38. Метод поиска белок-белковых взаимодействий основанный на явлении FRET между двумя спектрально-сдвинутыми GFP белками. Метод поиска белок-белковых взаимодействий основанный на восстановлении свечения GFP в белковых комплексах

Образцы вопросов для подготовки к экзамену

1. Клеточная теория. Органеллы клетки. Хромосомная теория наследственности и ее доказательства.
2. Структура и организация клеточного ядра. Ядерная оболочка, ядерные поры: их структура и функция.
3. Митоз. Веретено, кинетохор, centrosoma. Регуляция митоза и циклин В.
4. Периоды клеточного цикла. Цитокинез.
5. Метафазная хромосома. Структура центромерных и теломерных районов. Роль теломеразы.
6. Точки контроля клеточного цикла. Усложнение стадий клеточного цикла в онтогенезе дрозофилы. Сигналы, регулирующие пролиферацию.

7. Клеточные органеллы, в которых происходят синтез и модификация белков. Дрожжевая дигибридная система для поиска белок-белковых взаимодействий.
8. Строение хромосом. Изменения в организации морфологии хромосом в ходе митоза и мейоза. Онтогенетическая изменчивость хромосом. Репродукция хромосом.
9. Хромосомные перестройки. Эффект положения гена. Распространение инактивации. Эффект Дубинина.
10. Организация транскрипции в интерфазном ядре и ее регуляция. Посттранскрипционные процессы. Ядрышко.
11. Направленный мутагенез и сайленсинг генов с помощью РНК интерференции.
12. Пересадка ядер и доказательство роли ядра в развитии.
13. Организация хромосом прокариот и эукариот. Компоненты хроматина. Уровни упаковки хроматина, нуклеосомы.
14. Пространственная организация хромосом в интерфазном ядре. Методы исследования пространственной организации интерфазного ядра. Цитоскелет. Микротрубочки, микрофиламенты, промежуточные филаменты. Роль цитоскелета во внутриклеточном транспорте веществ и делении клетки.
15. Химический состав мембран. Аппарат Гольджи. Везикулярный транспорт. Лизосомы. Эндоплазматическая сеть.
16. Уровни упаковки ДНК в хромосомах. Нуклеосомная организация хромосом. Гистоновый код. Ремоделирование хроматина.
17. Организация метафазной хромосомы. Типы хромосомных перестроек. А и В хромосомы.
18. Стадии мейоза. Транскрипционная активность хромосом в профазе мейоза, хромосомы типа "ламповых щеток".
19. Политенные хромосомы, многонитчатость политенных хромосом, синапсис и асинапсис гомологов, хромомерная организация, использование в цитогенетике.
20. Хромосомные перестройки. Особенности мейоза при различных типах перестроек.
21. Метод лазерной микродиссекции. Метод микроманипулирования с помощью светового давления лазерного луча. Принцип работы проточного цитометра и клеточного сортера.
22. Основы клеточной инженерии растений и животных: трансформация клеток высших организмов, введение генов в зародышевые и соматические клетки животных. Получение трансгенных организмов.
23. Получение межвидовых гибридов с помощью слияния протопластов у растений.
24. Электронная просвечивающая и сканирующая микроскопии, разрешающая способность. Особенности приготовления препаратов для электронной микроскопии.
25. Поляризационная и темнопольная микроскопия. Метод фазового контраста.
26. Понятие о стволовых клетках крови (СКК) и колониеобразующих единицах (КОЕ). Характеристика полипотентных предшественников (стволовых коммитированных клеток), унипотентных предшественников, бластных форм.

Список основной рекомендуемой литературы

1. Альбертс Б. и др. Молекулярная биология клетки. Т.Т. 1-5. М.: Мир, 1986, 1987.
2. де Робертис Э., Новинский В., Саэс Ф. Биология клетки. Москва, Мир, 1973.
3. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика, Новосибирск, 2002, Изд-во НГУ.
4. Коряков Д.Е., Жимулев И.Ф. Хромосомы, структура и функция. Новосибирск 2009. Изд-во СО РАН
5. Заварзин А.А, Харазова А.Д., Молитвин М.Н. Биология клетки: общая цитология. С-Пб: Изд-во С-ПбГУ, 1992.
6. Зенгбуш П. Молекулярная и клеточная биология. Т.Т. 1-3. М.: Мир, 1982.
7. Ченцов Ю.С. Введение в клеточную биологию. Учебник для вузов. – 4-ое изд., перераб. и доп. М.: ИКЦ «Академкнига», 2004.
8. Гистология, цитология и эмбриология Учебник, 5-е издание. Под ред. Ю.И. Афанасьева и Н.А. Юриной. – М.: Медицина, 1999.
9. Быков В.Л. Цитология и общая гистология. Функциональная морфология клеток и тканей человека. С.- Петербург: Сотис, 1998.
10. Геномика. Роль в медицине (Genomics: Applications in Human Biology) С. Примроуз, Р. Тваймен 2008 г. Изд-во: Бином. Лаборатория знаний
11. Клетки (Cells). Редакторы Б. Льюин, Л. Кассимерис, В. П. Лингаппа, Д. Плоппер. 2011 г. Изд-во: Бином. Лаборатория знаний Серия: Лучший зарубежный учебник

Дополнительная литература

1. Электронный учебник по молекулярной биологии и генетике, геномике, протеомике и другим близким областям знания (<http://www.learner.org/courses/biology/index.html>)
2. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки, 2 изд. (1994; англ изд. 1989), Мир, Москва.
3. Омелянчук Л.В., Трунова С.А., Лебедева Л.И., Федорова С.А. Основные события клеточного цикла, их регуляция и организация. Генетика. 2004. т. 40. с. 293-310.
4. Лебедева Л.И., Федорова С.А., Трунова С.А., Омелянчук Л.В. Митоз. Регуляция и организация деления клеточного ядра. Генетика. 2004. т.40. с. 1589-1608.

Материально-техническое обеспечение дисциплины

1. В качестве технического обеспечения лекционного процесса используется ноутбук, мультимедийный проектор, доска.
2. Для демонстрации иллюстрационного материала используется программа Microsoft Power Point 2003.
3. Проведение экзамена обеспечивается печатным раздаточным материалом.

Интернет-источники:

Научная библиотека eLIBRARY.RU, более 50 полнотекстовых версий журналов по тематике курса.

Электронные версии журналов на сайте ИХБФМ СО РАН (www.niboch.nsc.ru)

Реферативные журналы ВИНТИ РАН – полные тексты - на сайте Отделения ГПНТБ СО РАН (<http://www.prometeus.nsc.ru>)

Биология (доступ с 2006 г.)

Химия (доступ с 1981 г.)

Медицина (доступ с 1998 г.)

“Патенты России”- полнотекстовая БД на сайте Отделения ГПНТБ СО РАН (<http://www.prometeus.nsc.ru>).

Полнотекстовая электронная библиотечная система “КнигаФонд” на сайте ИХБФМ СО РАН (www.niboch.nsc.ru).

Полные тексты статей к журналам издательства Эльзевир “Freedom Collection” на сайте ИХБФМ СО РАН (www.niboch.nsc.ru).

Полнотекстовой доступ к журналам издательства American Chemical Society на сайте ИХБФМ СО РАН (www.niboch.nsc.ru).

Полнотекстовой доступ к журналам издательства NPG: Nature, Nature Chemistry, Nature Materials, Nature Methods, Nature Nanotechnology, Nature Biotechnology, на сайте ИХБФМ СО РАН (www.niboch.nsc.ru).

Полнотекстовой доступ к журналу Science на сайте ИХБФМ СО РАН (www.niboch.nsc.ru).

Полнотекстовой доступ к журналам университетского издательства Oxford University Press на сайте ИХБФМ СО РАН (www.niboch.nsc.ru).

Полнотекстовой доступ к журналам издательства Taylor & Francis сайте ИХБФМ СО РАН (www.niboch.nsc.ru).

Полнотекстовой доступ к журналам издательства Wiley сайте ИХБФМ СО РАН (www.niboch.nsc.ru).

Полнотекстовой доступ к журналам издательства Springer на сайте ИХБФМ СО РАН (www.niboch.nsc.ru).

Доступ к базе структурного поиска Reaxys на сайте ИХБФМ СО РАН (www.niboch.nsc.ru).

Reaxys - новый информационный ресурс для химиков-аналитиков.

Доступ к реферативной базе Web of Science самой авторитетной в мире базе данных по научному цитированию Института научной информации США на сайте ИХБФМ СО РАН (www.niboch.nsc.ru).

Все полнотекстовые базы данных доступны по IP-адресам Института, они приобретены за счет грантов РФФИ, а так же по подписке и покупке за счет собственных средств ИХБФМ СО РАН.

Свободные источники: SciGuide, Free Medical Journals, PubMed Central (PMC), Stanford University's HighWire Press, Библиотека электронных журналов в г. Регенсбург (Германия)

Оборудование:

Компьютеры в лабораториях и библиотеке ИХБФМ СО РАН и ИМКБ СО РАН