

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТУ БОТАНІКИ ІМ. М.Г. ХОЛОДНОГО

ЗАТВЕРДЖЕНО

Вченого радою Інституту ботаніки ім.
М.Г. Холодного НАН України
24 травня 2016 р., протокол № 7

Голова вченої ради, чл.-кор. НАН України



ПРОГРАМА

вступних іспитів до аспірантури
Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
для підготовки докторів філософії (PhD)
на третьому (освітньо-науковому рівні)
за спеціальністю 091 Біологія
(спеціалізація цитологія, клітинна біологія, гістологія)

ЗАТВЕРДЖЕНО

Вченого радою Інституту ботаніки
ім. М.Г. Холодного НАН України
24 травня 2016 р., протокол № 7

ПРОГРАМА

вступних іспитів до аспірантури
Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
для підготовки докторів філософії (PhD)
на третьому (освітньо-науковому рівні)
за спеціальністю 091 **Біологія** (спеціалізація цитологія, клітинна біологія, гістологія)

1. Загальні положення

Клітина – елементарна одиниця живого. Стислий нарис історії клітинної біології. Клітинна теорія А. ван Левенгука, Я. Шлейдена і Т. Шванна. Внесок у розвиток цитології, клітинної біології та гістології Р. Вірхова, К. Гольджі, С.Г. Навашина, М.К. Кольцова, Д.М. Насонова, А.С. Трошина, Г.О. Левицького, Я.С.Модилевського, П.Ф. Оксюка, А.О. Сапегіна. Клітини прокаріот та еукаріот. Особливості будови клітин тварин, рослин, мікроорганізмів та грибів. Totipotentність рослинних клітин.

Місце клітинної біології, як основи сучасних наук про живі організми, в системі біологічних дисциплін. Цілі і завдання клітинної біології на сучасному етапі її розвитку. Значення клітинної біології для медицини, сільського господарства та біотехнології.

2. Методи дослідження клітин

Арсенал методів: від живих клітин до макромолекулярних комплексів. Світлова мікроскопія. Фазово-контрастна, інтерференційна, поляризаційна, флуоресцентна та конфокальна лазерна скануюча мікроскопія. Методи виготовлення препаратів для світлової мікроскопії. Сутність та методи фіксації мікрооб'єктів, забарвлення препаратів та їх укладення в бальзам, смоли, желатин. Мікротомія із використанням санних, ротаційних і кріостатних мікротомів. Метод заморожування.

Електронна мікроскопія (трансмісійна та скануюча). Методи виготовлення препаратів для електронної мікроскопії. Загальні правила та умови фіксації тканин в електронній мікроскопії. Заливка. Епоксидні смоли. Мікрофотозйомка.

Атомно-силова та зондова мікроскопія Скануюча тунельна мікроскопія. Електросилова та магнітносилова мікроскопія.

Імуногістохімія. Основний принцип метода. Реакція антиген-антитіло. Моноклональні та поліклональні антитіла. Флуоресцентні маркери та їх візуалізація в клітинах. Поняття афінності антитіл. Імунопероксидазний метод. Способи контролю специфічності імуногітохімічної реакції.

Методи фракціонування і виділення різних органел клітин. Ультрацентрифугування. Проточна цитофлуорометрія. Флуорохроми. Застосування проточної цитофлуорометрії для визначення експресії поверхневих і внутрішньоклітинних молекул, проліферації, клітинного циклу, життєздатності, апоптозу, фагоцитозу і некрозу, продукції активних форм кисню та оксиду азоту, визначення мембраниного потенціалу. Мас-цитометрія.

Метод магнітної радіоспектроскопії: ядерний магнітний резонанс, електронний парамагнітний резонанс. Рентгеноструктурний аналіз.

Культура клітин і тканин. Історія методу тканинних культур. Типи клітинних культур: первинні, вторинні, суспензійні та моношарові. Живильні середовища. Особливості культивування рослинних клітин. Методи отримання каллуса і його культивування. Методи отримання суспензійних культур. Методи отримання і підтримки культур ізольованих

протопластів. Культури клітин як інструмент наукових досліджень. Банки культур клітин людини, тварин і рослин для збереження генофонду. Біотехнології на основі культур клітин, тканин і органів рослин. Методи трансфекції. Генетичний матеріал, який використовується для трансфекції: трансформація бактеріальних клітин, виділення плазмід, рестриктний аналіз плазмід. Транзентна та стабільна трансфекція. Використання стовбурових клітин в медицині та науці. Теоретичні і практичні основи отримання противірусних вакцин для тварин і людини за допомогою культур клітин. Гібридомна технологія у виробництві моноклональних антитіл, напрями їх використання. Клонування тварин.

Методи якісного та кількісного аналізу експресії генів в тканинах і клітинах. Метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Детекція результатів ПЛР (метод горизонтального електрофорезу, метод вертикального електрофорезу, метод гібридизації після ампліфікації, метод гібридизації в процесі ампліфікації). ПЛР з детекцією в режимі «реального часу». Підбір праймерів для проведення якісної і кількісної полімеразної ланцюгової реакції.

3. Будова та функції клітин

Будова клітин прокаріот і еукаріот. Сучасні уявлення про походження еукаріотичної клітини; ендосимбіотична гіпотеза.

Роль ядра в житті клітини: зберігання, реалізації та передачі генетичної інформації і в синтезі білка. Форма і кількість ядер. Поняття про ядерно - цитоплазматичне відношення. Загальний план будови інтерфазного ядра: хроматин, ядерце, ядерна оболонка, ламіна, порові комплекси та їхні функції. Взаємозв'язок кількості ядерних пор і інтенсивності метаболічної активності клітин. Зв'язок ядерної оболонки з ендоплазматичною мережею; роль зовнішньої мембрани в процесі новоутворення клітинних мембран. Хімічний склад і будова ядерного матрикса.

Хромосоми. Рівні структурної організації хромосом: петлеві домени, білковий матрикс хромосом, ієархія рівнів компактизації ДНК. Функції хромосом в процесі реалізації спадкової програми: інформативна, реплікативна, сегрегаційна, рекомбінаційна, транскрипційна. Хромосомні і хроматидні aberracii.

Хроматин. Будова та хімічний склад. Роль основних і кислих білків в структуризації і в регуляції метаболічної активності хроматину. Гетерохроматин і еухроматин, їх функціональне значення і структуризація.

Рівні компактизації ДНК. Нуклеосомний рівень. 30 нм- фібрила - основний нативний компонент хроматину. Третій рівень компактизації ДНК - петлеві домени. Хромонемний рівень укладання фібрил хроматину. Хромонеми в інтерфазних ядрах. Будова і типи мітотичних хромосом. Диференціальне забарвлення хромосом. Поняття про каріотип.

Ядерце. Хімічний склад і функції. Компоненти активного ядерця: ядерцевий організатор (фібрилярний центр), щільний фібрилярний компонент, гранулярний компонент, окологришковий гетерохроматин, білковий матрикс. Транскрипція і процесинг рибосомальної РНК.

Просторовий поділ процесів транскрипції і трансляції та їх роль в регуляції клітинного метаболізму. Елементи клітинного контролю процесу транскрипції. РНК-полімерази. Промотори, оператори, термінатори, енхансери. Регуляторні білки. Структура матричної РНК. РНК-процесинг. Інtronи і екзони. РНК-сплайсинг. Рибосомальна РНК. Механізми переносу РНК з ядра в цитоплазму.

Білок-синтезуючий апарат. Типи ендоплазматичного ретикулуму та його роль в просторовому розподілі внутрішньоклітинних процесів. Структура та роль рибосом в синтезі білка. Зв'язок рибосом з ендоплазматичним ретикулумом. Синтез білка. Перенос білка в цистерни ендоплазматичного ретикулума в процесі трансляції. Інгібтори трансляції. Антибіотики. Енергетика трансляції. Транспортна РНК. Аміноацил-РНК-сінтетаза. Процесинг білків.

Цитоплазма як складно-структурена система; її хімічний склад. Компартменталізація. Гіалоплазма (цитозоль). Визначення, фізико-хімічні властивості, хімічний склад. Значення в обміні речовин і підтримці цілісності цитоплазматичних структур клітини.

Цитоплазматична мембра (плазмалема) та мембрани органел цитоплазми. Молекулярна організація клітинних мембран та їхні функції. Хімічний склад і будова цитоплазматичної мембрани, моделі її організації. Ліпіди – фосфоліпіди, холестерин, мінорні ліпіди, гліколіпіди. Ліпідний бішар, міцели та ліпосоми. Білки – трансмембранні, периферичні, інтегральні, глікопротеїни. Полісахариди, протеоглікани, гліокалікс – склад, функція. Ліпідні рафти та їхні функції. Бар'єрна, транспортна і сигнальна функція цитоплазматичної мембрани. Поняття про пасивний і активний транспорт речовин через мембрану. Білки – переносники іонів. Натрій-калієвий насос. Іонні канали. Роль цитоплазматичної мембрани в процесах фагоцитозу і піноцитозу. Рецепторні функції цитоплазматичної мембрани. Механізми взаємодії лігандів з рецепторами. Зв'язок цитоплазматичної мембрани з елементами цитоскелету. Міжклітинні контакти, основні типи міжклітинних контактів, їх білкові компоненти. Плазмодесми. Деривати цитоплазматичної мембрани.

Пластиди. Типи пластид, їх будова та функції. Хлоропласти. Будова фотосинтетичних мембран (тилакоїдів) у прокаріот та еукаріот. Геном пластид та можливості його модифікації методами генної інженерії. Біогенез пластид. Проблема походження пластид. Фотофосфорилювання. Основні етапи фотосинтезу. Особливості генома пластид. Взаємозв'язок генома і пластому рослинних клітин.

Мітохондрії. Будова, хімічний склад та функції мітохондрій. Роль мітохондрій в синтезі та накопиченні АТФ. Шляхи синтезу АТФ в клітині; анаеробний гліколіз та окислювальне фосфорилювання. Зміна структури мітохондрій в залежності від їх функціонального стану. Проблема походження мітохондрій. Геном мітохондрій та можливості його модифікації методами генної інженерії.

Загальна характеристика ендоплазматичного ретикулуму; його типи, хімічний склад та функції. Ергастоплаズма. Саркоплазматичний ретикулум та його функції.

Мікротільця. Будова, функціональне значення та походження мікротілець: пероксисом та гліоксисом. Взаємодія мікротілець з іншими органелами клітини.

Апарат Гольджі. Загальна характеристика апарату Гольджі в тваринних і рослинних клітинах; його локалізація, будова, хімічний склад та функції. Формування первинних лізосом в апараті Гольджі. Вторинні лізосоми.

Біогенез вакуолі та її роль в метаболізмі рослинної клітини. Тонопласт. Хімічний склад вакуолей у нижчих та вищих рослин.

Структура і функції центролі, реплікація, участь в діленні клітини. Аналоги центролей у найпростіших. Зв'язок центролярних структур з рухомістю клітини: базальні тільця.

Будова і функції клітинної оболонки рослин, її біогенез та зміни в онтогенезі рослин.

Будова, хімічний склад, локалізація та функціональне значення різного роду включенів в рослинних і тваринних клітинах.

Загальні принципи організації цитоскелету. Регуляція функціонування цитоскелету. Роль цитоскелету в просторовій організації цитоплазми. Мікрофіламенти. Зв'язок мікрофіламентів з цитоплазматичною мембраною та іншими структурами клітини, їхня динаміка в процесі життя клітини. Актин-зв'язуючі білки. Проміжні філаменти, їхня структура. Актин, міозин та їхні ізоформи. Тропонін і тропоміозин, інші білки-саркомери. Механізм м'язового скорочення. Мікротрубочки. Структура тубуліну і асоційованих з ним білків. Зв'язок мікротрубочок з іншими компонентами клітини. Структура джгутиків та війок у еукаріотичних клітинах, принципи їх руху.

4. Відтворення клітин

Сучасні уявлення про життєвий цикл клітини. Характеристика основних фаз клітинного циклу. Механізми регуляції клітинного циклу; роль циклінів і циклін-залежних кіназ, роль цитокінів і факторів росту в його регуляції. Контрольні точки. Регуляція клітинного циклу в ембріогенезі. Реорганізація ядра і органел в міозі. Роль реплікації ДНК. Ферменти і білки реплікації. Міоз; фази міозу та їх характеристика. Метаболізм клітини, яка ділиться. Регуляція міозу, питання про пусковий механізм міозу. Аміоз. Ендоміоз. Поняття про цитокінез. Поліплоїдія, механізм її виникнення. Політенія. Роль поліплоїдії в

диференціюванні, рості та регенерації клітин. Мейоз, типи і фази мейозу. Кон'югація хромосом, кросинговер. Біологічне значення мейозу.

5. Диференціювання клітин

Диференціювання клітин – виникнення гетерогенного клітинного складу організма, що забезпечує різноманітність його функцій. Розвиток фенотипічних особливостей клітин і тканин в процесі диференціювання. Синтез специфічних білків. Моделі диференціювання клітин. Меристема і особливості її диференціювання. Фактори регуляції росту рослинних клітин. Фітогормони та механізм їхньої дії. Механізми підтримання цілісності тканин. Порушення цитодиференціювання при пухлинних трансформаціях.

Мобільність геному клітини і генетична рекомбінація. Моделі генетичної рекомбінації. Регуляторне значення перебудов геному.

6. Вплив фізичних та хімічних факторів на клітину.

Структурні і функціональні зміни клітин і окремих клітинних компонентів в процесах реактивності та адаптації. Фізіологічна і репаративна регенерація на клітинному рівні: сутність та механізми. Механізми репарації ДНК. Ендонуклеази. ДНК-М-глікозидази. Постреплікативна репарація. Фоторепарація. Поняття про повну та неповну репарацію клітин. Теорія біологічного стресу Г.Сельє. Явище автофагії у еукаріот. Конститутивна і індуцібельна автофагія. Будова автофагосом. Білки ATG / APG, їх будова і функції. Особливості автофагії у рослин і тварин. Фізіологічна роль автофагії.

7. Патологія клітини

Класифікація програмованої клітинної загибелі. Особливості запрограмованої клітинної загибелі у рослин: вакуолярний тип клітинної загибелі, раптова некротична загиbelь, апоптозоподібна клітинна загиbelь. Апоптоз і некроз: методи реєстрації. Морфологічні ознаки апоптозу і некрозу. Молекулярні механізми апоптозу. Індуктори апоптозу (ліганди, гормони, гранзім В, опромінення, хімічні агенти). Рецепторний, мітохондріальний шлях індукції апоптозу.

Рекомендована література:

1. Молекулярная биология клетки Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др/. В 3-х т. 1994. Мир: Москва.
2. Ботаника: Морфология и анатомия растений / Васильев А.Е., Воронин Н.С., Еленевский А.Г. и др.. 1988. Просвещение: Москва.
3. Водоросли. Справочник /Вассер С.П., Кондратьева Н.В., Масюк Н.Н. и др./. 1989. Наук. думка: Киев.
4. Ченцов Ю.С. Цитология: учебное пособие для университетов и медицинских вузов. 2010,. Медицинское информационное агентство: Москва.
5. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин, 2-е видання. 2005. Либідь: Київ.
6. Сиволоб А.В. Молекулярна біологія : підручник. 2008. Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет»: Київ.
7. Трускавецький Є.С. Цитологія: Підручник. 2004. Вища школа: Київ.
8. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. Molecular Biology of the Cell, 5th edition. 2014. Garland Science: New York.
9. Kirchhoff H. (Ed.) Chloroplasts: Current Research and Future Trends. 2016. Caister Academic Press.
10. Murphy A.S., Schulz B., Peer W. (Eds.) The Plant Plasma Membrane. 2011. Springer-Verlag: Berlin.
11. Rose R.J. (Ed.) Molecular Cell Biology of the Growth and Differentiation of Plant Cells. 2016. CRC Press.