

Федеральное агентство научных организаций

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт
генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова»



РАБОЧАЯ ПРОГРАММА
учебной дисциплины

ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ

Направление подготовки
06.06.01 «БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ»

Профиль направления подготовки
03.02.07 ГЕНЕТИКА

Квалификация выпускника: «Исследователь. Преподаватель-исследователь»

Форма обучения
Очная

Санкт-Петербург
2015 г

СОДЕРЖАНИЕ

1.	Цели и задачи освоения дисциплины	3
2.	Место дисциплины в структуре образовательной программы	3
3.	Результаты освоения дисциплины	3
4.	Структура и содержание дисциплины	5
	4.1. Содержание дисциплины	5
	4.2. Структура дисциплины	8
5.	Образовательные технологии	8
6.	Вопросы выходного контроля (зачет)	8
7.	Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины	9
8.	Материально-техническое обеспечение дисциплины	12
9.	Кадровое обеспечение дисциплины	12

1. Цель и задачи освоения дисциплины

Целью освоения дисциплины является:

- формирование систематизированных теоретических знаний аспирантов о закономерностях цитоплазматической наследственности и изменчивости, а также ознакомление слушателей с основными направлениями прикладных исследований в области цитоплазматической наследственности, связанных с решением задач селекции, биотехнологии, генетики растений, медицинской генетики.

Конечной целью является подготовка высококвалифицированных специалистов, обладающих глубокими знаниями в области современной генетики, способных самостоятельно грамотно решать научные задачи в исследовательской работе.

2. Место дисциплины в структуре образовательной программы

Дисциплина «Цитоплазматическая наследственность» является обязательной дисциплиной вариативной части ОП ВО цикла Б1. Основное внимание в преподавании данной дисциплины будет уделено цитоплазматической наследственности растений. Преподаванию дисциплины «Цитоплазматическая наследственность» предшествует освоение аспирантами курсов: «Общая генетика», «Молекулярная биология», «Биотехнология», «Ботаника».

Для качественного усвоения дисциплины аспирант должен:

знать:

- методику и технику селекционного процесса;
- современные методы подбора, создания и оценки исходного материала для селекции;
- основные методы фенотипического, биохимического и молекулярно-генетического маркерного анализа исходного и селекционно-значимого материала.

уметь:

- подбирать исходный материал для селекции;
- давать оценки коллекционному и селекционному материалу на основе знаний фенотипических, биохимических и молекулярно-генетических методик маркерного анализа;
- проводить фенотипические, биохимические и молекулярно-генетические маркерные анализы исходного и селекционного материала;
- оценивать соответствие фактически полученных данных с теоретически ожидаемыми.

3. Результаты освоения дисциплины

Процесс изучения дисциплины направлен на формирование элементов

следующих компетенций в соответствии с ФГОС ВО

В результате изучения дисциплины формируются и углубляются универсальные компетенции:

- способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях (УК -1);

- готовность использовать современные методы и технологии научной коммуникации на государственном и иностранном языках (УК – 4);

общефессиональные компетенции:

- способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно - коммуникационных технологий (ОПК – 1);

профессиональные компетенции

- способностью применять теоретические и экспериментальные знания по генетическому контролю признаков растений в научных исследованиях, предбридинге и селекции основных сельскохозяйственных растений (ПК-3)

- способность применять молекулярные маркеры для изучения и практического использования генетического разнообразия растений по хозяйственно-ценным признакам (ПК-4).

В результате освоения дисциплины аспирант должен:

Знать:

-закономерности цитоплазматической наследственности, современные концепции этого направления генетических исследований;

-современные направления и достижения фундаментальных и прикладных исследований цитоплазматической наследственности;

-иметь представления о классических методах генетики и молекулярно-генетических методах, используемых при изучении цитоплазматической наследственности.

Уметь:

- применять знания о закономерностях цитоплазматической наследственности при решении задач по генетике, грамотно объяснять результаты различных типов скрещиваний;

- уметь планировать эксперименты по изучению цитоплазматической наследственности, осуществлять их на практике и проводить анализ полученных данных

Владеть:

-методологией экспериментальных исследований изучения полиморфизма органелльных ДНК (владеть методами выделения и очистки ДНК, методом постановки ПЦР, рестрикционного анализа, методами электрофореза), владеть навыками работы с современным научным оборудованием.

4. Структура и содержание дисциплины

4.1. Содержание дисциплины

Тема 1.

Происхождение и эволюция клеточных органелл.

Теория эндосимбиоза; современные гипотезы происхождения органоидов (митохондрий и пластид) эукариотической клетки. Геномы растительной клетки – ядерный геном, пластом, хондриом. 2ч

Тема 2.

Закономерности нехромосомного наследования у эукариот.

Цитоплазматическая наследственность (наследование пестролистности у растений, наследование устойчивости к антибиотикам у хламидомонады, дыхательной недостаточности у дрожжей и нейроспоры и др.).
Модельные объекты в исследованиях цитоплазматической (нехромосомной) наследственности. 2ч

Тема 3.

Методы изучения геномов органелл.

Реципрокные, возвратные скрещивания, метод трансплантации, методы электронной и флуоресцентной микроскопии; дифференциальное центрифугирование; биохимические, автордиографические, молекулярно-генетические методы. История обнаружения ДНК в изолированных органеллах. 2ч

Тема 4.

Картирование геномов органелл.

Физические, генетические, молекулярные карты. Секвенирование геномов органелл растений. 2ч

Тема 5.

Генетическая система пластид.

Особенности организации геномов пластид. Гены пластидного генома. Гомологи пластидных генов в ядерном и мт-геномах. Репликация хлоропластной ДНК (хлДНК). Регуляция транскрипции хлДНК. Роль ядерных генов и механизмы посттранскрипционной регуляции функций хлоропластов. 2ч

Тема 6.

Генетическая система митохондрий.

Размеры и формы митохондриальных геномов. Особенности организации митохондриальных геномов растений по сравнению с мт-геномами других организмов. Гены мт-геномов растений. Гомологи митохондриальных генов в ядерном геноме. Репликация митохондриальной ДНК (мтДНК). Регуляция транскрипции мт-ДНК, редактирование РНК; ядерные РРР гены. 2ч

Тема 7.

Взаимодействие ядерных и внеядерных генов.

Аллоплазматические линии. Цитоплазматическая мужская стерильность у растений. Ядерные гены-восстановители фертильности: механизм действия. Генетические системы ЦМС-*Rf* и их использование в селекции и семеноводстве..... 2ч

Тема 8.

Биологическое конструирование клеточных растений.

Соматическая гибридизация растений. Гетероплазмия. Рекомбинация органелльных ДНК. Генетическая трансформация органелл. Транспластомные растения..... 2ч

Тема 9.

Полиморфизм пластидной и митохондриальной ДНК растений.

Полиморфизм пластидной и митохондриальной ДНК растений и его использование в популяционно-генетических и филогенетических исследованиях. Филогеография. Программа «Штрихкод жизни»..... 2ч

Тема 10.

Наследование внехромосомных генетических элементов.

Плазмиды, эписомы, транспозоны. Свойства плазмид: трансмиссивность, несовместимость, детерминирование признаков устойчивости к антибиотикам и другим лекарственным препаратам, и др. Использование плазмид в генетических исследованиях. 2ч

Тема 11.

Митохондриальный геном человека.

Митохондриальный геном человека - наследственные заболевания - проблемы медицинской генетики. Митохондриальный геном и канцерогенез. Митохондриальный геном и старение. 2ч

Практические занятия, их наименование, краткое содержание и объем в часах.

Практические занятия направлены на дальнейшее развитие теоретических знаний по изучаемой дисциплине и на формирование практических навыков самостоятельной исследовательской работы. Задачи на практикумах выполняются на индивидуальной основе. Аспиранты получают возможность выполнять сложные экспериментальные задачи по молекулярной генетике.

Вводное практическое занятие

Ознакомление с лабораторным оборудованием, правилами техники безопасности (2 часа).

Практическое занятие 1 (Тема 3).

Выделение тотальной ДНК обогащенной фракцией органельных ДНК (6 часов).

Практическое занятие 2 (Темы 3, 9).

Практикум по изучению полиморфизма различных последовательностей хлДНК с использованием методов: амплификации ДНК с помощью полимеразной цепной реакции, рестрикционного анализа амплификационных продуктов и методов электрофореза. Определение типов цитоплазмы у картофеля с использованием праймеров, специфичных к отдельным локусам хлДНК (16 часов).

Практическое занятие 3 (Темы 3, 9).

Практикум по изучению полиморфизма различных последовательностей мтДНК с использованием методов амплификации ДНК с помощью полимеразной цепной реакции, метода рестрикционного анализа амплификационных продуктов и методов электрофореза. Определение типов стерильных цитоплазм у подсолнечника, типов цитоплазм у картофеля с использованием праймеров, специфичных к отдельным локусам мтДНК (16 часов).

Практическое занятие 4 (Тема 7).

Практикум по молекулярной идентификации *Rf*- и *RFL-PPR*-генов у линий подсолнечника с различными типами цитоплазм (8 часов).

Практическое занятие 5 (Тема 8).

Практикум по изучению наследования органельных геномов у соматических гибридов растений (8 часов).

Практическое занятие 6 (Темы 5, 9).

Практикум по изучению полиморфизма пластидных микросателлитов (хлSSR) с использованием электрофореза в проточных полиакрилоамидных гелях. Ознакомление с работой системы для генотипирования LiCor 4300S (12 часов).

Практическое занятие 7 (Темы 5, 9).

Практикум по анализу полиморфизма первичных последовательностей хлДНК и мтДНК с использованием методов биоинформатики (4 часа).

4.2. Структура дисциплины

Виды работ	№ семестра 3	Всего, часов
Общая трудоемкость	108	108
Аудиторная работа	94	94
Лекций (Л)	22	22
Практические занятия	72	72
Самостоятельная работа	14	14
<i>Самостоятельное изучение разделов</i>	14	14
Вид итогового контроля	Зачет	

5. Образовательные технологии

В процессе изучения дисциплины используются как традиционные образовательные технологии: информационная лекция и практические занятия, так и информационно–коммуникационные образовательные технологии: лекция-визуализация. Практические занятия в отделе биотехнологии (6 занятий №№ 1-3, 5-7) и в отделе генетики (1 занятие № 4) ФГБНУ ФИЦ ВИР им. Н.И. Вавилова

6. Вопросы выходного контроля (зачет)

1. Теория эндосимбиоза - возникновение органоидов (митохондрий и пластид) эукариотической клетки.
- 1а. Сходные черты в организации органелл растительных клеток и в организации прокариотических клеток.
- 1 б. Взаимодействие геномов растительной клетки.
2. Особенности наследования клеточных органелл у растений. Привести примеры различных вариантов передачи хлДНК и мтДНК.
3. Особенности наследования органелл у соматических гибридов растений.
4. Транспластомные растения и вопросы биобезопасности.
5. Обосновать принципы выбора модельных объектов в исследованиях цитоплазматической наследственности.
6. Основные методы изучения геномов органелл.
7. Особенности организации пластидного генома.
8. Особый генетический код митохондрий как приспособление к существованию в цитоплазме эукариотической клетки.
9. Особенности организации митохондриального генома растительной клетки.
10. Признак цитоплазматической мужской стерильности у растений:

- фенотипы ЦМС, ассоциированные с ЦМС мутации митохондриальных генов.
- 10а. Роль межвидовой гибридизации в возникновении ЦМС.
11. Генетические механизмы цитоплазматической мужской стерильности.
- 11а. Методы идентификации генов, ассоциированных с признаком ЦМС.
12. Семейство *PPR*-генов у высших растений.
- 12а. Роль *PPR*-белков в антероградной/ретроградной регуляции.
RFL-PPR-гены и их роль в супрессии фенотипа ЦМС.
13. Создание аллоплазматических линий (примеры).
- 13а. Использование аллоплазматических линий в генетике и селекции.
14. Использование генетических систем ЦМС-*Rf* в селекции на гетерозис (примеры).
- 14а. Создание гетерозисного гибрида на основе цитоплазматической мужской стерильности.
- 14б. Опасность унификации типа цитоплазмы в гетерозисной селекции растений; пути ее преодоления.
15. Использование маркеров оргanelльных ДНК для видоидентификации и в исследованиях по филогеографии.
16. Особенности организации митохондриального генома животных и человека.
17. Болезни человека, связанные с митохондриальными мутациями.

7. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины

Основная литература

1. Антонов А.С. Основы геносистематики высших растений. 2000. М.: Наука/Интерпериодика. 136 с.
2. Генная инженерия растений. Лабораторное руководство: Пер. с англ./ под ред. Дж. Дрейпера, Р. Скотта, Ф. Армитиджа, Р. Уолдена. – М.: Мир, 1991. – 408 с.
3. Глеба Ю.Ю., Сытник К.М. Клеточная инженерия растений – Киев: Наукова думка, 1984.
4. Даниленко Н.Г., Давыденко О.Г. Миры геномов органелл/ под ред Н.Г. Даниленко, О.Г. Давыденко. – Мн.: Тэхналогія, 2003. – 494 с.
5. Ежова Т.А., О.В. Лебедева, О.А. Огаркова, А.А. Пенин, О.П. Солдатова, С.В. Шестаков. 2003. *Arabidopsis thaliana* – модельный объект генетики растений. М. «Макспресс». 2003.
6. Жимулёв И.Ф. Общая и молекулярная генетика/ под ред И.Ф. Жимулёва – Новосибирск: Сиб. Унив., 2002 - С. 241-243.
7. Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.: Высшая школа, 1989. – 592 с.
8. Лутова Л.А., Проворов Н.А., Тиходеёв О.Н. и др. Генетика развития растений: Учебник. СПб, «Наука», 544 с. ISBN: 5-02-026136-X.

9. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование/Перевод с англ. языка под редакцией А.А. Баева и К.Г. Скрыбина. М.: Мир, 1984. 479 с.
10. Минченко А.Г., Дударева Н.А. Митохондриальный геном, 1990. Новосибирск, "Наука".
11. Сэджер Р. Цитоплазматические гены и органеллы/ М.: "Мир", 1975. 424 с.

Дополнительная литература

Чтение дополнительной литературы из рекомендованного списка (pdf. файлы обзорных и экспериментальных статей аспирантам предоставляются).

1. Абрамсон Н.И. Филогеография: итоги, проблемы, перспективы. Вестник ВОГиС, 2007, Том 11, No 2, С. 307-331.
2. Анисимова И.Н., Алпатьева Н.В., Тимофеева Г.И. Скрининг генетических ресурсов растений с использованием ДНК-маркеров: основные принципы, выделение ДНК, постановка ПЦР, электрофорез в агарозном геле// Методические указания ВИР / под ред. Е.Е. Радченко. СПб: ВИР, 2010, 30 с.
3. Анисимова И.Н., Гаврилова В.А. Структурно-функциональное разнообразие генов, супрессирующих фенотип цитоплазматической мужской стерильности у растений // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2012. Т. 170. С. 3-16.
4. Анисимова И.Н., Алпатьева Н.В., Рожкова В.Т., Пинаев А.Г., Кузнецова Е.Б., Гаврилова В.А. Полиморфизм гомологов *RFL-PPR*-генов у линий подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) с различной способностью к супрессии фенотипа цитоплазматической мужской стерильности // Генетика. 2014. Т. 50. № 7. С. 814-824.
5. Гавриленко Т.А. 2005. Создание новых форм культурных растений на основе соматической гибридизации. В кн. "Идентифицированный генофонд растений и селекция" под ред. Б.В. Ригина, 2005. СПб, ВИР, С.628-644.
6. Дымшиц Г.М. Сюрпризы митохондриального генома // Природа. 2002. № 6. С. 54-61.
7. Иванов М.К., Дымшиц Г.М. Цитоплазматическая мужская стерильность и восстановление фертильности пыльцы у высших растений // Генетика. 2007. Т. 43. № 4. С. 437-476.
8. Заид А., Х.Г. Хьюз, Э. Поргедду. Перевод: Г. Комарова Т. Гавриленко, И. Анисимова, О. Антонова, О. Кузнецова, С. Харитонов. Словарь терминов по биотехнологии для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства. Продовольственная и сельскохозяйственная организация объединенных наций, Рим, 2008, 381 С.
9. Захаров-Гезехус И.А. Цитоплазматическая наследственность. 2014. Вавиловский журнал генетики и селекции, 2014, том 18, No 1, С. 93-102.
10. Матвеева Т.В., Павлова О.А., Богомаз Д.И., Демкович А.Е., Лутова Л.А. Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений. Экологическая генетика. 2011; IX (1): 32-43.
11. Сукерник Р.И. и др. Митохондриальный геном человека и митохондриальные болезни человека. Генетика. 2002. том 38, № 2, С. 1-10.

12. Сулимова Г.Е. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения//*Успехи соврем. биологии*. 2004. Т. 124. № 3. С. 260-271.
13. Шестаков С.В. О ранних этапах биологической эволюции с позиции геномики. Палеонтологический журнал, 2003, № 6, с. 50-57
14. Шнеер В.С. ДНК-штрихкодирование видов животных и растений - способ их молекулярной идентификации и изучения биоразнообразия//*Журнал общей биологии*. 2009. Т. 70. № 4. С. 296-315.
15. Юрина Н.П., Одинцова М.С. Сигнальные системы митохондрий растений: ретроградная регуляция // *Физиология растений*. 2010. Т. 57. № 1. С. 9-22.
16. Andres C., Lurin C., Small I.D. The multifarious roles of PPR proteins in plant mitochondrial gene expression // *Physiol. Plant*. 2007. V. 129. № 1. P. 14-20.
17. Bentolila S., Alfonso A. A., Hanson M. R. A pentatricopeptide repeat-containing gene restores fertility to cytoplasmic male-sterile plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2002. № 16. P. 10887-10892.
18. Chase M. W., Salamin N., Wilkinson M. et al. Land plants and DNA barcodes: short-term and longterm goals//*Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2005. Vol. 360. P. 1889-1895.
19. Chase C. D. Cytoplasmic male sterility: a window to the world of plant mitochondrial-nuclear interactions // *Trends in Genetics*. 2006. V. 23. № 3. P. 81-90.
20. Cowan R. S., Chase M. W., Kress W. J., Savolainen V. 300000 species to identify: problems, progress, and prospects in DNA barcoding of land plants//*Taxon.* , 2006. Vol. 55. I. 3. P. 611-616.
21. Drouin G., Daoud H., Xia J. Relative rates of synonymous substitutions in the mitochondrial, chloroplast and nuclear genomes of seed plants//*Mol. Phylogenet. Evol.* 2008. Vol. 49. I. 3. P. 827-31.
22. Gavrilenko T., O. Antonova, A. Shuvalova, E. Krylova, N. Alpatyeva, D. Spooner, L. Novikova. Genetic diversity and origin of cultivated potatoes based on plastid microsatellite polymorphism. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2013. vol. 60, Issue 7, p. 1997–2015.
23. Green D.R., Reed J.C.: Mitochondria and Apoptosis. *Science*, 1998. 281, p. 1309-1312.
24. Hosaka K., Ogihara Y., Matsubayashi M., Tsunewaki K. Phylogenetic relationship between the tuberous *Solanum* species as revealed by restriction endonuclease analysis of chloroplast DNA // *Jpn. J. Genet.* 1984. V. 59: 349-369.
25. Hosaka K. Sanetomo R. Development of a rapid identification method for potato cytoplasm and its use for evaluating Japanese collections. *TheorAppl Genet.* 2012, V. 125(6):1237-1251. DOI 10.1007/s00122-012-1909-4.
26. Horn R. Recombination: Cytoplasmic male sterility and fertility restoration in higher plants // *Progress in Botany*. 2006. V. 67. Springer Berlin Heidelberg. P. 31-52.
27. Kress W. J., Erickson D. L., 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region//*PLoS ONE*. Vol. 2. P.508.

28. Lössl A., Götz M., Braun A., Wenzel G. Molecular markers for cytoplasm in potato: male sterility and contribution of different plastid-mitochondrial configurations to starch production. // *Euphytica*. 2000. V. 116: 221-230.
29. Lurin C., Andres C., Aubourg S. et al. Genome-wide analysis of *Arabidopsis* pentatricopeptide repeat proteins reveals their essential role in organelle biogenesis // *Plant Cell*. 2004. V. 16. № 8. P. 2089–2103.
30. Schnabel P.S., Wise R.P. The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration // *Trend Plant Sci*. 1998. № 5. P. 175-180.
31. Selkoe K. A., Toonen R. J. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers // *Ecol Lett*. 2006. Vol. 9. P. 615-29.

8. Материально-техническое обеспечение дисциплины

При проведении практических занятий используются методические пособия и указания.

Для проведения практических занятий должны специально приобретаться реактивы и расходные материалы.

Оборудование:

Для выделения ДНК:

- центрифуга Eppendorf с ротором для центрифугирования планшетов,
- центрифуга с охлаждением Jouan с бакет-ротором для пробирок на 50 мл и адаптерами для пробирок на 15 мл,
- центрифуга с охлаждением Eppendorf для микропробирок,
- термошейкер,
- водяная баня с охлаждением,
- морозильная камера,
- спектрофотометр Genesis,

Для проведения ПЦР:

- камера для предотвращения контаминации,
- комплект автоматических и электронных пипеток Eppendorf,
- амплификаторы Perkin Elmer, BioRad и Eppendorf.

Для проведения электрофореза:

- электрофоретические камеры BioRad,
- источники питания фирмы Hoffer,
- система для фотографирования гелей BioRad,
- многоканальный шприц Hamilton для нанесения микроколичеств растворов на гель,
- система Li-Cor 4300S для электрофореза в проточных полиакриламидных гелях,
- комплект программ для генотипирования изображений Saga 2.

9. Кадровое обеспечение дисциплины

Реализацию образовательного процесса обеспечивают сотрудники:

д.б.н. Т.А. Гавриленко, к.б.н. О.Ю. Антонова (Практические занятия № 1-3, 5-7), д.б.н. И.Н. Анисимова (Лекция 4.7, практическое занятие № 4).

