

**Херсонський державний університет
Кафедра біології людини та імунології**

“ЗАТВЕРДЖУЮ”
Завідувач кафедри
біології людини та імунології
доц. Гасюк О.М. _____
“ ___ ” _____ 2019 року

РОБОЧА ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

Технологія вирощування об’єктів *in vitro*

Спеціальність: 014.05 Середня освіта (Біологія та здоров’я людини)

091 Біологія

Рівень вищої освіти: магістр

Факультет біології, географії і екології

Робоча програма навчальної дисципліни «**Технологія вирощування об'єктів *in vitro***» для здобувачів другого (магістерського) рівня спеціальності 014.05 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини) та 091 Біологія.

Розробники: Шкуропат Анастасія Вікторівна, кандидат біологічних наук, доцент кафедри біології людини і імунології

Робочу програму схвалено на засіданні кафедри біології людини та імунології

Протокол від “_” _____ 2019 року № ___

Завідувач кафедри біології людини та імунології_доцент Гасюк О.М.

_____ (_____)
(підпис) (прізвище та ініціали)

© _____, 2019__ рік

Опис навчальної дисципліни
1 семестр

Найменування показників	Галузь знань, напрям підготовки, рівень вищої освіти	Характеристика навчальної дисципліни	
		денна форма навчання	заочна форма навчання
Кількість кредитів – 2	Галузь знань 01 – Освіта 091 - Біологія	Нормативна (Цикл професійної та практичної (професійно-орієнтованої) підготовки)	
	Спеціальність: 014 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини), 091 Біологія		
Модулів – 2		Рік підготовки:	
Змістових модулів – 2		1-й	1-й
Загальна кількість годин - 60		Семестр	
		1-й	2-й
Тижневих годин для денної форми навчання: аудиторних – 2 самостійної роботи студента – 3	Рівень вищої освіти: Магістр	Лекції	
		4 год.	4 год.
		Практичні, семінарські	
		Лабораторні	
		14 год.	4 год.
		Самостійна робота	
42 год.	52 год.		
		Вид контролю: залік	

Примітка.

Співвідношення кількості годин аудиторних занять до самостійної і індивідуальної роботи становить (%):

для денної форми навчання – 50 %

для заочної форми навчання – 11,1 %

Опис навчальної дисципліни
2 семестр

Найменування показників	Галузь знань, напрям підготовки, рівень вищої освіти	Характеристика навчальної дисципліни	
		денна форма навчання	заочна форма навчання
Кількість кредитів – 2	Галузь знань 01 – Освіта 091 - Біологія	Нормативна (Цикл професійної та практичної (професійно-орієнтованої) підготовки)	
	Спеціальність: 014 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини), 091 Біологія		
Модулів – 2		Рік підготовки:	
Змістових модулів – 2		1-й	2-й
Загальна кількість годин - 60		Семестр	
		2-й	3-й
Тижневих годин для денної форми навчання: аудиторних – 2 самостійної роботи студента – 3	Рівень вищої освіти: Магістр	Лекції	
		4 год.	4 год.
		Практичні, семінарські	
		Лабораторні	
		14 год.	4 год.
Самостійна робота			
42 год.	52 год.		
		Вид контролю: залік	

Примітка.

Співвідношення кількості годин аудиторних занять до самостійної і індивідуальної роботи становить (%):

для денної форми навчання – 50 %

для заочної форми навчання – 11,1 %

Пояснювальна записка

Дисципліна «Технологія вирощування біологічних об'єктів *in vitro*» розкриває сучасний стан важливого напрямку у науці – отримання за допомогою різних біотехнологічних та цитологічних методів (макро- і мікроорганізмів, біокатализаторів, ферментів тощо) культур клітин та біологічно активних речовин.

Вивчення цієї дисципліни пов'язано з тим, що біологу необхідно знати основні методи створення моделі *in vitro* для дослідження впливів різних чинників середовища. При вивченні курсу «Технологія вирощування біологічних об'єктів *in vitro*» передбачається отримання студентами знань, умінь і практичних навичок про біотехнологічні способи виробництва, а також контролі їх якості. Студент повинен отримати певні знання про процеси та апарати культивування клітин і тканин.

Дана програма передбачає, що студенти мають фундаментальну підготовку з теоретичних і практичних розділах біологічних і хімічних дисциплін: цитології, гістології з основами ембріології, органічної та неорганічної хімії, біохімії, мікробіології, основами генетики, ботаніки.

У процесі проведення занять студенти знайомляться не тільки з теорією, а й виконують лабораторні та практичні роботи, закріплюють свої знання, пов'язуючи їх з майбутньою практичною діяльністю.

Мета курсу: формування сучасних уявлень про основні технології вирощування клітин поза організмом, набуття системних знань, вмінь та навичок для їх реалізації у процесі професійної діяльності.

Завдання курсу:

- Теоретичні: представити цілісну систему теоретичних основ біотехнології клітин; ознайомити з лабораторним устаткуванням, правилами стерилізації та біологічної безпеки під час роботи з культурами клітин *in vitro*; ознайомити з видами поживних середовищ та методами їх складання; показати взаємозв'язок процесів життєдіяльності клітин при розробці нових та вдосконаленні існуючих методів виділення та культивування клітин поза організмом; навчити оцінювати ріст клітинної культури, використовуючи методи оцінки параметрів росту клітин. Ознайомити зі шляхами контамінації та методами усунення.
- Практичні: засвоїти знання о технологіях створення та підтримання культур клітин, отриманих з різних джерел; розвиток вмінь керування біотехнологічним процесом; вивчити основні фізіологічні зміни у рослин та тварин на рівні клітини, тканини, органа та цілого організму в культурі *in vitro*; розвинути здатність до самостійного аналізу, співставленню та узагальненню теоретичних основ методів культивування клітин.

Фахові предметні компетентності:

- Готувати робоче місце для проведення культивування клітин і тканин.
- Проводити підготовку лабораторного посуду та обладнання для культивування клітин
- Готувати поживні середовища для культивування клітин і тканин
- Виділяти первинні культури біологічних об'єктів.
- Робити заміну поживного середовища
- Робити пересів культури клітин
- Досліджувати культуральні та морфологічні властивості клітин *in vitro*
- Виявляти та усувати контамінацію культур клітин та тварин
- Володіти основами клонування та гібридизації клітин.
- Очікувані результати навчання.
- Студент повинен мати глибокі міцні і системні знання з усього теоретичного курсу, а саме:
- правила техніки безпеки та біоетики при проведенні культивування клітин;

- фізіологію життєдіяльності клітин та клітинного циклу;
- лабораторне устаткування, необхідне для культивування клітин рослин та тварин *in vitro*;
- види поживних середовищ для культивування клітин, правила вибору конкретного поживного середовища відповідно до цілей роботи;
- параметри росту клітинної культури та методи їх оцінки;
- виявлення помилок та контамінації під час культивування клітин та шляхи їх усунення;
- методи оптимізації культивування клітин.
- створювати клітинну культуру з різних джерел;
- вміти пересівати клітинні культури, підбирати оптимальні поживні середовища для культивування;
- проводити оцінку параметрів росту клітин *in vitro*
- підтримувати оптимальні умови для створення клітинної культури;
- забезпечувати необхідні умови стерильності та біологічного захисту проведення лабораторного експерименту;
- якісний та кількісний вміст усіх необхідних поживних компонентів, які забезпечують оптимальний розвиток живих клітин різного походження;
- способи створення та підтримання клітинних культур;
- умови культивування та динаміку росту клітин, при яких може бути досягнута максимальна продукція біомаси та цільового продукту;
- основні методи культивування клітин, отриманих з різних джерел;
- фізіологічні основи культивування клітин, тканин, органів та цілого організму рослин і тварин *in vitro*;
- методи культивування рослин і тварин *in vitro*, їх практичне значення
- основні джерела контамінації та шляхи усунення.
- використовувати отримані знання при виборі найбільш придатних систем та способів культивування, виходячи з індивідуальних особливостей клітин та меті роботи;
- оцінювати фізіологічні аспекти трансформації рослинних та тваринних об'єктів та можливості отримання продуктів їх біосинтезу;
- застосовувати отримані знання по фізіології та біохімії рослин та тварин при вирішенні конкретних завдань культивування клітин
- проводити оцінку параметрів росту та розвитку клітинної популяції.

ЗМІСТ НАВЧАЛЬНОЇ ПРОГРАМИ

Введення в технологію вирощування біологічних об'єктів *in vitro*. Історія створення біотехнологій. Клітина – одиниця живого. Клітинні культури як об'єкт біологічного дослідження.

Мета, предмет та об'єкт культивування клітин *in vitro*. Задачі культивування клітин і тканин. Переваги методу культивування клітин. Моделювання *in vitro* умов *in vivo*. Основні етапи розвитку методів культивування клітин. Вчені, які зробили вагомий внесок у розвиток культивування клітин.

Структура і планування лабораторних приміщень. Обслуговуючі системи та допоміжні служби лабораторії культивування клітин. Планування асептичних кімнат та блоків лабораторії. Приміщення для стерильних маніпуляцій. Ламінарне обладнання. Карантин та ізоляція. Інкубатори. Термальна кімната. Приміщення для приготування поживних середовищ, миття посуду та зберігання. Потреби лабораторії культури тканин. Асептична зона. Підготовчі процедури (миття посуду, очищувач води, стерилізація та сушильні шафи). Обладнання лабораторії культивування клітин. Спеціальне обладнання. Розхідні матеріали.

Методи асептики. Мета асептики. Об'єкти асептичного оточення. Стерилізуючі маніпуляції. Лабораторна безпека. Контроль безпеки. Біотетика. Валідація.

Основні свідчення про склад живої матерії і характеристика складу живих організмів. Організація клітини прокариотів та еукаріотів. Клітинний метаболізм. Живлення клітин. Джерела вуглецю, азоту та фосфору. Потреба у мікроелементах та вітамінах. Уявлення о програмованій клітинній смерті (апоптоз). Фактори апоптозу та зміни в клітині при апоптозі.

Біотехнологічні методи роботи. Поняття культура клітин та застосування культури клітин. Типи культивуємих клітин. Характерні особливості культивуємих клітин. Клітинна адгезія. Клітинні лінії, штами. Клонування. Трансформація первинних клітин. Адгезивні та суспензійні культури: задачі, відмінності. Залежність від прикріплення та ріст у суспензії. Регуляція росту, що залежить від щільності культури (контактне гальмування).

Поживні середовища, які використовують у технології культивування клітин *in vitro*. Підготовка посуду, інструментів та робочого місця до виділення клітинних культур. Типи поживних середовищ, огляд їх складу. Джерело різних поживних компонентів. Компоненти середовища для вирощування клітин і тканин (6 основних груп). Принципові відмінності конструювання поживних середовищ для мікробних культур та культур еукаріотичних середовищ. Збалансовані сольові розчини. Середовище Ігла та його модифікації. Сухі середовища. Концентрати. Прості середовища з неіндефікованими добавками. Антибіотики. Сироватка. Безсироватні середовища. Керування процесами формоутворення в культурі тканин. Стимуляція біохімічних реакцій (каталізатори). Основні принципи культивування. Кріоконсервація клітинних культур. Заміна середовища у моношаровій культурі.

Біотехнологічне обладнання. Вибір посуду для культивування. Культуральний посуд, піпетки, мікропіпетки, стерильні контейнери, шприци. Посуд для моношарових та суспензійних культур. Газовий режим культурального посуду. Мікроносії. Підготовка посуду для культивування. Обробка посуду: миття, стерилізація. Асептика. Стерилізація розчинів для культивування. Стерилізація методом фільтрування. Ламінари, термостати, центрифуги: загальний принцип будови, правила роботи.

Типові прийоми та способи технології вирощування мікроорганізмів *in vitro*, клітин та тканин рослин, тварин та людини.

Методи технології вирощування мікроорганізмів *in vitro*. Поживні середовища для створення культури мікроорганізмів.

Методи технології вирощування клітин вищих організмів *in vitro*. Калюсні і суспензійні культури клітин вищих рослин, методи їх отримання і галузь застосування.

Протопласти рослинних клітин, їх отримання, методи регенерації і культивування. Злиття протопластів рослинних клітин. Гібридизація соматичних клітин рослин.

Методи технології вирощування клітин і тканин тварин *in vitro*. Введення первинної культури. Прийоми культивування в суспензійній культурі і в адгезованому стані. Вимоги до якості і складу поживних середовищ. Первинні та трансформовані культури.

Пересів клітинних культур. Техніка дисоціації. Трипсин. Проназа. Колагеназа. Версен. Механічні методи дисоціації клітин. Підрахунок живих клітин. Перевірка на бактеріальне забруднення.

Отримання трансгенних організмів. Клонування клітин та ефективність посіву. Стимуляція ефективності посіву. Кондиційовані середовища. Фідерні шари. Суспензійне клонування. Виокремлення клонів. Отримання репоикативних колоній.

Розділення клітин. Щільність клітин та ізопікнічна седиментація. Розмір клітин та швидкість седиментації. Седиментація у полі сили тяжіння. Елютриаційне центрифугування. Методи розділення клітин з використанням антитіл: імунний пеннінг, магнітний сортування. Флюорисцентно-активувемий сортування.

Характеристика клітин. Необхідність характеристики клітин. Ведення документації та походження клітин. Підтвердження автентичності. Видова ідентифікація. Маркери диференційовки або маркери тканини. Унікальні маркери. Вивчення морфології клітин. Мікроскопія. Культуральний посуд для цитології. Мікрофотографія. Аналіз хромосомного складу. Диференційне забарвлення хромосом. Хромосомний аналіз. Вміст ДНК. Гібридизація ДНК. Аналіз профіля ДНК. РНК та експресія білка. Активність ферментів. Ізоферменти. Антигенні маркери. Імунне забарвлення.

Диференціювання. Експресія фенотипу в культурі клітин. Дедиференціювання. Лінійна селекція. Стадій диференціювання. Проліферація і диференціювання. Комітування та ліній диференціювання. Пластичність стовбурових клітин. Маркери диференціювання. Індукція диференціювання: міжклітинна взаємодія, системні та екзогенні фактори, взаємодія клітин з матриксом. Диференціювання та злоякісність.

Загальні закономірності росту організму. Клітинні основи росту. Ріст організму та середовище. Клітинна проліферація. Диференціювання. Контроль та аналіз клітинного циклу. Основні фази росту культури: лаг-фаза (фаза затримки росту), експоненціальна фаза, перед стаціонарна фаза, стаціонарна фаза, фаза відмирання культури. Підрахунок клітин у гемоцитометрі та електронному лічильнику. Методи фарбування живих та мертвих клітин. Вага клітин. Вміст ДНК. Оцінка швидкості синтезу білка. Цитометрія. Ефективність культивування. Аналіз формування колоній. Каріотипування. Візуалізація клітин.

Контамінація та шляхи усунення. Джерела контамінації. Основні прийоми стерильної роботи. Стан зовнішнього середовища. Ламінарна шафа. Обробка термостатів, інкубаторів та холодильних камер. Привезені клітинні лінії та біопсії на зразки. Карантин. Візуально виявляємо мікробна контамінація. Мікоплазма. Методи виявлення мікоплазми. Вірусна контамінація. Усунення контамінації. Усунення мікоплазми, вірусів, бактерій, грибів та дрозів. Персистуюча контамінація. Перехресна контамінація.

Кріоконсервація. Отримання клітинних ліній для кріоконсервації. Теоретичне обґрунтування кріоконсервації. Концентрація клітин. Середовище для заморожування. Розморожування ампул, що зберігаються. Банки клітин. Транспортування клітинних культур.

Мезенхімні клітини: сполучно тканина, жирова тканина, м'язи, хрящі, кістки, ендотелій. Нейроектодермальні клітини: нейрони, гліальні клітини, ендокринні клітини, меланоцити. Гемапоетичні клітини: довго живучі культури клітин кісткового мозку, аналіз колонієутворення культури гемопоетичних клітин. Гонади.

Культура пухлинних клітин. Взяття зразків. Деагрегація. Характеристика. Селективна культура пухлинних клітин.

Структура навчальної дисципліни

Назви змістових модулів і тем	Кількість годин											
	денна форма						Заочна форма					
	усього	у тому числі					усього	у тому числі				
		л	п	лаб	інд	с.р.		л	п	лаб	інд	с.р.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Змістовий модуль 1. Клітинні культури як об'єкт біологічного дослідження												
Введення в культивування клітин і тканин.	8	2		2		4	8					8
Характеристика клітин <i>in vitro</i>	10			2		8	10	2				8
Посуд для культивування клітин. Миття та його обробка	6			2		4	6			2		4
Поживні середовища для культивування клітин <i>in vitro</i> .	6			2		4	6					6
Разом:	30	2		8		20	30	2		2		26
Змістовий модуль 2. Основні маніпуляції з культурою клітин												
Виділення первинної культури	10	2		2		6	10	2				8
Субкультивування	10			2		8	10			2		8
Вивчення морфології культивуємих клітин	10			2		8	10					10
Разом:	30	2		6		22	30	2		2		26
Усього годин за 1 семестр	60	4		14		42	60	4		4		52
Змістовий модуль 3. Аналіз клітин <i>in vitro</i>												
Характеристика клітин	10	2		2		6	10	2				8
Кількісний аналіз клітин <i>in vitro</i>	10			4		6	10			2		8
Дослідження цитотоксичності	10			2		8	10					10
Разом:	30	2		8		20	30	2		2		26
Змістовий модуль 4. Біотехнологія клітинних культур												
Контамінація клітинних культур	10	2		2		6	10	2				8
Клонування. Гібридомні	10			2		8	10					10

технології.												
Культури специфічних клітин.	10			2		8	10			2		8
Культури пухлинних клітин												
Разом:	30	2		6		22	30	2		2		26
Усього годин за 2 семестр	60	4		14		44	60	4		4		52

ЗМІСТОВІ МОДУЛІ НАВЧАЛЬНОГО КУРСУ

1 семестр

Змістовий модуль 1. Клітинні культури як об'єкт біологічного дослідження

Лекційний модуль

<i>Тема лекції</i>	<i>Кількість годин</i>
Введення в культивування клітин і тканин.	2

Лабораторний модуль

<i>Тема заняття</i>	<i>Кількість годин</i>
Техніка безпеки під час культивування клітин. Біоетика.	2
Миття та стерилізація посуду	2
Підготовка посуду та обладнання для культивування клітин	2
Приготування поживного середовища.	2

Модуль самостійної роботи

<i>Тема заняття</i>	<i>Кількість годин</i>
Історія створення культур клітин	2
Клітина – одиниця живого	2
Моделювання in vitro умов in vivo	2
Вчені, які зробили вагомий внесок у розвиток культивування клітин	2
Клітинний метаболізм	2
Уявлення о програмованій клітинній смерті (апоптоз). Фактори апоптозу та зміни в клітині при апоптозі	2
Трансформація первинних клітин	2
Контактне гальмування	2
Середовище Ігла та його модифікації	2
Безсироватні середовища	2
Кріоконсервація клітинних культур	2
Газовий режим культурального посуду	2
Мікроносії для культивування	2
Стерилізація методом фільтрування	2
Поживні середовища для створення культури мікроорганізмів	2
Злиття протопластів рослинних клітин.	2
Гібридизація соматичних клітин рослин	2
Первинні та трансформовані культури	2
Механічні методи дисоціації клітин	2
Клонування клітин	2

Змістовий модуль 2. Основні маніпуляції з культурою клітин

Лекційний модуль

<i>Тема лекції</i>	<i>Кількість годин</i>
Приготування поживних середовищ для вирощуванні живих об'єктів	2

in vitro

Лабораторний модуль

<i>Тема заняття</i>	<i>Кількість годин</i>
Виявлення контамінації	2
Зміна середовища у моношаровій культурі.	2
Пересів культури.	2

Модуль самостійної роботи

<i>Тема заняття</i>	<i>Кількість годин</i>
Отримання трансгенних організмів	2
Клітинні основи росту	2
Вплив зовнішніх умов на ріст та розвиток організму.	2
Контроль та аналіз клітинного циклу	2
Оцінка швидкості синтезу білка	2
Цитометрія	2
Ефективність культивування	2
Аналіз формування колоній	2
Каріотипування	2
Усунення мікоплазми, вірусів, бактерій, грибів та дрожів.	2
Персистуюча контамінація	2
Сукупність базових методів, які використовуються для конструювання нових клітин	2
Історія відкриття стовбурових клітин	2
Соціально-етичні та гуманістичні проблеми	2
Етапи мікроклонального розмноження	2
Фактори, які впливають на мікроклональне розмноження	2
Банк клітин in vitro: значення для збереження генофонду	2

Підсумкова тека: усний, письмовий, практичний методи контролю.

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНИХ ДЖЕРЕЛ

Основна література:

1. В.В.Кузнецов, В.В.Кузнецов, Г.А.Романов и др.. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. – 2012. – 487 с.
2. Пак И.В., Цой Р.М. Введение в биотехнологию. Тюмень: ТюмГУ. 2002.
3. Егорова Т.А. и др. Основы биотехнологии. М.: Академия. 2003.
4. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск: изд-во НГУ. 2003
5. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. Новосибирск: изд-во НГУ. 2002
6. Егорова Т.А. Основы биотехнологии. М.: Академия. 2005.
7. Р.Я. Фреони. Культура животных клеток: практическое руководство. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. – 2012.

Додаткова література:

1. Герасименко В.Г. Биотехнология. Киев: Выща школа. 1989.
2. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды. М.: Мир. 1987.

3. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск: изд-во НГУ. 2002.
4. Журнал «Биотехнология» М.: Биотехнология. (2005-2011 гг.).
5. Журнал «Генетика». М.: Академиздат Наука. (2005-2011 гг.)
6. Журнал «Молекулярная биология» М.: Академиздат Наука. 2005-2011 гг.

INTERNET – ресурси (Основні Web-сторінки в INTERNET).

<http://molbio.ru>

www.biotechnology.ru

www.tigr.jrg

www.sanger.ac.uk

2 семестр

Змістовий модуль 3. Аналіз клітин *in vitro*

Лекційний модуль

<i>Тема лекції</i>	<i>Кількість годин</i>
Методи культивування живих об'єктів <i>in vitro</i>	2

Лабораторний модуль

<i>Тема заняття</i>	<i>Кількість годин</i>
Виділення первинної культури тваринних клітин	2
Зміна середовища у моношаровій культурі.	2
Пересів культури.	4

Модуль самостійної роботи

<i>Тема заняття</i>	<i>Кількість годин</i>
Отримання трансгенних організмів	2
Клітинні основи росту	2
Вплив зовнішніх умов на ріст та розвиток організму.	2
Контроль та аналіз клітинного циклу	2
Оцінка швидкості синтезу білка	2
Цитометрія	2
Ефективність культивування	2
Аналіз формування колоній	2
Каріотипування	2

Підсумкова тека: усний, письмовий, практичний методи контролю.

Змістовий модуль 4. Біотехнологія клітинних культур

Лекційний модуль

<i>Тема лекції</i>	<i>Кількість годин</i>
Методи оцінки параметрів росту живих об'єктів <i>in vitro</i>	2

Лабораторний модуль

<i>Тема заняття</i>	<i>Кількість годин</i>
---------------------	------------------------

Підрахунок клітин у гемоцитометрі.	2
Фарбування клітин по Гімзе	2
Побудова та аналіз кривої росту клітин.	2

Модуль самостійної роботи

<i>Тема заняття</i>	<i>Кількість годин</i>
Усунення мікоплазми, вірусів, бактерій, грибів та дрожів.	2
Персистуюча контамінація	2
Сукупність базових методів, які використовуються для конструювання нових клітин	2
Історія відкриття стовбурових клітин	2
Соціально-етичні та гуманістичні проблеми	2
Етапи мікроклонального розмноження	2
Фактори, які впливають на мікроклональне розмноження	2
Банк клітин in vitro: значення для збереження генофонду	2

Підсумкова тека: усний, письмовий, практичний методи контролю

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНИХ ДЖЕРЕЛ

Основна література:

8. В.В.Кузнецов, В.В.Кузнецов, Г.А.Романов и др.. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. – 2012. – 487 с.
9. Пак И.В., Цой Р.М. Введение в биотехнологию. Тюмень: ТюмГУ. 2002.
10. Егорова Т.А. и др. Основы биотехнологии. М.: Академия. 2003.
11. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск: изд-во НГУ. 2003
12. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. Новосибирск: изд-во НГУ. 2002
13. Егорова Т.А. Основы биотехнологии. М.: Академия. 2005.
14. Р.Я. Фреони. Культура животных клеток: практическое руководство. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. – 2012.

Додаткова література:

1. Герасименко В.Г. Биотехнология. Киев: Выща школа. 1989.
2. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды. М.: Мир. 1987.
3. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск: изд-во НГУ. 2002.
4. Журнал «Биотехнология» М.: Биотехнология. (2005-2011 гг.).
5. Журнал «Генетика». М.: Академиздат Наука. (2005-2011 гг.)
6. Журнал «Молекулярная биология» М.: Академиздат Наука. 2005-2011 гг.

INTERNET – ресурси (Основні Web-сторінки в INTERNET).

<http://molbio.ru>
www.biotechnology.ru
www.tigr.jrg

www.sanger.ac.uk

**Змістові модулі навчального курсу
2 семестр
(заочне відділення)**

Лекційний модуль

<i>Тема лекції</i>	<i>Кількість годин</i>
Введення в культивування клітин і тканин	2
Виділення первинної культури.	2

Лабораторний модуль

<i>Тема заняття</i>	<i>Кількість годин</i>
Підготовка посуду та обладнання для культивування клітин.	2
Зміна середовища у моношаровій культурі	2

Модуль самостійної роботи

<i>Тема заняття</i>	<i>Кількість годин</i>
Історія створення культур клітин	2
Клітина – одиниця живого	2
Моделювання in vitro умов in vivo	2
Вчені, які зробили вагомий внесок у розвиток культивування клітин	2
Клітинний метаболізм	4
Уявлення о програмованої клітинної смерті (апоптоз). Фактори апоптозу та зміни в клітині при апоптозі	2
Трансформація первинних клітин	2
Контактне гальмування	2
Середовище Ігла та його модифікації	2
Безсироватні середовища	2
Кріоконсервація клітинних культур	2
Техніка безпеки під час культивування клітин. Біоетика.	2
Миття та стерилізація посуду	2
Підготовка посуду та обладнання для культивування клітин	4
Приготування поживного середовища.	4
Газовий режим культурального посуду	2
Мікроносії для культивування	2
Стерилізація методом фільтрування	2
Поживні середовища для створення культури мікроорганізмів	4
Злиття протопластів рослинних клітин.	2
Гібридизація соматичних клітин рослин	2
Первинні та трансформовані культури	4
Механічні методи дисоціації клітин	2
Клонування клітин	2

3 семестр

Лекційний модуль

<i>Тема лекції</i>	<i>Кількість годин</i>
Характеристика клітин	2
Дослідження цитотоксичності	2

Лабораторний модуль

<i>Тема заняття</i>	<i>Кількість годин</i>
Підрахунок клітин за допомогою гемоцитометра	2
Дослідження клітинного циклу.	2

Модуль самостійної роботи

<i>Тема заняття</i>	<i>Кількість годин</i>
Отримання трансгенних організмів	2
Клітинні основи росту	2
Вплив зовнішніх умов на ріст та розвиток організму.	4
Підрахунок клітин у гемоцитометрі.	2
Фарбування клітин по Гімзе	2
Побудова та аналіз кривої росту клітин.	2
Оцінка життєздатності клітин шляхом відторгнення та поглинання барвників	2
Контроль та аналіз клітинного циклу	4
Оцінка швидкості синтезу білка	2
Цитометрія	2
Ефективність культивування	2
Аналіз формування колоній	2
Каріотипування	2
Усунення мікоплазми, вірусів, бактерій, грибів та дрожів.	4
Персистуюча контамінація	2
Сукупність базових методів, які використовуються для конструювання нових клітин	4
Історія відкриття стовбурових клітин	2
Соціально-етичні та гуманістичні проблеми	2
Етапи мікроклонального розмноження	2
Фактори, які впливають на мікроклональне розмноження	2
Банк клітин in vitro: значення для збереження генофонду	2

Підсумкова тека: усний, письмовий, практичний методи контролю.

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНИХ ДЖЕРЕЛ

Основна література:

1. В.В.Кузнецов, В.В.Кузнецов, Г.А.Романов и др.. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. – 2012. – 487 с.
2. Пак И.В., Цой Р.М. Введение в биотехнологию. Тюмень: ТюмГУ. 2002.
3. Егорова Т.А. и др. Основы биотехнологии. М.: Академия. 2003.
4. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск: изд-во НГУ. 2003
5. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. Новосибирск: изд-во НГУ. 2002
6. Егорова Т.А. Основы биотехнологии. М.: Академия. 2005.
7. Р.Я. Фреони. Культура животных клеток: практическое руководство. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. – 2012.

Додаткова література:

1. Герасименко В.Г. Биотехнология. Киев: Выща школа. 1989.
2. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды. М.: Мир. 1987.
3. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск: изд-во НГУ. 2002.
4. Журнал «Биотехнология» М.: Биотехнология. (2005-2011 гг.).
5. Журнал «Генетика». М.: Академиздат Наука. (2005-2011 гг.).
6. Журнал «Молекулярная биология» М.: Академиздат Наука. 2005-2011 гг.

INTERNET – ресурси (Основні Web-сторінки в INTERNET).

<http://molbio.ru>

www.biotechnology.ru

www.tigr.jrg

www.sanger.ac.uk

Методи навчання

Комплексне використання різноманітних методів організації і здійснення навчально-пізнавальної діяльності студентів та методів стимулювання і мотивації їх навчання, що сприяють розвитку творчих засад особистості майбутнього фахівця біолога з урахуванням індивідуальних особливостей учасників навчального процесу й спілкування.

З метою формування професійних компетенцій фахівця-біолога застосовуються методи роботи в малих групах на практичних заняттях з інформаційних технологій в галузі біологія. Реалізація ситуативного моделювання здійснюється за допомогою ситуативних задач з пошуку інформації та зберігання її у базах даних за допомогою сучасних інформаційних технологій. Також здійснюється опрацювання дискусійних питань.

Методи контролю

Педагогічний контроль здійснюється з дотриманням вимог об'єктивності, індивідуального підходу, систематичності і системності, всебічності та професійної спрямованості контролю.

Використовуються такі методи контролю (усного, письмового), які мають сприяти підвищенню мотивації студентів-майбутніх фахівців-біологів до навчально-пізнавальної діяльності. Відповідно до специфіки фахової підготовки перевага надається тестовому контролю.

Критерії оцінювання знань та вмінь студентів з курсу «Методи культури клітин і тканин»

Відповідь на практичному занятті та усна відповідь за темою індивідуального завдання	
A5 (відмінно)	Студент має глибокі міцні знання з теми. Вміє застосовувати здобуті знання на практиці. Відповідь з урахуванням міжпредметних зв'язків. В відповіді присутні розуміння виконання основних маніпуляцій з клітинними культурами, підготовки посуду для культивування, оцінка ефективності посіву культури клітин. Розуміє теоретичні основи культивування клітин та тканин. Розуміє необхідність дотримання правил техніки безпеки під час роботи з клітинними культурами.
B 4,5 (добре)	Студент має міцні ґрунтовні знання, вміє застосовувати їх на практиці, але може допустити неточності, окремі помилки в формуванні відповідей
C 4 (добре)	Студент знає програмний матеріал повністю, але недостатньо вміє самостійно мислити, не може вийти за межі теми
D 3,5 (задовільно)	Студент знає основний зміст теми, але його знання мають загальний характер, іноді не підкріплені прикладами
E 3 (задовільно)	Студент має прогалини в знаннях з теми. Замість чіткого термінологічного визначення пояснює теоретичний матеріал на побутовому рівні
X 2 (незадовільно)	Студент має фрагментарні знання з теми. Не володіє термінологією, оскільки понятійний апарат не сформований. Не вміє викласти програмний матеріал
F 1 (незадовільно)	Студент повністю не знає програмного матеріалу, відмовляється відповідати

Модульний контроль (усна відповідь, письмова контрольна робота)	
A5 (відмінно)	Студент має глибокі міцні знання з теми. Вміє застосовувати здобуті знання на практиці. Відповідь з урахуванням міжпредметних зв'язків. В відповіді присутні розуміння виконання основних маніпуляцій у лабораторії, роботи у лабораторними пристроями та лабораторними тваринами. Розуміє теоретичні основи лабораторних маніпуляцій. Розуміє необхідність дотримання правил техніки безпеки під час роботи у лабораторії.
B 4,5 (добре)	Студент має міцні ґрунтовні знання, вміє застосовувати їх на практиці, але може допустити неточності в формулюванні відповідей, окремі помилки при виконанні практичних робіт.
C 4 (добре)	Студент знає програмний матеріал повністю, має практичні навички, але недостатньо вміє самостійно мислити, не може вийти за межі теми.
D 3,5 (задовільно)	Студент знає основні теми курсу, має уявлення про проблематику поставлених питань, але його знання мають загальний характер, відповіді не підкріплені прикладами. При виконанні практичних завдань допускає помилки.
E 3 (задовільно)	Студент має прогалини в теоретичному курсі та практичних вміннях. Замість чіткого термінологічного визначення пояснює теоретичний матеріал на побутовому рівні.

X 2 (незадовільно)	Студент має фрагментарні знання з теми змістового модулю. Не володіє термінологією, оскільки понятійний апарат не сформований. Не вміє викласти програмний матеріал.
F 1 (незадовільно)	Студент повністю не знає програмного матеріалу, не працював в аудиторії з викладачем або самостійно.

Залік	
Зараховано	Студент засвоїв основні теми курсу, успішно виконав всі практичні та індивідуальні завдання. Вміє застосовувати здобуті знання на практиці. Може допускати неточності в формулюванні відповідей, окремі помилки при виконанні практичних робіт.
Не зараховано	Студент має фрагментарні знання з усього курсу. Не володіє термінологією, оскільки понятійний апарат не сформований. Не вміє викласти програмний матеріал. Практичні навички на рівні розпізнавання.

Реферат, доповідь, курсова робота, презентація	
A5 (відмінно)	Запропонована студентом робота викладена в обсязі, що вимагається, оформлена грамотно, спирається на базовий теоретичний і практичний матеріал, містить нову, нетрадиційну інформацію з даного питання і пропозиції щодо практичного застосування.
B 4,5 (добре)	Запропонована студентом робота викладена в обсязі, що вимагається, оформлена грамотно, спирається переважно на базовий теоретичний і практичний матеріал, містить фрагменти нової, нетрадиційної інформації.
C 4 (добре)	Запропонована студентом робота викладена в необхідному обсязі, оформлена грамотно, включає базовий теоретичний та практичний матеріал, але містить певні недоліки у висвітленні питання, яке досліджувалось.
D 3,5 (задовільно)	Робота містить базовий теоретичний та практичний матеріал, але не має практичного виходу. Виклад матеріалу неточний, присутні недоліки у висвітленні теми.
E 3 (задовільно)	Робота містить базовий теоретичний та практичний матеріал, але тема розкрита неповністю. Виклад матеріалу неточний, присутні недоліки у висвітленні теми. Обсяг запропонованої роботи не відповідає вимогам.
X 2 (незадовільно)	Робота базується на фрагментарних знаннях з курсу. Тема дослідження не розкрита.
F 1 (незадовільно)	Робота не виконана.

Дисципліна методи культури клітин та тканин складається з 2 модулів та заліку.

Анотації до лекційного курсу
з методів культури клітин і тканин
для студентів спеціальності 091 Біологія, 014.05 Середня освіта (біологія)
1 курс (РВО «Магістр»)

Змістовий модуль 1. Клітинні культури як об'єкт біологічного дослідження

1. Введення в культивування клітин і тканин.

Мета, предмет та об'єкт культивування клітин *in vitro*. Задачі культивування клітин і тканин. Переваги методу культивування клітин. Моделювання *in vitro* умов *in vivo*. Основні етапи розвитку методів культивування клітин. Вчені, які зробили вагомий внесок у розвиток культивування клітин.

Змістовий модуль 2. Основні маніпуляції з культурою клітин

2. Виділення первинної культури.

Культивування клітин і тканин тварин. Введення первинної культури. Прийоми культивування в суспензійній культурі і в адгезованому стані. Вимоги до якості і складу поживних середовищ. Первинні та трансформовані культури.

Пересів клітинних культур. Техніка дисоціації. Трипсин. Проназа. Колаген аза. Версен. Механічні методи дисоціації клітин. Підрахунок живих клітин. Перевірка на бактеріальне забруднення.

Змістовий модуль 3. Аналіз клітин *in vitro*

3. Характеристика клітин *in vitro*

Основні свідчення про склад живої матерії і характеристика складу живих організмів. Організація клітини прокаріотів та еукаріотів. Клітинний метаболізм. Живлення клітин. Джерела вуглецю, азоту та фосфору. Потреба у мікроелементах та вітамінах. Уявлення о програмованій клітинній смерті (апоптоз). Фактори апоптозу та зміни в клітині при апоптозі.

Поняття культура клітин та застосування культури клітин. Типи культивуємих клітин. Характерні особливості культивуємих клітин. Клітинна адгезія. Клітинні лінії, штами. Клонування. Трансформація первинних клітин. Адгезивні та суспензійні культури: задачі, відмінності. Залежність від прикріплення та ріст у суспензії. Регуляція росту, що залежить від щільності культури (контактне гальмування).

Змістовий модуль 4. Біотехнологія клітинних культур

4. Контамінація клітинних культур

Контамінація та шляхи усунення. Джерела контамінації. Основні прийоми стерильної роботи. Стан зовнішнього середовища. Ламінарна шафа. Обробка термостатів, інкубаторів та холодильних камер. Привезені клітинні лінії та біопсій на зразки. Карантин. Візуально виявляємо мікробна контамінація. Мікоплазма. Методи виявлення мікоплазми. Вірусна контамінація. Усунення контамінації. Усунення мікоплазми, вірусів, бактерій, грибів та дрожів. Персистуюча контамінація. Перехресна контамінація

Модулі самостійної роботи
з курсу методи культури клітин і тканин
 для студентів 1 курсу другого (магістерського) рівня вищої освіти
 факультету біології, географії і екології
 (денна форма навчання)

№	Назва теми	години	Зміст завдання	Форма звіту
1.	Історія створення культур клітин	2	Підготувати презентацію на тему: «Історія створення клітинної культури»	Презентація
2.	Клітина – одиниця живого	2	Вміти дати відповіді на питання: 1. Положення клітинної теорії. 2. Будова біологічної мембрани. 3. Мембранні органели. 4. Немембранні органели. 5. Ядро. 6. Поділ клітини.	Усна відповідь
3.	Моделювання in vitro умов in vivo	2	Підготувати доповідь про один з необхідних факторів культивування клітин (за вибором студента).	доповідь
4.	Вчені, які зробили вагомий внесок у розвиток культивування клітин	2	Підготувати реферат про одного з вчених (за вибором студента), який зробив вагомий внесок у розвиток культивування клітин.	реферат
5.	Клітинний метаболізм	2	Вміти дати відповіді на питання: 1. Цитоплазма – метаболічний простір клітини. 2. Синтез білку. 3. Енергетичний обмін клітини.	Усна відповідь
6.	Уявлення о програмованої клітинної смерті (апоптоз). Фактори апоптозу та зміни в клітині при апоптозі	2	Вміти дати відповіді на питання: 1. Життєвий цикл клітини. 2. Старіння та смерть клітини. 3. Види смерті клітини. 4. Програмована смерть клітини. 5. Ознаки апоптозу.	Усна відповідь
7.	Трансформація первинних клітин	2	Підготувати доповідь на тему: «Трансформація первинних клітин»	доповідь
8.	Контактне гальмування	2	Скласти конспект на тему «Контактне гальмування»	Конспект
9.	Середовище Ігла та його модифікації	2	Скласти таблицю: «Інградієнти середовища Ігла та його модифікації»	Таблиця
10.	Безсироватні середовища	2	Підготувати доповідь на тему: «Використання середовищ без додавання сироватки»	доповідь
11.	Кріоконсервація клітинних культур	2	Підготувати реферат з тем (за вибором): 1. Підготовка клітин до кріоконсервації. 2. Обладнання для кріоконсервації. 3. Розморожування клітин	реферат
12.	Газовий режим культурального посуду	2	Підготувати доповідь на тему: «Газовий режим культурального посуду»	доповідь
13.	Мікроносії для культивування	2	Замалювати у зошит основні види мікро носіїв для культивування та скласти коротку характеристику про	Конспект

			кожен з них.	
14.	Стерилізація методом фільтрування	2	1. Скласти таблицю: «Обладнання для стерилізації методом фільтрування». 2. Замалювати у зошит схематичне зображення установки для фільтрування.	Конспект
15.	Поживні середовища для створення культури мікроорганізмів	2	Скласти таблицю: «Основні види поживних середовищ для культивування мікроорганізмів»	Конспект
16.	Злиття протопластів рослинних клітин.	2	Підготувати презентацію: «Злиття протопластів рослинних клітин»	Презентація
17.	Гібридизація соматичних клітин рослин	2	Підготувати презентацію: «Гібридизація соматичних клітин рослин»	Презентація
18.	Первинні та трансформовані культури	2	Вміти дати відповіді на питання: 1. Що таке первинна культура? 2. Що таке трансформована культура? 3. Характеристика первинної культури. 4. Характеристика трансформованої культури. 5. Відмінності між первинною та трансформованою культурами.	Усна відповідь
19.	Механічні методи дисоціації клітин	2	Підготувати доповідь про один з методів (за вибором студента) механічної дисоціації клітин	доповідь
20.	Клонування клітин	2	Підготувати презентацію: «Клонування клітин»	презентація
21.	Отримання трансгенних організмів	2	Підготувати реферат на тему: «Отримання трансгенних організмів»	реферат
22.	Клітинні основи росту	2	Вміти дати відповіді на питання: 1. Фактори росту клітин. 2. Основні фази клітинного циклу 3. Характеристика фаз росту клітин. 4. Побудова кривої росту клітин.	Усна відповідь
23.	Вплив зовнішніх умов на ріст та розвиток організму.	2	Скласти конспект: «Вплив факторів зовнішнього середовища на ріст клітин»	конспект
24.	Контроль та аналіз клітинного циклу	2	Скласти таблицю: «Фази клітинного циклу та контроль кожної фази»	конспект
25.	Оцінка швидкості синтезу білка	2	Підготувати доповідь: «Методи оцінки швидкості синтезу білка»	доповідь
26.	Цитометрія	2	Підготувати реферат на тему: «Цитометрія: застосування, обладнання»	реферат
27.	Ефективність культивування	2	Скласти конспект: «Методи оцінки ефективності культивування клітин»	конспект
28.	Аналіз формування колоній	2	Скласти схему алгоритму аналізу формування колоній клітин	конспект

29.	Каріотипування	2	Вміти дати відповіді на питання: 1. Каріотип. 2. Методи карі опитування. 3. Підготовка клітин для каріотипування. 4. Значення каріотипування	Усна відповідь
30.	Усунення мікоплазми, вірусів, бактерій, грибів та дрозів.	2	Підготувати реферат з теми (за вибором студентів): 1. Шляхи усунення мікоплазми. 2. Шляхи усунення бактерій. 3. Шляхи усунення грибів	реферат
31.	Персистуюча контамінація	2	Скласти конспект на тему: «Персистуюча контамінація та шляхи її усунення»	конспект
32.	Сукупність базових методів, які використовуються для конструювання нових клітин	2	Підготувати презентацію на тему: «Методи для конструювання нових клітин»	презентація
33.	Історія відкриття стовбурових клітин	2	Підготувати доповідь про основні етапи відкриття стовбурових клітин	доповідь
34.	Соціально-етичні та гуманістичні проблеми	2	Скласти конспект: «Соціально-етичні та гуманістичні проблеми»	конспект
35.	Етапи мікроклонального розмноження	2	Скласти таблицю на тему: «Характеристика етапів мікроклонального розмноження»	конспект
36.	Фактори, які впливають на мікроклональне розмноження	2	Підготувати доповідь на тему: «Лімітуючі фактори та мікроклональне розмноження»	доповідь
37.	Банк клітин in vitro: значення для збереження генофонду	2	Вміти дати відповіді на питання: 1. Що таке банк клітин. 2. Функції банку клітин. 3. Значення банку клітин. 4. Етапи створення банку клітин.	усна відповідь

Перелік питань до атестації здобувачів
другого (магістерського) рівня вищої освіти
з дисципліни «Методи культури клітин і тканин»

1. Історія культивування клітин *in vitro*.
2. Біологія клітини *in vitro*.
3. Основи асептики. Обробка та стерилізація культурального посуду.
4. Основи складання поживних середовищ для культивування клітин.
5. Суспензійні та адгезивні культури.
6. Трансформація та іморталізація клітин.
7. Первинна культура: шляхи введення експланту у первинну культуру.
8. Дослідження морфології клітин *in vitro*.
9. Контамінація та шляхи її усунення.

Орієнтовна тематика курсових робіт та методичні рекомендації до їх виконання з дисципліни «Методи культури клітин і тканин»

1. Культивування фібробластів білих мишей *in vitro*

У курсовій роботі необхідно дати характеристику фібробластам, описати їх диферон. Вказати методи виділення первинної культури тваринних клітин. Провести виділення фібробластів шкіри у лабораторних мишей. Роботу проілюструвати фотографіями етапів виділення та культивування фібробластів білих мишей. База виконання: лабораторія та віварій кафедри біології людини та імунології.

2. Методи культивування клітин *in vitro*.

У курсовій роботі необхідно дати характеристику клітини *in vitro*, описати необхідні фактори поживного середовища. Вказати методи виділення первинної культури тваринних клітин. Провести виділення фібробластів шкіри у лабораторних мишей. Роботу проілюструвати фотографіями етапів виділення та культивування фібробластів білих мишей. База виконання: лабораторія та віварій кафедри біології людини та імунології.

3. Особливості культивування адгезивних та суспензійних культур.

У курсовій роботі необхідно дати характеристику клітини *in vitro*. Вказати особливості культивування адгезивних та суспензійних культур *in vitro*. Провести культивування адгезивної культури фібробластів шкіри лабораторних мишей. Роботу проілюструвати фотографіями етапів виділення та культивування фібробластів білих мишей. База виконання: лабораторія та віварій кафедри біології людини та імунології.

4. Біологія клітин *in vitro*.

У курсовій роботі необхідно дати характеристику клітини *in vitro*, описати необхідні фактори поживного середовища. Провести вивчення морфології фібробластів шкіри мишей *in vitro*. Оцінити ефективність посіву методами поглинання та відторгнення барвників. Роботу проілюструвати фотографіями етапів виділення та культивування фібробластів білих мишей. База виконання: лабораторія та віварій кафедри біології людини та імунології.

5. Трансформація та іморталізація клітин *in vitro*.

У курсовій роботі необхідно дати характеристику клітини *in vitro*. Вказати причини та чинники трансформації клітин *in vitro*. Описати основні ознаки іморталізації клітин *in vitro*. Роботу проілюструвати фотографіями етапів виділення та культивування фібробластів білих мишей. База виконання: лабораторія та віварій кафедри біології людини та імунології.

**Методичні вказівки щодо виконання дипломних робіт (проектів)
з дисципліни «Методи культури клітин і тканин»**

1. Побудова кривої росту культури клітин

У роботі необхідно описати характеристику клітини *in vitro*. Провести виділення первинної культури фібробластів шкіри мишей. Культивувати виділену культуру та зробити оцінку параметрів росту культури фібробластів на основі вивчення фаз росту культивуємих клітин. Роботу проілюструвати фотографіями виділення та культивування клітин, графіками фаз росту клітинної популяції.

База виконання: лабораторія та віварій кафедри біології людини та імунології.

2. Оцінка ефективності посіву клітинної культури.

У роботі необхідно описати характеристику клітини *in vitro*. Провести виділення первинної культури фібробластів шкіри мишей. Описати методи визначення ефективності посіву культури клітин. Культивувати виділену культуру та на основі відторгнення та поглинання барвників зробити висновок про життєздатність клітин та ефективність посіву. Роботу проілюструвати фотографіями виділення та культивування клітин, підрахунку живих та мертвих клітин.

База виконання: лабораторія та віварій кафедри біології людини та імунології.

Перелік питань до екзамену з методів культури клітин і тварин
для студентів денної та заочної форми навчання

1. Історія створення культур клітин.
2. Клітина – одиниця живого.
3. Клітинні культури як об'єкт біологічного дослідження.
4. Мета, предмет та об'єкт культивування клітин *in vitro*.
5. Задачі культивування клітин і тканин.
6. Переваги методу культивування клітин.
7. Моделювання *in vitro* умов *in vivo*.
8. Основні етапи розвитку методів культивування клітин.
9. Вчені, які зробили вагомий внесок у розвиток культивування клітин.
10. Основні свідчення про склад живої матерії і характеристика складу живих організмів.
11. Організація клітини прокаріотів та еукаріотів.
12. Клітинний метаболізм.
13. Живлення клітин.
14. Джерела вуглецю, азоту та фосфору.
15. Потреба у мікроелементах та вітамінах.
16. Уявлення о програмованій клітинній смерті (апоптоз).
17. Фактори апоптозу та зміни в клітині при апоптозі.
18. Поняття культура клітин та застосування культури клітин.
19. Типи культивуємих клітин.
20. Характерні особливості культивуємих клітин.
21. Клітинна адгезія.
22. Клітинні лінії, штами.
23. Клонування.
24. Трансформація первинних клітин.
25. Адгезивні та суспензійні культури: задачі, відмінності.
26. Залежність від прикріплення та ріст у суспензії.
27. Регуляція росту, що залежить від щільності культури (контактне гальмування).
28. Типи поживних середовищ, огляд їх складу.
29. Джерело різних поживних компонентів.
30. Компоненти середовища для вирощування клітин і тканин (6 основних груп).
31. Принципові відмінності конструювання поживних середовищ для мікробних культур та культур еукаріотичних середовищ.
32. Збалансовані сольові розчини.
33. Середовище Ігла та його модифікації.
34. Сухі середовища. Концентрати.
35. Прості середовища з неіндефікованими добавками.
36. Антибіотики.
37. Сироватка.
38. Безсироватні середовища.
39. Керування процесами формоутворення в культурі тканин.
40. Стимуляція біохімічних реакцій (каталізатори).
41. Основні принципи культивування.
42. Кріоконсервація клітинних культур.
43. Заміна середовища у моношаровій культурі.
44. Обладнання для культивування клітин.
45. Вибір посуду для культивування.
46. Культуральний посуд, піпетки, мікропіпетки, стерильні контейнери, шприци.
47. Посуд для моношарових та суспензійних культур.
48. Газовий режим культурального посуду.
49. Мікроносії.

50. Підготовка посуду для культивування.
51. Обробка посуду: миття, стерилізація.
52. Асептика.
53. Стерилізація розчинів для культивування.
54. Стерилізація методом фільтрування.
55. Ламінари, термостати, центрифуги: загальний принцип будови, правила роботи.
56. Типові прийоми та способи культури мікроорганізмів, клітин та тканин рослин, тварин та людини.
57. Методи культивування мікроорганізмів.
58. Поживні середовища для створення культури мікроорганізмів.
59. Методи культивування клітин вищих організмів.
60. Калюсні і суспензійні культури клітин вищих рослин, методи їх отримання і галузь застосування.
61. Протопласти рослинних клітин, їх отримання, методи регенерації і культивування.
62. Злиття протопластів рослинних клітин.
63. Гібридизація соматичних клітин рослин.
64. Культивування клітин і тканин тварин.
65. Введення первинної культури.
66. Прийоми культивування в суспензійній культурі і в адгезованому стані.
67. Вимоги до якості і складу поживних середовищ.
68. Первинні та трансформовані культури.
69. Пересів клітинних культур.
70. Техніка дисоціації.
71. Трипсин. Проназа. Колагеназа. Версен.
72. Механічні методи дисоціації клітин.
73. Підрахунок живих клітин.
74. Перевірка на бактеріальне забруднення.
75. Отримання трансгенних організмів.
76. Клонування клітин та ефективність посіву.
77. Основні фази росту культур клітин.
78. Методи оцінки параметрів росту клітинної культури.
79. Загальні закономірності росту організму.
80. Клітинні основи росту.
81. Ріст організму та середовище.
82. Клітинна проліферація.
83. Диференціювання.
84. Вплив зовнішніх умов на ріст та розвиток організму.
85. Контроль та аналіз клітинного циклу.
86. Основні фази росту культури: лаг-фаза (фаза затримки росту), експоненціальна фаза, перед стаціонарна фаза, стаціонарна фаза, фаза відмирання культури.
87. Підрахунок клітин у гемоцитометрі та електронному лічильнику.
88. Методи фарбування живих та мертвих клітин.
89. Вага клітин. Вміст ДНК. Оцінка швидкості синтезу білка.
90. Цитометрія.
91. Ефективність культивування.
92. Аналіз формування колоній.
93. Каріотипування.
94. Візуалізація клітин.
95. Контамінація та шляхи усунення.
96. Джерела контамінації.
97. Основні прийоми стерильної роботи.
98. Ламінарна шафа.
99. Обробка термостатів, інкубаторів та холодильних камер.

100. Привезені клітинні лінії та біопсій на зразки. Карантин.
101. Візуально виявляємо мікробна контамінація.
102. Мікоплазма. Методи виявлення мікоплазми.
103. Вірусна контамінація.
104. Усунення контамінації. Усунення мікоплазми, вірусів, бактерій, грибів та дрозів.
105. Персистуюча контамінація. Перехресна контамінація.
106. Клітинна інженерія у сучасній науці.
107. Стовбурові клітини.
108. Історія створення клітинної інженерії.
109. Задачі клітинної інженерії.
110. Поліпшення рослин та тварин на основі клітинних технологій.
111. Сукупність базових методів, які використовуються для конструювання нових клітин.
112. Значення та застосування клітинної інженерії.
113. Культивування, гібридизація.
114. Гібридомна технологія, реконструкція.
115. Стовбурові клітини. Історія відкриття стовбурових клітин.
116. Загальні відомості про стовбурові клітини.
117. Класифікація стовбурових клітин (тоти-, плюри-, уніпотентні).
118. Методи виділення та культивування стовбурових клітин.
119. Способи отримання стовбурових клітин. Соціально-етичні та гуманістичні проблеми.
120. Клітинні мутанти та гібридні клітини.
121. Ауксотрофні мутанти. Відбір мутантів.
122. Мікроклональне розмноження організмів. Етапи мікроклонального розмноження.
123. Фактори, які впливають на мікроклональне розмноження.
124. Банк клітин *in vitro*: значення для збереження генофонду.
125. Культури специфічних клітин.
126. Клітинні культури спеціалізованих клітин.
127. Культура пухлинних клітин. Взяття зразків.