

**Министерство науки и высшего образования Российской Федерации**  
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ**  
**ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ**  
**ИМ. К.А. ТИМИРЯЗЕВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

ОДОБРЕНО  
Ученым советом ИФР РАН  
Протокол № 2 от « 01 » марта 2022 г.



**ПРОГРАММА**  
**КАНДИДАТСКОГО ЭКЗАМЕНА ПО СПЕЦИАЛЬНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ**  
**«БИОТЕХНОЛОГИЯ»**

по программе подготовки научных и научно-педагогических кадров в  
аспирантуре

группа научных специальностей 1.5 Биологические науки  
научная специальность 1.5.6 Биотехнология

Москва – 2022

## **Введение в предмет**

Что такое биотехнология – предмет изучения и области применения. Интеграция наук в биотехнологии. Этапы развития биотехнологии. Современные направления развития биотехнологии. Основные объекты биотехнологии и их народно-хозяйственное значение.

## **Клеточные основы**

Краткая характеристика особенностей строения, структурной и функциональной организации клеток растений, цианобактерий и бактерий. Отличия клеток растений от клеток животных организмов.

Роль цианобактерий в происхождения растительной клетки.

Структура клеток растений, общая схема, органеллы.

Ядро, структура и функции. Особенности организации ядерного генома растений.

Хромосомы и их функциональная роль.

Пластиды. Фотосинтез – общие представления. Типы пластид, их строение и онтогенез. Геном пластид. Прокариотические черты и копийность пластидного генома. Двойное кодирование (ядерное и/или пластомное) большинства компонентов фотосинтетического аппарата. Размножение и наследование пластид.

Митохондрии растений. Дыхание – общие представления. Строение митохондрий растений. Особенности структуры митохондриального генома растений. Прокариотические черты и размер митохондриального генома растений. Двойное кодирование (ядерное и/или хондриомное) большинства белков дыхательной ЭТЦ.

Пероксисомы, глиоксисомы. Плазмалемма, тонопласт, эндоплазматический ретикулюм, аппарат Гольджи.

Цитоскелет растительной клетки. Структура цитоскелета.

Клеточная стенка – уникальная особенность клеток растений. Строение клеточной стенки. Углеводные компоненты клеточной стенки. Целлюлоза и её структура. Пектины. Лигнины, воска, кутин, суберин.

Деление клеток растений, рост клеток растяжением, дифференцировка, старение и смерть.

Строение цианобактерий. Деление клеток цианобактерий. Пигменты фотосинтетического аппарата цианобактерий. Фотосинтез и фиксация азота. Запасные соединения в цианобактериях. Процессы фотодеструкции в цианобактериях. Роль цианобактерий в симбиозе с растениями.

## **Растение**

Онтогенез растений. Строение растений. Уникальные особенности организма растений. Донорно-акцепторные отношения как регуляторный фактор в системе целого растения.

Специфика метаболизма растений по сравнению с другими организмами. Минеральное питание. Водный обмен. Значение фотоавтотрофов в создании и поддержании состава атмосферы на планете. Фитогормоны и их роль.

## **Биохимические и молекулярные основы биотехнологий**

### **I - Геном**

Структура и свойства нуклеиновых кислот: номенклатура, строение, ДНК и РНК как носителей генетической информации. Первичная и вторичная структура нуклеиновых кислот. Особенности организации геномов прокариотов и эукариотов. Репликация ДНК.

Транскрипция и ее значение. Этапы синтеза мРНК – инициация, элонгация и терминация.

Трансляция – схема процесса. Структура и свойства белков, их биологическая роль.

Регуляция экспрессии генов на уровне транскрипции, трансляции и стабильности белков; применение для решения задач биотехнологии.

### **II - Биохимия**

Углеводы: структура и функции. Пути биосинтеза углеводов. Функциональная роль углеводов в клетках растений.

Липиды, классификация. Насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты. Триацилглицериды и фитостерины. Специфика липидного состава различных мембран растительной клетки.

Аминокислоты как мономерные структурные единицы белков и пептидов. Аминокислоты как субстраты синтеза других азотсодержащих соединений, в том числе вторичных соединений растений.

Белки: структура и свойства. Функциональная классификация белков. Понятие о доменах. Белковые комплексы.

Вещества специализированного обмена растений (вторичные метаболиты): основные классы, биологическая активность, функциональная роль. Алкалоиды, изопреноиды (терпеноиды), фенольные соединения. Пути биосинтеза основных классов вторичных метаболитов, точки "ответвлений" вторичного метаболизма от первичного. Модификации вторичных метаболитов (гликозилирование, гидроксилирование, метоксилирование, метилирование). Дублирование путей синтеза вторичных метаболитов в растительной клетке. Немевалонатный путь синтеза изопреноидов, его локализация и значение.

Ферменты: субстратная специфичность, ферментативный катализ. Кофакторы ферментативной реакции. Кинетика ферментативного катализа. Уравнение Михаэлиса-Ментен. Величины  $K_m$  и  $V_{max}$ , их биохимический смысл.

## **Биотехнология растений**

Культура изолированных клеток, тканей и органов растений. Тотипотентность растительных клеток растений. Дедифференцировка клеток растений в условиях *in vitro* и каллусогенез. Условия получения и выращивания каллусных и супензионных культур. Питательные среды, баланс ауксинов и цитокининов. Фазы ростового цикла культур клеток растений. Генетическая неоднородность культур клеток *in vitro* и возможности ее преодоления.

Изолированные протопласти растений, условия их получения и культивирования. Осмотические стабилизаторы в культуре изолированных протопластов. Способы слияния изолированных протопластов. Индукция деления и образования колоний каллусных клеток из протопластов. Способы, облегчающие получение колоний из одиночных клеток: метод плейтинга, кондиционированные среды, кормящий слой, культура «няньки», микрокапли.

Морфогенез в культуре изолированных клеток, тканей и органов растений (гистогенез, эмбриогенез, органогенез), его генетические и эпигенетические основы. Вторичная дифференцировка. Морфогенез и получение растений-регенерантов. Зависимость частоты регенерации растений от генотипа, физических факторов, состава питательных сред.

Культура изолированных семяпочек и зародышей в целях преодоления постгамной несовместимости, восстановления растительного разнообразия, получения искусственных семян.

Культивирование изолированных пыльников, пыльцы и микроспор. Способы получения гаплоидных, дигаплоидных и автодигаплоидных линий растений.

Получение индуцированных мутантов в условиях *in vitro*. Методы, используемые при отборе мутантных линий клеток. Клеточная селекция и ее применение для получения биотехнологических форм растений, устойчивых к абиотическим и биотическим факторам.

Клеточная селекция и ее возможности. Виды селективных сред. Методы клеточной селекции в получении форм растений, устойчивых к действию абиотических и биотических факторов. Реализация устойчивости на уровне регенерированных растений. Технология получения безвирусных растений.

Культуры клеток лекарственных растений – продуценты вторичных метаболитов. Регуляция накопления вторичных метаболитов в культурах *in vitro*. Стабильность биосинтеза вторичных метаболитов в клеточных культурах растений. Биотехнология и биоинженерия клеток-продуцентов метаболитов для медицинской, пищевой и парфюмерной промышленности.

Коллекции и криобанки клеточных культур: значение, способы, условия. Этапы криосохранения. Технология замораживания каллусных клеток, меристем, семян, пыльцы. Генетическая стабильность клеток в условиях криобанка.

Размножение и оздоровление посадочного материала *in vitro*. Преимущества метода клonalного микроразмножения растений по сравнению с традиционными методами вегетативного размножения. Этапы клonalного микроразмножения. Адаптация пробирочных растений к почвенным условиям. Искусственная микоризация растений.

### **Генетическая инженерия растений**

Основные этапы развития генной инженерии и направления исследований. Трансгеноз — получение генетически трансформированных (модифицированных) растений, его сущность и технология. Основные направления и проблемы генно-инженерной биотехнологии.

Молекулярные основы генетической инженерии: ДНК, ферменты рестрикции и модификации. Выделение и клонирование генов. Особенности строения векторов для молекулярного клонирования. Принципы конструирования рекомбинантных ДНК и их введение в реципиентные клетки. Особенности экспрессии прокариотических и эукариотических генов.

Трансгенные растения, методы их анализа и доказательство трансгенной природы трансформированных растений. Способы введения чужеродных генов в клетки растений. Особенности экспрессионных растительных векторов. Проблемы гетерологичной экспрессии. Метод трансформации, опосредованный *Agrobacterium tumefaciens*. Экспрессия чужеродных генов, феномен «замолкания». Технологии получения трансгенных растений, устойчивых к биотическим и абиотическим факторам среды, а также с измененным составом белков, жиров, сахаров и органических кислот. Транзиентная экспрессия генов в растениях: принцип, преимущества и ограничения для биотехнологического применения.

Транспластомные растения: преимущества их получения, специфика векторных конструкций для пластомной трансформации. Биология пластид и специфика пластомного генома. Методы трансформации пластидного генома, использование транспластомных растений.

Геномное редактирование — современный метод генной инженерии. Основные подходы для инсерции, делеции или перемещения фрагментов ДНК в геноме организма. Специфичность различных нуклеаз для геномного редактирования - мегануклеазы, нуклеазы с цинковыми пальцами (zinc fingers), нуклеазы TALEN, и система CRISPR-Cas. Области применения геномного редактирования в биотехнологии.

Молекулярные методы анализа растений. Полимеразная цепная реакция, разновидности и области применения. Современные технологии оценки дифференциальной транскрипции и трансляции мРНК, белковых продуктов генов, вторичных метаболитов – omics технологии. Их преимущества и ограничения. Использование молекулярных маркеров в геномике, генетике и селекции.

Области и возможности использования трансгенных растений. Проблема биобезопасности.

### **Биотехнология фотосинтезирующих микроорганизмов**

Отличия прокариотических клеток от эукариотических в природе и при культивировании в условиях *in vitro*.

Генетическая инженерия фотосинтезирующих микроорганизмов: типы векторов клонирования и экспрессии, особенности регуляции транскрипции и трансляции, создание продуцентов.

Классическая селекция штаммов-продуцентов фотосинтезирующих микроорганизмов и метаболическая инженерия – конструирование штаммов с целенаправленно изменённым метabolизмом.

Цианобактерии и микроводоросли – продуценты различных метаболитов и альтернатива традиционному сельскому хозяйству. Фотосинтетическая продуктивность. Условия и способы культивирования. Способы регуляции биосинтеза цианобактерий и микроводорослей. Основы биотехнологических производств биомассы микроводорослей. Возможности использования цианобактерий и микроводорослей в экологической биотехнологии, производстве биотоплива, высокопродуктивном и экологически чистом агро- и аквахозяйстве. Промышленное культивирование микроводорослей.

### **ОСНОВНАЯ УЧЕБНАЯ ЛИТЕРАТУРА**

1. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-ПРЕСС, 1999.
2. Лутова Л.А., Матвеева Т.В. Генная и клеточная инженерия в биотехнологии высших растений. Санкт-Петербург, Эко-Вектор, 2016
3. Алексина Н.Д. и др. Физиология растений. Под ред. И.П. Ермакова. М. Академия. 2007. Издание 2-е. 640 с.
4. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. М.: Мир, 2002.

### **ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА**

1. Льюин Б. Гены. М.: Бином. 2011.
2. Цоглин Л.Н., Пронина Н.А. Биотехнология микроводорослей. М.: Научный мир, 2012
3. Газит Эхуд. Нанобиотехнология: необычные перспективы развития / Пер. с англ. А.Е. Соловченко, науч.ред. Н.Л. Клячко. – М.; Научный мир, 2011.