

SZKOŁA GŁÓWNA GOSPODARSTWA WIEJSKIEGO W WARSZAWIE

SZKOŁA GŁÓWNA GOSPODARSTWA WIEJSKIEGO



## Wydział Rolnictwa i Biologii

02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159, tel. +48 22 59 325 10 fax. +48 22 59 325 06

e-mail: [dwrb@sggw.pl](mailto:dwrb@sggw.pl); <http://www.sggw.waw.pl/>

### Ramowy program przedmiotu

1. Nazwa przedmiotu **biologia komórki**
2. Przedmioty wprowadzające: botanika, biochemia, fizjologia

<i>Kierunek: biologia</i>	
<b>Rodzaj studiów:</b> licencjackie.....	
Specjalność: .....	
Wykłady (h) 30.....	Prowadzący (koordynator przedmiotu)
Ćwiczenia (h) ..60	Dr hab.Grażyna Garbaczewska prof.
Punkty ECTS ...7	SGGW.....
	Nr przedmiotu ...
	Data opracowania programu
	.....

#### Jednostki prowadzące:

**Katedra Botaniki**, Wydział Rolnictwa i Biologii oraz Zakład Parazytologii i Inwazjologii,

**Katedra Nauk Przedklinicznych**, Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Prowadzący: dr hab. Grażyna Garbaczewska prof. nadz., zespół z Katedry Botaniki

Dr Marcin Wiśniewski i dr Agnieszka Zatorska

*Przedmiot obowiązkowy, semestr 5, wykłady 30 h, ćwiczenia 60 h, forma zaliczenia: egzamin pisemny opisowy*

### **3. Założenia i cele przedmiotu:**

- a) Przekazanie wiedzy o strukturach komórkowych i ich funkcjonowaniu, procesach zachodzących w komórce na poziomie molekularnym, oraz metodach badawczych stosowanych w biologii komórki.
- b) Przekazanie wiedzy z zakresu najnowszych metod wykorzystywanych do wykrywania procesów jakim podlegają komórki oraz wykorzystania komórki, jako potencjalnego bioreaktora trudno dostępnych białek.

### **4. Efekty kształcenia – nabyte umiejętności i kompetencje**

Studenci posiadają umiejętności w zakresie:

- a/ metod mikroskopii świetlnej, fluorescencyjnej i elektronowej i technik cytochemicznych w badaniach komórki.
- b/ posługiwania się wybranymi technikami wykorzystywanymi w badaniu wybranych procesów zachodzących w komórce, takich jak: analiza ekspresji genów na poziomie mRNA i białka, wykrywanie mutacji w genomie, molekularna charakterystyka komórki apoptotycznej. Dodatkowo zaznajomią się z możliwością wykorzystywania komórek prokariotycznych i eukariotycznych do produkcji trudnodostępnych białek (otrzymywania rekombinowanych białek)

### **5. Tematy wykładów**

**Zakład Parazytologii i Inwazyjologii, Katedra Nauk Przedklinicznych,**

**Wydział Medycyny Weterynaryjnej**

**1-2. Struktura i funkcje kwasów nukleinowych** (właściwości spektrofotometryczne kwasów nukleinowych, metody wykrywania DNA, metody sekwencjonowania i amplifikacji kwasów nukleinowych) **- 4 godz.**

**3. Replikacja, regulacja ekspresji genów podczas transkrypcji i translacji** – forma prezentacji multimedialnych **– 2 godz.**

**4. Drogi sygnalizacji międzykomórkowej** (receptory wewnętrznych szlaków sygnalizacyjnych (hormony steroidowe, receptory powierzchniowe: receptory jonotropowe, receptory związane z białkami G - cyklaza adenylowa), receptory katalityczne - kinazy tyrozynowe) **– 2 godz.**

**5. Cykl komórkowy- jego przebieg i kontrola** (fazy cyklu komórkowego, kontrola cyklu komórkowego przez cykliczne kinazy białkowe, rola białka p53 i rodziny białek bcl-2, sposoby badania cyklu komórkowego) - 2 godz.

**6. Procesy starzenia się komórek** (starzenie się komórek *in vivo*, *in vitro* i w hodowlach, starzenie się komórek populacji intensywnie proliferujących i nie proliferujących – zmiany w jądrze, cytoplazmie i błonie, mechanizm wolnorodnikowy procesu starzenia się komórek, rola telomeraz w procesie starzenia się komórek. - 2 godz.

**7. Uszkodzenia i śmierć komórki** (fizjologiczna śmierć komórki, atrofia, apoptoza i nekroza; udział białek (p53 i bcl-2) i enzymów (kaspazy) w śmierci komórek; komórki nowotworowe jako przykład komórek nie podlegających kontroli proliferacji i śmierci, mechanizmy regulujące proces śmierci komórek) - 2 godz.

#### **Katedra Botaniki Wydział Rolnictwa i Biologii**

#### **8. Organizacja komórki jako kryterium w tworzeniu systemów taksonomicznych**

Struktura komórek prokariotycznych i eukariotycznych. Pochodzenie i ewolucja pierwszych komórek eukariotycznych. Cechy pierwszych fototrofów eukariotycznych -2 godz.

#### **9. Charakterystyka metod badawczych stosowanych w biologii komórki**

mikroskopia świetlna i elektronowa, techniki cytochemiczne

i immunocytochemiczne

-2godz.

#### **10. Błony biologiczne – budowa i funkcje. Cytoplazma:** cytosol, cytoszkielet, funkcje

wybranych białek, rola wapnia i regulacja jego stężenia w komórce

-2godz.

#### **11. Budowa i biogeneza rybosomów eukariotycznych. Systemy błonowe.** Struktura i

fizjologiczne właściwości retikulum endoplazmatycznego i aparatu Golgiego: rozmieszczenie enzymów, komunikacja między ER i aparatem Golgiego, komunikacja między ER i jądrem komórkowym.

-2 godz.

**12. Jądro komórkowe** w okresie interfazy, charakterystyka struktur jądrowych: chromatyna, matriks jądrowa, jąderko. otoczka jądrowa. Struktura chromosomów mitotycznych, formowanie i funkcjonowanie wrzeciona podziałowego

- 2 godz.

**13. Ultrastruktura plastydów i mitochondriów**, ich genom, biosynteza białek i import białek do tych organelli. Peroksysomy oraz powiązania funkcjonalne z innymi organellami; nadrzędna rola jądra w koordynacji metabolizmu.

-2godz.

14. **Wakuola komórki roślinnej**; powstawanie i funkcje: np. lityczne, spichrzowe, obronne, regulacji turgoru i poziomu jonów, biosyntezy i detoksykacji - 2 godz.

15. **Ściana komórkowa** - szkielet komórki czy matryks pozakomórkowa, ultrastruktura, skład chemiczny i funkcje w różnych warunkach np. stresu, połączenia z cytoszkieletem i błonami komórkowymi. Programowana śmierć komórki roślin w odpowiedzi na sygnały wewnętrzne i zewnętrzne. -2 godz.

## 6. Tematyka ćwiczeń: ćwiczenia - 30 h,

**Zakład Parazytologii i Inwazjologii, Katedra Nauk Przedklinicznych**  
**dr Agnieszka Gajewska / dr inż. Marcin Wiśniewski**

### • **Omówienie programu zajęć (przydzielenie tematów) (2 h).**

Zajęcia komputerowe pozwalające zapoznać się z dostępnymi bazami danych, które dotyczą badań w zakresie „biologii komórki”: artykuły, prezentacje, poszukiwanie wiadomości do opracowania zagadnień na kolejne zajęcia.

### **2. Zagadnienia z zakresu badań nad błonami cytoplazmatycznymi (2h).**

- prezentacja podstawowych typów transportu (prezentacje multimedialne), budowa i zasada działania pompy sodowo-potasowej, wapniowej, protonowej
- zjawisko fuzji błon plazmatycznych (znaczenie zjawiska, przebieg, udział swoistych białek, czynniki sprzyjające fuzji itp.)
- przykłady prezentacji działania kanałów w błonach plazmatycznych (rodzaje kanałów i mechanizmy ich działania)
- transportery ABC – budowa, rodzaje, funkcja i występowanie
- błona erytrocytarna jako przykład powiązania plazmolemy z cytoszkieletem

### **3. Badanie ekspresji genów (4 h)**

I. na poziomie molekularnym w oparciu o techniki wykorzystujące metodę PCR

- metody izolacji RNA
- transkrypcja RNA in vitro
- namnażanie cDNA kodujących interesujące nas białka metodą PCR
- analiza ekspresji techniką RT-PCR

II. na poziomie białka

- immunohistochemiczne określanie ekspresji białek w układach in vivo
- immunoenzymatyczne oznaczanie ekspresji badanych genów (Western blot, Elisa)

### **Część praktyczna:**

- Izolacja RNA z komórek prokariotycznych, elektroforeza uzyskanych produktów w żelu agarozowym

### **4. „Transgeniczne komórki” – bioproducenci trudnodostępnych białek (4 h)**

#### a) klonowanie cDNA poszukiwanych białek w wektorach ekspresyjnych

- 1- najczęściej stosowane enzymy w inżynierii genetycznej
- 2- prokariotyczne układy ekspresyjne,
- 3- eukariotyczne układy ekspresyjne
- 4- metody wprowadzania obcego DNA do komórek
- 5- ekspresja i oczyszczanie rekombinowanych białek

### **Część praktyczna:**

- trawienie DNA plazmidowego enzymami restrykcyjnymi
- elektrotransformacja bakterii *E. coli* rekombinowanym plazmidem

### **5. Enzymy komórkowe w służbie człowieka – wykorzystanie rekombinowanych / natywnych białek komórkowych przez człowieka (4 h).**

### **Część praktyczna:**

- oczyszczanie rekombinowanego białka metodą chromatografii powinowactwa

### **6. DNA - ukryte informacje – wykorzystywanie technik analizujących zapis, zmiany w sekwencji (4 h)**

- techniki umożliwiające śledzenie mutacji w DNA (RFLP, AFLP, RAPD)
- zmiany w zapisie DNA – diagnostyka wielu stanów patologicznych
- zostawione DNA w miejscu przestępstwa, zostawiona wizytówka przestępcy – właściwości DNA pomocne w schwytaniu przestępcy

### **Część praktyczna:**

1. RAPD – PCR – przykładowe wykorzystanie metody do pokazania różnic w sekwencji DNA wyizolowanego ze śliny studentów

### **7. Apoptoza i nekroza komórek (4 h):**

- metody wykrywania śmierci komórek (wykrywanie zmian w błonach komórkowych – składu lipidowego, transportu stosując mikroskopię i cytometrię przepływową; zmiany w DNA – metoda kometkowa, mikroskopia fluorescencyjna – DAPI, Hoescht, metoda TUNEL,

elektroforeza; zmiany w strukturach komórkowych – mitochondria, lizosomy, aparaty Golgiego; zmiany morfologiczne – mikroskopia świetlna

- mitochondria – magazyn białek biorących udział w procesie apoptozy
- kaspazy enzymy kontrolujące samobójczą śmierć komórek (budowa i funkcje w komórkach)
- szlaki sygnalizacyjne prowadzące do indukcji apoptozy w komórkach
- apoptoza a choroby – AIDS, choroby nowotworowe, choroby układu nerwowego i immunologicznego i inne

Oglądanie preparatów komórek ulegających apoptozie z wybarwionymi organellami.

Pokazanie galerii komórek apoptotycznych z Molecular Probes.

**Część praktyczna:** elektroforetyczna analiza DNA wyizolowanego podczas zajęć DNA genomowego z komórek nie- i apoptotycznych

#### **8. Procesy prowadzące do powstania komórek nowotworowych (4 h):**

- etapy procesu nowotworzenia
- czynniki sprzyjające procesom nowotworzenia
- 1. udział białek w procesie nowotworzenia
- geny supresorowe transformacji nowotworowej, protoonkogeny, geny mutatorowe
- teorie procesu nowotworzenia
- sposoby walki z komórkami nowotworowymi na poziomie molekularnym

Procesy starzenia się komórek:

- teorie starzenia się komórek (wolnorodnikowa, genomowa, scholastyczna i inne)
- starzenie się komórek *in vivo* i w warunkach *in vitro*
- białka odpowiedzialne za starzenie

**Prezentacje komputerowe procesów starzenia się i nowotworzenia.**

**7. Forma zaliczenia przedmiotu: zaliczenie pisemne, opisowe.**

**8. Autorzy programu**

**dr Agnieszka Zatorska, dr inż. Marcin Wiśniewski**

Zakład Parazytologii i Inwazjologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Przedklinicznych.

## **9. Literatura:**

### Podstawowa

1. Podstawy biologii komórki- B.Alberts i inni, PWN, 2007
2. Cytobiochemia – L. Kłyszajko-Stefanowicz, PWN, 2002.
3. Molekularne mechanizmy przekazywania sygnałów w komórce – L. Konarska, PWN, 1995
4. Seminaria z cytofizjologii. - J. Kawiak, M. Zabieli 2002, Urban & Partner

### Uzupełniająca

5. Genetyka molekularna – P. Węgleński, PWN, 1995.
  6. Genomy – pod red. P. Węgleńskiego, PWN, 2001.
  7. Receptory – struktura charakterystyka funkcja –J.Z. Nowak i J.B. Zawilska, PWN, 1997.
  8. Biologia molekularna (krótkie wykłady) – P.C. Turner i inni, PWN, 2002.
  9. Biologia molekularna w medycynie- J. Bał, PWN, 2001.
- Podstawy inżynierii genetycznej – w. Kofta, Prószyński i S-ka, 1999.

## **10. Informacje o przedmiocie w języku angielskim.**

### **1. Subject name: Cell biology**

#### 2. Lecture topics:

- 1) Molecular structure and function of nucleic acids
- 2) Replication, regulation of gene expression on transcription and translation levels.
- 3) Intercellular signaling pathways
- 4) Cell cycle
- 5) Cell aging processes
- 6) Cell damage and cell death

#### 3) practices topics:

1. Course introduction
2. Cytoplasmatic membrane: properties and investigation
3. Gene expression analysis
4. Application of transgenic cells in protein production.
5. Application of cell enzymes (recombinant and/or native) in human service.
6. DNA – hidden information, DNA analysis techniques.
7. Cell apoptosis and necrosis.
8. Factors involved in the process of cancerogenesis.

**Program opracował:**

## **6. Ćwiczenia- część II 30 godz.**

Realizacja: **dr hab. Grażyna Garbaczewska oraz zespół pracowników Katedry Botaniki**

### **1. Barwienia przyżyciowe żywych komórek, właściwości ściany komórkowej i wakuoli**

a- barwienie czerwienią obojętną soku komórkowego i ściany komórkowej epidermy cebuli oraz pasiatki – analiza zróżnicowania barwienia w zależności od pH buforu cytrynowo-fosforanowego.

b- badanie żywotności ziaren pyłku metodą kiełkowania

c- identyfikacja żywych i martwych komórek z zastosowaniem barwienia zielenią malachitową i fuksyną kwaśną.

**2. Metody utrwalania materiału do mikroskopu świetlnego i elektronowego.** Metody zatapiania materiału i sporządzania skrawków do mikroskopu świetlnego i elektronowego – praktykum wybranych metod. Wykonanie barwień na makroskrawkach eponowych ich obserwacja – lokalizacja metali ciężkich np. ołowiu.

**3.a/ Techniki lokalizacji kwaśnej fosfatazy** z zastosowaniem mikroskopii świetlnej i analiza elektronogramów z mikroskopu elektronowego transmisyjnego.

b/ metody identyfikacji enzymu dehydrogenazy bursztynianowej w mitochondrium z użyciem nitro BT .

**4.a/ Metoda immunofluorescencyjna + DAPI**, badanie cytoszkieletu tubulinowego i chromosomów w komórkach korzenia cebuli.

b/ Fluorescencyjne barwienie prążków w chromosomach.

**5. Metody barwienia kwasów nukleinowych** w komórkach roślin:

a/ pironina i zieleń trwała,

b/ barwienie chromosomów acetokarminem lub fioletem gencjany, metoda wykonywania preparatów „gniecionych” z korzenia cebuli

c/ barwienie histonów zielenią trwałą.

**6. a/ Metoda identyfikacji otoczki jądrowej** rodaminą B z zastosowaniem mikroskopii fluorescencyjnej

b/ **identyfikacja kalozy** –barwienie błękitem aniliny i ligniny w mikroskopie fluorescencyjnym

c/ **metody srebrzenia jąderka** do mikroskopu świetlnego i elektronowego

d/ **cytochemiczne metody identyfikacji precypitatów wapnia** z zastosowaniem antymonianu



potasu do mikroskopu elektronowego.

7/ **Lokalizacja ekspresji genu ekspansyn i celulaz** w układzie pasożytniczym pomidor-mątwik metodą *in situ* hybrydyzacji:

a/ warunki pobrania próbek i ich przygotowania do badań w mikroskopie świetlnym lub elektronowym

b/ synteza sondy RNA i synteza sondy DNA

c/ przeprowadzenie reakcji lokalizacji ekspresji genu : *in situ* hybrydyzacja, *in situ* RT PCR i *in situ* RT PCR *in situ* hybrydyzacja.

d/ detekcja produktu bezpośrednia i pośrednia

#### **7. Literatura Zalecana:**

1. Podstawy biologii komórki roślinnej t.I i II. Wojtaszek P., Woźny A., Ratajczak L. PWN, Warszawa 2006

2. Podstawy biologii komórki. B. Alberts i inni. PWN, Warszawa, 1999

3. Podstawy biologii komórki roślinnej. A. Woźny, J. Michejda i L. Ratajczak, UAM, Poznań. 2000. Interplant adresy internetowe

4. Cytobiochemia. L. Kłyszejko – Stefanowicz, PWN, 1995

5. Podstawy cytofizjologii. J. Kawiak i inni, PWN, 1995

#### **Uzupelniajaca:**

6. Genetyka molekularna. P. Węgleński, PWN, 1995

7. Genomy. pod red. P. Węgleńskiego, PWN, 2001

8. Receptory – struktura, charakterystyka, funkcja. J.Z. Nowak, J. B. Zawilska, PWN, 1997

9. Biologia molekularna w medycynie. J. Bal, PWN, 2001

10. Biologia molekularna (krótkie wykłady) P.C. Turner i inni, PWN, 2002

1. Podstawy inżynierii genetycznej. W. Kofta, Prószyński i S-ka, 1999

#### **8. Subject name: Cell biology**

##### **• Lecture topics:**

Structure, origin and evolution procariotic and eucariotic cells. The evolution of the live- principal information. Importance of cell and genom organization in classification of living organisms. Methods in cell biology- light and electron microscopy..

Structure and functions of protoplasmatic structures of plant cell: cytoplasm (cytoskeleton), membranes (ER, AG), mitochondria, types and functions of plastids, nucleus (chromatin, nucleolus, biogenesis of ribosomes). Mitosis and meiosis, vacuole and cell wall-chemical structures and functions..

#### **9. Zaliczenie: kolokwium pisemne**

Odpowiedzialni za prowadzenie przedmiotu są: dr hab. Grażyna Garbaczewska prof. nadz. i zespół pracowników Katedry Botaniki