БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Биологический факультет

Кафедра генетики

СОГЛАСОВАНО
Председатель учебно-методической комиссии биологического факультета
Поликсенова В.Д.

_____

«26» ноября 2014 г.

СОГЛАСОВАНО
Декан
биологического факультета
Лысак В.В.

_____

«26» ноября 2014 г.

Регистрационный номер № УД-266

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ПО УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ

Генотерапия

для специальности
1-31 01 01 Биология (по направлениям)
направления специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология)

Составитель: докт. биол. наук, профессор Максимова Н.П.

Рассмотрено и утверждено
на заседании
Научно-методического совета БГУ

«27» ноября 2014 г.

протокол № 2

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Директор Государственного научного учреждения «Иститут генетики и цитологии НАН Беларуси», к.б.н. В.А. Лемеш.

Зав. кафедрой экологической и молекулярной генетики Международного государственного экологического университета имени А.Д. Сахарова, к.б.н. доцент Г.А. Писарчик.

СОДЕРЖАНИЕ

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА 4

1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ 5

2. ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ 9

3. КОНТРОЛЬ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ 9

Структура рейтинговой системы 9

Задания и тесты для самоконтроля 10

Темы рефератов 13

Вопросы для подготовки к экзамену 15

4. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ 17

Учебно-программные материалы 17

Список рекомендуемой литературы и Интернет-ресурсов 17

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебно-методический комплекс (УМК) по учебной дисциплине «Генотерапия» создан в соответствии с требованиями Положения об учебно-методическом комплексе на уровне высшего образования и предназначен для студентов специальности 1-31 01 01 Биология по направлению специальности 1-31 01 01-03 Биотехнология

Содержание разделов УМК соответствует образовательным стандартам высшего образования данных специальностей. Главная цель УМК – оказание методической помощи студентам в систематизации учебного материала в процессе подготовки к итоговой аттестации по курсу «Генотерапия».

Структура УМК включает:

1. Учебно-методическое обеспечение дисциплины.

1.1. Теоретический раздел (курс лекций в объеме, установленном типовым учебным планом по специальности).

1.2. Практический раздел (материалы для проведения лабораторных занятий по дисциплине в соответствии с учебным планом).

2. Контроль самостоятельной работы студентов (материалы текущей и итоговой аттестации, позволяющие определить соответствие учебной деятельности обучающихся требованиям образовательных стандартов высшего образования и учебно-программной документации, в т.ч. вопросы для подготовки к экзамену, задания, тесты, вопросы для самоконтроля, тематика рефератов и др.).

3. Вспомогательный раздел.

3.1. Учебно-программные материалы (типовая учебная программа, учебные программы (рабочий вариант) для студентов дневной и заочной форм получения образования).

3.2. Информационно-аналитические материалы (список рекомендуемой литературы, перечень электронных образовательных ресурсов и их адреса и др.).

Работа с УМК должна включать на первом этапе ознакомление с тематическим планом дисциплины, представленным в учебной программе. С помощью рабочего варианта учебной программы по дисциплине можно получить информацию о тематике лекций и лабораторных занятий, перечнях рассматриваемых вопросов и рекомендуемой для их изучения литературы. Для подготовки к лабораторным занятиям и промежуточным зачетам необходимо, в первую очередь, использовать материалы, представленные в разделе учебно-методическое обеспечение дисциплины, а также материалы для текущего контроля самостоятельной работы. В ходе подготовки к итоговой аттестации рекомендуется ознакомиться с требованиями к компетенциям по дисциплине, изложенными в типовой учебной программе, структурой рейтинговой системы, а также перечнем вопросов к экзамену. Для написания рефератов могут быть использованы информационно-аналитические материалы, указанные в соответствующем разделе УМК.

Авторский курс лекций по генотерапии находится в приложении, а также доступен по адресу:
http://bio.bsu.by/genetics/files/gene_therapy_konspekt.pdf

1. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

1.1. Теоретический раздел

Генотерапия – совокупность генно-инженерных (биотехнологических) и медицинских методов, предназначенных для внесения изменений в генетический аппарат соматических клеток человека в целях лечения наследственных заболеваний. Это новая и бурно развивающаяся область, ориентированная на исправление дефектов, вызванных мутациями в генах или придание клеткам новых функций. Сегодня генотерапия может рассматриваться как потенциально универсальный подход к лечению широкого спектра болезней человека, включая различные наследственные заболевания, диабет, астму, рак и ВИЧ.

Цель спецкурса– изучение фундаментальных основ генотерапии, ее теоретической молекулярно-генетической базы, а также подходов практического использования для лечения наследственных заболеваний человека.

Задачей спецкурса является знакомство студентов с наследственными заболеваниями и их молекулярно-генетической основой, способами переноса конкретных генов в клетки человека и успехами генотерапии на современном этапе.

Теоретические знания, полученные в лекционном курсе, развиваются и закрепляются на лабораторных занятиях, при выполнении которых студенты приобретают навыки практической работы, необходимые специалисту-биологу для проведения самостоятельных исследований после окончания высшего учебного заведения.

Концепция генной терапии заключатся в том, что наиболее радикальным способом борьбы с разного рода заболеваниями, связанными с нарушениями в генетическом материале клеток, должно быть воздействие, направленное непосредственно на исправление или уничтожение самой генетической причины заболевания, а не её последствий.

«Лечение генов» – исправление дефекта в гене (моногенные болезни) – на уровне соматических и половых клеток – замена мутантного гена на нормальный.

«Лечение генами» – коррекция дефекта путем введения полноценного работающего гена (кДНК).

История развития генотерапии. Этап I (1970-1990 гг.) характеризуется попытками лечения дефицита фермента аргиназы заражением клеток вирусом папилломы Шоупа. В это же время была предпринята неудачная попытка лечения *β*-талассемии пересадкой клеток костного мозга, трансформированных *ex vivo* β-глобиновым геном; генетическое маркирование Т-лимфоцитов.

Начало этапа II знаменуется успешной попыткой лечения врожденного иммунодефицита (аденозиндезаминазной недостаточности – АДА-синдрома), осуществленной в США в сентябре 1990 г. 14 сентября 1990 года считается "днем рождения" реальной генной терапии. В 1992 г. были предприняты попытки лечения методом *ex vivo* семейной гиперхолестеринемии (мутация в гене рецептора липопротеинов низкой плотности) и гемофилии В, в 1993 г. – муковисцидоза, в 1995 г. – первые попытки лечения глиобластомы. Эти работы по генной терапии до 1996 г. были единичными.

В 1997 г. начался III этап развития генотерпаии. Началась разработка подходов лечения моногенных заболеваний: эмфиземы легких, цистофиброза, гемофилии, талассемии, фенилкетонурии, фамильной гиперхолестеринемии, гипотиреоза и др., а также полигенных заболеваний: сахарного диабета, гипертонической болезни, коронарных заболеваний, астмы, онкологических заболеваний, артрита, болезни Альцгеймера и др. Ряд генотерапевтических препаратов уже сегодня предложены для лечения людей. Например, в КНР – препараты «Гендицин» (компания "Shenzhen SiBiono GenTech") и «H101» (компания Sunway Biotech), которые представляют собой комплекс из аденовирусного носителя и гена p53 и предназначены для лечения чешуйчатого рака кожи шеи и головы. В России создан препарат Неоваскулген – первый российский генотерапевтический препарат, разработанный для лечения ишемии нижних конечностей атеросклеротического генеза.

Методы коррекции генетических дефектов. Решающим условием успешной генотерапии является обеспечение эффективной доставки, то есть ***трансфекции*** (в широком смысле) или ***трансдукции*** (при использовании вирусных векторов) чужеродного гена в клетки-мишени, обеспечение длительного функционирования его в этих клетках и создание условий для полноценной работы гена (его экспрессии).

Стратегии коррекции генетических дефектов: стратегия вставки здорового гена в клетки, дефектные по этому гену; стратегия подавления нежелательной функции гена в клетках и стратегия усиления иммунного ответа.

Стратегия вставки здорового гена - корригирующая (исправляющая) терапия – замена дефектного гена нормальным и заместительная терапия – ведение дополнительной копии(й) гена, которая функционально (но не физически) замещает дефектный ген. Стратегия вставки здорового гена в клетки, дефектные по этому гену, используется в тех случаях, когда клетки потеряли функцию какого-либо гена, и необходимо эту функцию восстановить. Этот подход может быть использован, например, при рецессивных наследственных заболеваниях. Когда заболевание вызывается избыточной функцией гена, например, в случае инфекций или опухолевых трансформациях, необходимо использовать ***стратегию подавления нежелательной функции гена*** и гибель нежелательных клеток. Различают прямую индукцию гибели и непрямую индукцию гибели клеток.

Стратегия усиления иммунного ответа. С помощью генно-терапевтических подходов клетки модифицируют, чтобы усилить иммунный ответ организма на нежелательные явления, вызванные инфекцией или возникновением опухолей. Модификация также осуществляется введением новой генетической информации либо в клетки, против которых хотят увеличить иммунный ответ, либо в клетки иммунной системы, с помощью которых можно усилить этот эффект.

Способы введения генов в клетки человека: безвекторный и векторный перенос генов.

Безвекторный перенос генов. Трансформация и трансфекция. ДЭАЭ-декстрановый метод. Гипертонический солевой метод. Метод Ca^{2+}-претипитации. Микроинъекция ДНК. Электропорация. Использование «генных пистолетов». Перенос ДНК с помощью липосом. Перенос комплексов ДНК-белок-аденовирусный белок и т. д. Особенности использования методов при работе с культивируемыми клетками человека и животных и в системе *in vivo*.

Векторный перенос генов. Перенос генов в клетки человека и животных с помощью вирусных векторов – главный метод генотерапии. Типы вирусных векторов, используемых в генотерапии. Векторы на основе ретровирусов и их типы (векторы для переноса одиночных генов, для переноса спаренных генов, векторы с внешним и внутренним промоторами, челночные векторы, самоинактивирующиеся векторы) и специфичность. Механизм интеграции ретровирусных векторов в хромосомы человека. Области применения и эффективность ретровирусных векторов. Преимущества и недостатки. Векторы на основе аденовирусов и особенности их использования. Экстрахромосомальная локализация аденовирусных векторов. Векторы на основе аденоассоциированных вирусов. Особенности интеграции аденоассоциированных вирусов в хромосомы человека. Использование герпесвирусов и лентивирусов для переноса генов в клетки человека. Проблема стабильности гибридных ДНК в клетках человека и животных. Основные приемы амплификации генов, используемые в генотерапии.

Подходы коррекции генетических дефектов. В генотерапии используется введение генов ***ex vivo*** и ***in vivo***. В случае e*x vivo* трансформация клеток осуществляется вне организма (например, *in vitro*) с последующим переносом трансформированных клеток в организм.

Введение генов ***ex vivo*** осуществляется с использованием чистой ("голой"–naked) ДНК, встроенной в соответствующую плазмиду, или комплексированной ДНК (плазмидная ДНК, соединенная с солями, белками (трансферрин), органическими полимерами (DEAE-декстран, полилизин), липосомами или частицами золота), а также ДНК в составе вирусных частиц, предварительно лишенных способности к репликации (вирусных векторов).

Другой подход – ***in vivo***, доставка генов и введение в клетки прямо в организме (***in situ***). Выбор стратегии определяется той медицинской задачей, которую решает генная терапия в каждом конкретном случае.

По механизму действия встраиваемого гена или переносимой молекулы ДНК, генотерапия делится на положительную – восстановление функции гена или отрицательную – подавления функции гена.

Клетки, используемые для генотерапевтических целей: гематопоэтические клетки, лимфоциты, гепатоциты, фибробласты, клетки мышц, легочный эпителий, раковые клетки, эндоцелиальные клетки, нейробласты, миелобласты, кератиноциты и др.

Проблемы генотерапии. Генотерапии свойственны определенные риски, влияющие на эффективность самого лечения, которые необходимо учитывать при разработке генотерапевтических подходов лечения заболеваний человека:

- встраивание генетического материала в геном реципиента происходит неконтролируемо, что может вызвать «замолкание» вводимого терапевтического гена, либо нарушение экспрессии собственных клеточных протоонкогенов или супрессоров опухолевого роста;
- экспрессия трансгенов может подавляться цитокинами организма, такими как IFN-α и IFN-γ, чья продукция активируется в ответ на инфекцию;
- иммунная система реципиента может индуцировать уничтожение вводимого генетического материала, либо усилить выработку антител к ним, что затрудняет повторную трансфекцию;
- у реципиента еще до проведения терапии в организме могут присутствовать антитела к определенным типам вирусных векторов;
- введение больших доз векторных конструкций может оказывать токсическое воздействие на организм реципиента.

Актуальные задачи генотерапии:

- разработка индивидуальных алгоритмов генотерапии наследственных и ненаследственных заболеваний;
- повышение эффективности векторных систем, используемых в генотерапии;
- создание регулируемых конструкций в зависимости от места, уровня и времени экспрессии трансгенов;
- разработка систем переноса генов в митохондрии;
- повышение эффективности ДНК-вакцин для лечения инфекционных и онкологических заболеваний.

Авторский курс лекций по генотерапии доступен по адресу:

Лекция 1. Введение.
Лекция 2. Стратегии генотерапии.
Лекция 3. Безвекторный перенос генов.
Лекция 4. Векторный перенос генов.
Лекция 5. Методы изучения моногенных и полигенных наследственных заболеваний.

Лекция 6. Характеристика моногенных наследственных заболеваний.
Лекция 7. Характеристика полигенных наследственных заболеваний.
Лекция 8. Полигенные заболеваний человека. Продолжение.
Лекция 9. Генетика онкологических заболеваний.
Лекция 10. Генетика ВИЧ.
Лекция 11. Генотерапия наследственных заболеваний.
Лекция 12. Генотерапия онкологических заболеваний.
Лекция 13. Генотерапия ВИЧ.

2. ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

ПЕРЕЧЕНЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ

(14 часов)

№ п/п	Темы лабораторных работ	Количество часов
1.	Выделение репортерной плазмиды pEGFP-C1 и плазмиды pcDNA3/U6/shEGFP из клеток *E.coli* DH5α.	2
2.	Трансфекция клеток линии К562 эритробластного криза хронического миелоидного лейкоза репортерной плазмидой pEGFP-C1.	2
3.	Анализ экспрессии гена egfp в клетках линии К562 с помощью флуориметра.	2
4.	Анализ экспрессии гена egfp в клетках линии К562 с помощью проточной цитометрии.	2
5.	Котрансфекция клеток линии К562 репортерной плазмидой pEGFP-C1 и плазмидой pcDNA3/U6/shEGFP.	2
6.	Анализ подавления экспрессии гена *egfp* в клетках линии К562 с помощью shEGFP на проточном цитофлуориметре.	2
7.	Анализ подавления экспрессии гена *egfp* в клеках линии 562 с помощью shEGFP методом флуориметрии.	2

3. КОНТРОЛЬ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

Структура рейтинговой системы

Структура рейтинговой системы по дисциплине «Генетика» по специальностям 1-31 01 01 Биология (по направлениям); 1-31 01 02

Биохимия; 1-31 01 03 Микробиология; 1-33 01 01 Биоэкология для студентов дневной и заочной формы обучения является комплексной и включает оценку на экзамене (60 %) и оценку по итогам оценки знаний в ходе лабораторных работ (40 %).

Наименование мероприятий		Форма оценки	Способ оценка	Структура общей оценки знаний студента (в %)
Лекции	Экзамен	Устный ответ (3 вопроса и задача)	По десятибалльной шкале	10 баллов = 60 %
Лаборатор-ные занятия	Отработка	Письменный и устный опрос на занятиях	По десятибалльной шкале	10 баллов = 40 %
		КСР	По десятибалльной шкале	
		Написание реферата по теме (форма отработки занятий)	Зачет	
Суммарная оценка = оценка на экзамене + итоговая оценка по лабораторным занятиям				10 баллов = 100 %

Вопросы для самопроверки знаний

1. Инсулинзависимый диабет связан с мутациями в генах:

1. B8 и B15 антигенов (хромосома 6p21)
2. Dw3, Drw3, DQB1 антигенов (хромосома 6p21)
3. Ian5 (хромосома 7)
4. TCFL2
5. HNFα
6. Sur

Найдите верный ответ(ы):

А. 1, 2, 3, 4
Б. 3, 5, 6
В. 4, 5
Г. только 5,6
Д. все перечисленные

2. MODY-тип инсулиннезависимого диабета связан с мутациями в генах, кодирующих синтез:

1. В8 и В15 антигенов
2. транскрипционного фактора гепатоцитов-HNF 4 (хромосома 12q)
3. глюкокиназы (хромосома 7)
4. транскрипционного фактора гепатоцитов-HNFα (хромосома 12q)
5. DR3-DQw8 антигенов
6. рецептора сульфанилмочевины
7. транскрипционного фактора TCFL2 проглюкагона

Найдите верный ответ(ы):

А. только 1, 3, 5
Б. только 2, 3, 4
В. только 2, 6, 7
Г. все перечисленное
Д. 1,4, 5, 6, 7

3. Мутация в гене CCR5 вызывает:

А. Ускоряет ВИЧ-инфицирование
Б. Задерживает развитие вируса
В. Снижает вероятность инфицирования Т-клеток ВИ**Ч**
Г. Снижает вероятность инфицирования моноцитов

4. Стратегия генотерапии ВИЧ основана на:

А. Клонировании CCR5-гена для обеспечения сверхсинтеза кодируемого им белка
Б. Подавлении экспрессии CCR5-гена с помощью антисмысловых РНК или рибозимов
В. Модификации CCR5-гена для получения растворимых форм белка
Г. Индукции мутации в CCR5-гене в стволовых клетках

5. Гепатоциты не используются для генотерапии заболеваний:

А. Семейная гиперхолестеринемия
Б. Фенилкетонурия
В. Цитрулинемия
Г. Талассемия
Д. Болезнь Гоше

6. Наиболее предпочтительным геном-кандидатом для генотерапии болезни Альцгеймера является:

А. ApoE4
Б. APP
В. pS1
Г. pS2
Д. ApoE2

7. Наиболее предпочтительным способом доставки генов в клетки печени является использование:

А. Ретровирусных векторов
Б. Аденовирусных векторов
В. Векторов на основе аденоассоциированных вирусов
Г. Липосом
Д. ДНК/белковых комплексов

8. Ниже перечислены достоинства и недостатки одного из вирусных векторов, используемых в генотерапии. Определите, о каком векторе идет речь?

Достоинства	Недостатки
Высокая эффективность трансфекции *ex vivo* и *in vivo*	Зависимость иммунного ответа от дозы
Возможность трансфекции делящихся и неделящихся клеток	Емкость 7,5 т.п.н.
	Не продолжительность экспрессии

А. Аденовирусные вектора
Б. Ретровирусные вектора
В. Аденоассоциированные вектора
Г. Вектора на основе лентивирусов
Д. Вектора на основе герпесвирусов

9. Что из перечисленного не относится к стратегии генотерапии ВИЧ?

А. Клонирование генов, кодирующих синтез “трансдоминантных негативно действующих белков”
Б. Клонирование гена, кодирующего синтез “растворимых” CD4-рецепторов
В. Клонирование генов, кодирующих синтез антисмысловых Tat/Rev РНК
Г. Клонирование гена, кодирующего синтез CFTR фактора
Д. Клонирование гена, кодирующего синтез рибозимов

10. Наиболее предпочтительным способом доставки генов в клетки сердечно-сосудистой системы является:

А. Ретровирусные вектора
Б. Аденовирусные вектора
В. AAV-вектора
Г. Липосомы
Д. Лентивирусы

Темы рефератов

1. Классификация наследственных заболеваний человека и стратегии использования методов генотерапии для их лечения.
2. Моногенные заболевания человека и их типы. Молекулярно-генетическая характеристика.
3. Аутосомно-рецессивные заболевания. Молекулярно-генетическая характеристика.
4. Аутосомно-доминантные заболевания. Молекулярно-генетическая характеристика.
5. Сцепленные с полом рецессивные заболевания. Молекулярно-генетическая характеристика.
6. Сахарный диабет. Типы диабета и их молекулярно-генетическая характеристика.
7. Молекулярно-генетическая основа "митохондриальных заболеваний" человека.
8. Астма. Молекулярно-генетическая характеристика.
9. ВИЧ-инфекция. Молекулярно-генетическая характеристика ВИЧ.
10. Молекулярные подходы выделения и идентификации генов.
11. Методы установления локализации генов с использованием генетических и молекулярно-генетических подходов.
12. Способы введения генов в клетки человека и животных (ex vivo, in vivo, in situ) и особенности их использования в зависимости от типа клеток и тканей.
13. Методы безвекторного переноса генов в клетки человека и особенности их использования в генотерапии.
14. Вектора на основе ретровирусов, их характеристика и способы конструирования. Особенности использования в генотерапии, преимущества и недостатки.
15. Вектора на основе аденовирусов, их характеристика и способы конструирования. Особенности использования в генотерапии, преимущества и недостатки.
16. Вектора на основе аденоассоциированных вирусов, их характеристика и способы конструирования. Особенности использования в генотерапии, преимущества и недостатки.
17. Вектора на основе герпесвирусов, их характеристика и способы конструирования. Особенности использования в генотерапии, преимущества и недостатки.
18. Вектора на основе лентивирусов, их характеристика и способы конструирования. Особенности использования в генотерапии, преимущества и недостатки.
19. Использование онколитических вирусов в генотерапии.
20. Болезнь Альцгеймера. Молекулярно-генетическая характеристика заболевания и современные подходы его лечения.

21. Онкологические заболевания человека и их типы. Молекулярно-генетическая характеристика.

22. Диабет. Типы диабета. Молекулярно-генетическая характеристика заболевания и современные подходы его лечения.

23. Астма. Молекулярно-генетическая характеристика заболевания и современные подходы его лечения.

24. Онкологические заболевания. Молекулярно-генетическая характеристика и современные подходы их лечения.

25. ВИЧ. Молекулярно-генетическая характеристика и современные подходы их лечения.

26. Подходы подавления онкогенов, как основа генотерапии рака.

27. Типы генов-супрессоров. Подходы восстановления функции генов супрессоров, как основа генотерапии рака.

28. Суицидальная терапия онкологических заболеваний.

29. Стратегия использования генотерапии для лечения моногенных наследственных заболеваний.

30. Стратегия использования генотерапии для лечения сахарного диабета.

31. Стратегия использования генотерапии для лечения болезни Альцгеймера.

32. Стратегия использования генотерапии для лечения онкологических заболеваний.

33. Стратегия использования генотерапии для лечения ВИЧ-инфекции.

34. Стратегия использования генотерапии для лечения заболеваний печени.

35. Стратегия использования генотерапии для лечения заболеваний крови.

36. Стратегия использования антисмысловых олигонуклеотидов для лечения онкологических заболеваний и ВИЧ.

37. Стратегия использования генотерапии в спорте.

38. Стратегия использования РНК-интерференции в генотерапии.

39. Редактирование генома TALEN и CRISPR, как инструмент редактирования генов в генотерапии.

40. Настоящее и будущее генотерапии.

41. ДНК-вакцины. Перспективы использования.

Вопросы для подготовки к экзамену

1. Генотерапия – новое направление медицинской биотехнологии. Роль классической и молекулярной генетики в развитии генотерапии.
2. История возникновения генотерапии. Успехи генотерапии и перспективы развития.
3. Методология генотерапии. Способы введения генов в клетки человека и их общая характеристика.
4. Стратегии коррекции генетических дефектов.

5. Подходы коррекции генетических дефектов (е*x vivo, in vivo, in vitro и in situ)*. Характеристика и примеры использования.
5. Типы наследственных заболеваний человека и их общая характеристика.
6. Классификация генных наследственных заболеваний человека и их характеристика.
7. Наследственные заболевания человека, вызванные «экспансией» тринуклеотидных повторов и их характеристика.
8. Аутосомно-доминантные наследственные заболевания человека (нейрофиброматоз, фамильная гиперхолестеринемия, миотоническая дистрофия) и их генетическая основа.
9. Аутосомно-доминантные наследственные заболевания человека (синдром Марфана, хорея Гентингтона, панкреатическая аденокарцинома, ахондроплазия) и их генетическая основа.
10. Аутосомно-рецессивные наследственные заболевания человека (аденозиндезаминазаная недостаточность, аномалии обмена полисахаридов, муковисцидоз) и их генетическая основа.
11. Аутосомно-рецессивные наследственные заболевания человека (фенилкетонурия, талассемия, липосомные заболевания) и их генетическая основа.
12. Наследственные заболевания человека, сцепленные с Х-хромосомой доминантного (независимый от витамина Д рахит) и рецессивного типа (мышечная дистрофия Дюшена, гемофилия, синдром ломкости Х-хромосомы и др.), и их генетическая основа.
13. Наследственные заболевания человека митохондриальной природы и их генетическая основа.
14. Заболевания человека полигенной природы. Сахарный диабет и его генетическая основа.
15. Заболевания человека полигенной природы. Астма и ее генетическая основа.
16. Заболевания человека полигенной природы. Болезнь Альцгеймера и ее генетическая основа.
17. Характеристика онкологических заболеваний человека и их генетическая основа.
18. Генетические основы ВИЧ-инфекции.
19. Механизм взаимодействия ВИЧ с клеткой.
20. Методы молекулярного анализа нуклеиновых кислот. Их цели и задачи.
21. Способы идентификации генов (блот-гибридизация по Саузерну, рестрикционный анализ, метод обратно-транскриптазной ПЦР, метод количественной ПЦР (Real-Time PCR, анализ с помощью биочипов).
22. Идентификация неизвестных мутаций (прямое секвенирование, метод конформационного полиморфизма одноцепочечных фрагментов SSCP, метод электрофореза в денатурирующем градиентном геле, метод химического расщепления некомплементарных сайтов, гететродуплексный анализ).

23. Методы идентификации мутаций (структурных и точеных) молекулярными методами.
24. Идентификация дефектных генов с помощью функционального клонирования. Два подхода функционального клонирования генов.
25. Идентификация дефектных генов с помощью позиционного клонирования. Два подхода позиционного клонирования генов.
26. Способы введения генов в клетки человека (*ex vivo, in vivo, in situ*) и особенности их использования в зависимости от типа заболевания.
27. Безвекторный перенос генов в клетки человека. Основные подходы и их характеристика. Преимущества и недостатки методов.
28. Основные принципы и подходы векторного переноса генов в клетки человека. Преимущества и недостатки методов.
29. Характеристика векторов на основе ретровирусов и их типы. Особенности использования, преимущества и недостатки.
30. Характеристика векторов на основе аденовирусов и их типы. Особенности использования, преимущества и недостатки.
31. Характеристика векторов на основе аденоассоциированных вирусов и их типы. Особенности использования, преимущества и недостатки.
32. Характеристика векторов на основе герпесвирусов. Особенности использования, преимущества и недостатки.
33. ДНК-вакцины.
34. Используемые в генотерапии генотерапевтические агенты и их характеристика.
35. Стратегия лечения моногенных наследственных заболевания человека и с помощью генотерапии.
36. Генотерапевтические подходы лечения аденозин-дезаминазной недостаточности (ADA-синдрома).
37. Генотерапевтические подходы лечения мышечной дистрофии Дюшена.
38. Генотерапевтические подходы лечения муковисцидоза.
39. Генотерапевтические подходы лечения β-талассемии и серповидно-клеточной анемии.
40. ВИЧ-инфекция и современные подходы лечения с помощью генотерапии.
41. Характеристика основых подходов генотерапии онкологических заболеваний.
42. Генотерапевтические подходы иммунотерапии онклогических заболеваний.
43. Генотерапевтические подходы блокирования функции онкогенов..
44. Использование онколитических вирусов в генотерапии.
45. Успехи генотерапевтического лечения онкологических заболеваний.
46. Генотерапевтических подходов анти-ВИЧ терапии.
47. Генотерапия сосудистых заболеваний человека.
48. Подавление развития опухолевых клеток с помощью генов-супрессоров.
49. Основные подходы к блокированию онкогенов.
50. Генотерапия полигенных наследственных заболеваний человека.

4. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ

Учебно-программные материалы

Учебная программа по дисциплине «Генотерапия» для учреждений высшего образования по специальности 1-31 01 01 Биология по направлению 1-31- 01 01-03 Биология (биотехнология), которая доступна по адресу: http://elib.bsu.by/handle/123456789/39909 .

Учебная программа (рабочий вариант) по дисциплине «Генотерапия» для учреждений высшего образования по специальности 1-31 01 01 Биология по направлению 1-31- 01 01-03 Биология (биотехнология), которая доступна по адресу: http://elib.bsu.by/handle/123456789/50591 .

Список рекомендуемой литературы и Интернет-ресурсов

Список рекомендуемой литературы и Интернет-ресурсов приведен в учебных программах (рабочий вариант) по дисциплине «Генотерапия» для студентов дневной форм обучения, которые доступны по адресу: http://elib.bsu.by/handle/123456789/50591 .