

Рабочий экземпляр № БГОО-Р05У/Р1

Белорусский государственный университет

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе


_____ А.И. Толстик

« 30 » _____ 2017

Регистрационный № УД - 4072/уч.



Генотерапия

Учебная программа учреждения высшего образования

по учебной дисциплине для специальности:

1-31 01 01 Биология (по направлениям)

направления специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология)

2017 г.

Учебная программа составлена на основе ОСВО 1-31 01 01-2013 и учебного плана УВО № G31-131/уч. 2013 г.

СОСТАВИТЕЛЬ:

Наталья Павловна Максимова, заведующая кафедрой генетики Белорусского государственного университета, доктор биологических наук;

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой генетики Белорусского государственного университета (протокол № 18 от 17 мая 2017 г.);

Учебно-методической комиссией биологического факультета Белорусского государственного университета (протокол № 10 от 31 мая 2017 г.)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебная дисциплина «Генотерапия» является одним из спецкурсов, предназначенных для студентов специальности 1-31 01 01 Биология (по направлениям) направления специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология).

Цель учебной дисциплины – ознакомить студентов с современными аспектами генотерапии и приемами лечения наследственных заболеваний человека с помощью молекулярно-генетических подходов. Для достижения поставленной цели материал излагается в логической последовательности, начиная от знакомства студентов с наследственными заболеваниями и их молекулярно-генетической основой, разработкой способов переноса конкретных генов в клетки человека и успехах генотерапии на современном этапе.

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

В результате изучения дисциплины обучаемый должен:

знать:

- общую характеристику и молекулярно-генетическую природу наследственных заболеваний человека – моногенных, полигенных, онкологических и вирусных;
- методологию и экспериментальные подходы, используемые в генотерапии;
- успехи и проблемы генотерапии на современном этапе.

владеть:

- навыками выделения и идентификации генов, вызывающих наследственные заболевания человека;
- методами введения генов в клетки человека и животных;
- стратегическими подходами использования генотерапии для лечения наследственных заболеваний человека.

В соответствии с образовательным стандартом по специальности 1-31 01 01 «Биология (по направлениям)» изучение учебной дисциплины «Генотерапия» должно обеспечить формирование у специалиста следующих компетенций:

АК-1. Уметь применять базовые научно-теоретические знания для решения теоретических и практических задач.

АК-2. Владеть системным и сравнительным анализом.

АК-3. Владеть исследовательскими навыками.

АК-4. Уметь работать самостоятельно.

АК-5. Быть способным вырабатывать новые идеи (обладать креативностью).

АК-6. Владеть междисциплинарным подходом при решении проблем.

АК-7. Иметь навыки, связанные с использованием технических

устройств, управлением информацией и работой с компьютером.

АК-8. Владеть навыками устной и письменной коммуникации.

АК-6. Владеть междисциплинарным подходом при решении проблем.

ПК-3. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научной литературе, составлять аналитические обзоры.

ПК-7. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научно-технических и других информационных источниках.

Программа учебной дисциплины составлена с учетом межпредметных связей и программ по смежным учебным дисциплинам («Генетика», «Основы молекулярной биологии», «Векторные системы» и др.).

В соответствии с учебным планом изучение учебной дисциплины осуществляется в 9 семестре. Программа рассчитана на 128 часов, в том числе 44 аудиторных часов, из них 26 – лекционных, 14 – лабораторных занятий, 4 часа – аудиторного контроля управляемой самостоятельной работы студентов. Форма текущей аттестации по учебной дисциплине – экзамен.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

I. ВВЕДЕНИЕ

История возникновения генотерапии как нового направления медицинской биотехнологии. Роль генетики и молекулярной биологии в становлении и развитии генотерапии.

Основные принципы и методология генотерапии. Успехи генотерапии и перспективы развития. Области применения генотерапии.

II. КЛАССИФИКАЦИЯ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА И ОСНОВНЫЕ ПОДХОДЫ ИХ ЛЕЧЕНИЯ С ПОМОЩЬЮ ГЕНОТЕРАПИИ

Моногенные заболевания (дефект аденозиндезаминазы, гемоглобинопатия и т.д.), полигенные заболевания (рак, астма, гипертония, сахарный диабет и т. д.) и инфекционные заболевания генетической природы (моноклеоз, гепатит В, герпес, HIV-инфекция и т. д.).

Подходы лечения наследственных заболеваний с помощью генотерапии. Лабораторные разработки и клинические испытания.

III. СПОСОБЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕНОВ, ВЫЗЫВАЮЩИХ НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА

Основные методы выделения ДНК и РНК из клеток человека и животных. Требования к препаратам ДНК и РНК. Методы идентификации генов (рестрикционный анализ, блот-гибридизация, секвенирование и т. д.). Клонирование генов, создание геномных и кДНК-библиотек, искусственный синтез генов. Позиционное и функциональное клонирование.

Методы идентификации мутаций.

IV. МЕТОДЫ ВВЕДЕНИЯ ГЕНОВ В КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ (*IN VITRO*, *IN VIVO*, *EX VIVO* И *IN SITU*)

Особенности использования методов *in vitro* и *in vivo*. Использование метода *ex vivo* для введения генов в лимфоциты, фибробласты, нейробласты, миелобласты, гепатоциты, клетки костного мозга, клетки опухолей. Преимущества и недостатки метода *ex vivo*. Использование метода *ex vivo* в клинической практике. Метод *in situ* и его особенности.

V. ОСНОВНЫЕ ПОДХОДЫ ПЕРЕНОСА ГЕНОВ В КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

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.

VI. СТРАТЕГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНОТЕРАПИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

Лечение наследственных заболеваний и заболеваний обмена веществ (цистофиброза, гемофилии А и В, гиперхолестеринемии, дефекта аденозиндезаминазы, эмфиземы легких, талассемии, фенилкетонурии, муковисцидоза и т. д.). Успехи генотерапии в этой области.

Лечение онкологических заболеваний. Введение в клетки опухоли генов для повышения их иммунореактивности. Введение генов, кодирующих синтез цитокинов, интерлейкинов, фактора некроза супрессоров (например, р53) и т. д. Блокирование синтеза инсулин-подобного ростового фактора IGF-

1. Введение в стволовые клетки генов-протекторов для защиты их от действия химиотерапевтических средств. Введение в клетки опухоли антисмысловых мРНК и ДНК. Перспективы использования методов генотерапии для лечения онкологических заболеваний человека в условиях клиники.

Лечение заболеваний нервной системы (склероза сосудов, синдрома ломкости X-хромосомы, болезни Паркинсона, шизофрении и т. д.).

Лечение инфекционных заболеваний (HIV-инфекции, гепатита В и т. д.). Введение генов для направленной антивирусной терапии (модификации HIV-белков, введение антисмысловой РНК, рибозимов, ингибиторов обратной транскриптазы, γ -интерферона и т. д.). Введение генов для иммуностимуляции.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСР	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
I	ВВЕДЕНИЕ	2						
II	КЛАССИФИКАЦИЯ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА И ОСНОВНЫЕ ПОДХОДЫ ИХ ЛЕЧЕНИЯ С ПОМОЩЬЮ ГЕНОТЕРАПИИ.	4						
2.1	Моногенные заболевания, полигенные заболевания и инфекционные заболевания генетической природы	2						
2.2	Подходы лечения наследственных заболеваний с помощью генотерапии	2						
III.	СПОСОБЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕНОВ, ВЫЗЫВАЮЩИХ НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА	4			2		2	
3.1	Основные методы выделения ДНК и РНК из клеток человека и животных. Методы идентификации генов	2						
3.2	Клонирование генов, создание геномных и кДНК-библиотек, искусственный синтез генов	2						
IV.	МЕТОДЫ ВВЕДЕНИЯ ГЕНОВ В КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ (IN VITRO, IN VIVO, EX VIVO И IN SITU).	4			6		2	письменный опрос

1	2	3	4	5	6	7	8	9
4.1	Особенности использования методов <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> . Использование метода <i>ex vivo</i> для введения генов в клетки человека.	2						
4.2	Использование методов <i>in vivo</i> и <i>ex vivo</i> в клинической практике. Метод <i>in situ</i> и его особенности.	2						
V.	ОСНОВНЫЕ ПОДХОДЫ ПЕРЕНОСА ГЕНОВ В КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ.	4			2			
5.1	Безвекторный перенос генов	2						
5.2	Векторный перенос генов	2						
VI.	СТРАТЕГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНОТЕРАПИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ.	8			4		2	письменный опрос
6.1	Лечение наследственных заболеваний и заболеваний обмена веществ	2						
6.2	Лечение онкологических заболеваний	2						
6.3	Лечение заболеваний нервной системы	2						
6.4	Лечение инфекционных заболеваний	2						

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

ЛИТЕРАТУРА

Основная:

1. *Баранов В.С.* Молекулярные основы наиболее частых моногенных болезней/ В.С. Баранов, Т.Э. Иващенко, М.В. Исаев // Геномика - медицине. Научное издание / под ред. В.И. Иванова, Л.Л. Киселева. - М.: Академкнига, 2005.
2. *Бочков Н.П.* Клиническая генетика / Н.П. Бочков// М.: ГЭОТА МЕД. 2001.
3. *Горбунова В.Н.* Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний / В.Н. Горбунова, В.С. Баранов СПб.: "Специальная литература". 1997.
4. *Киселев В.И.* Генотерапия: состояние и перспективы развития // Введение в молекулярную медицину / под ред. М.А. Пальцева. - М.: Медицина, 2004.
5. *Горбунова В.Н.* Молекулярные основы медицинской генетики / Горбунова В.Н. Под ред. Е. И. Шварца. СПб.: "Интермедика", 1999.
6. *Козлова С.И.* Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование / Козлова С.И., Демикова Н.С., Семанова Е., Блинникова О.Е. М.: Практика, 1996
7. *Патрушев Л.И.* Экспрессия генов / Патрушев Л.И. М.: Наука. 2000.
8. *Сингер М., Берг П.* Гены и геномы / Сингер М., Берг П. М.: Мир. 1998.

Дополнительная:

1. *Прасолов В. С., Иванов Д. С.* Ретровирусные векторы в генной терапии // Вопр. мед. хим. - 2000. - № 3.
2. *Stem cell biology and gene therapy / Ed. by P.J. Qursenberry, G.S. Stein, B.G. Forget, Sh.M. Weissman.* New York Wiley-Liss Inc. 1998.
3. *Gene therapy Technologies, Application and Regulations / Ed. A. Meager.* New York. John Wiley & Sons Ltd. 1999.
4. *An introduction to molecular medicine and gene therapy / Ed. Thomas F. Kresina.* 2001.
5. *Vector Targeting for Therapeutic Gene Delivery / Ed. D.T. Curiel, J.T. Douglas.* New York. John Wiley & Sons Ltd. 2002.
6. *Human Molecular Genetics / T. Strachen A.P. Read.* New York Bios scientific publishers Ltd.: 1996.

7. Adeno-associated Virus for Cancer Gene Therapy / S. Ponnazhagan, D.T. Curiel, D.R. Shaw, R.D. Alvarez, G.P. Siegal // Cancer Research – Vol. 61, N.1. - P. 6313-6321.
8. Novel molecular approaches to cystic fibrosis gene therapy / T.W.R. Lee, D.A. Matthews, G.E. Blair. Biochem. J. Vol. 387.-P.1-15.
9. Gene Repair and Transposon-Mediated Gene Therapy / P.D. Richardson, L.B. Augustin, B.T. Kren, C.J. Steer // Stem Cells. Vol. 20. – P.105-118.
10. Human Molecular Genetics / T. Strachen A.P. Read. New York Bioscientific publishers Ltd. 1996.
11. Adeno-associated Virus for Cancer Gene Therapy / S. Ponnazhagan, D.T. Curiel, D.R. Shaw, R.D. Alvarez, G.P. Siegal // Cancer Research 61, N.1. P. 6313-6321. 2001.
12. Novel molecular approaches to cystic fibrosis gene therapy / T.W.R. Lee, D.A. Matthews, G.E. Blair. Biochem. J. Vol. 387.-P.1-15. 2005.
13. Gene Repair and Transposon-Mediated Gene Therapy / P.D. Richardson, L.B. Augustin, B.T. Kren, C.J. Steer // Stem Cells. Vol. 20. – P.105-118. 2002.

ПЕРЕЧЕНЬ КОНТРОЛЬНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ УПРАВЛЯЕМОЙ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

Промежуточный зачет по разделу «Методы введения генов в клетки человека и животных (*in vitro*, *in vivo*, *ex vivo* и *in situ*)» и «Стратегии использования генотерапии для лечения наследственных заболеваний».

ПЕРЕЧЕНЬ РЕКОМЕНДУЕМЫХ СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ

В качестве формы итогового контроля по учебной дисциплине рекомендован экзамен. Для текущего контроля качества усвоения знаний студентами можно использовать следующий диагностический инструментарий:

- подготовка рефератов;
- защита презентаций;
- устный опрос.

ПЕРЕЧЕНЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ

(2 ч. каждое)

1. Выделение репортерной плазмиды pEGFP-C1 и плазмиды pсDNA3/U6/shEGFP из клеток *E.coli* DH5 α ;
2. Трансфекция клеток линии K562 эритробластного криза хронического миелоидного лейкоза репортерной плазмидой pEGFP-C1;
3. Анализ экспрессии гена *egfr* в клетках линии K562 с помощью флуориметра;

4. Анализ экспрессии гена *egfp* в клетках линии K562 с помощью проточной цитометрии;
5. Котрансфекция клеток линии K562 репортерной плазмидой pEGFP-C1 и плазмидой pcDNA3/U6/shEGFP;
6. Анализ подавления экспрессии гена *egfp* в клетках линии K562 с помощью shEGFP на проточном цитофлуориметре;
7. Анализ подавления экспрессии гена *egfp* в клетках линии 562 с помощью shEGFP методом флуориметрии.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОРГАНИЗАЦИИ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

Для организации самостоятельной работы студентов по учебной дисциплине следует использовать современные информационные технологии: разместить в сетевом доступе комплекс учебных и учебно-методических материалов (программа, курс лекций, мультимедийные презентации, список рекомендуемой литературы и информационных ресурсов, задания в тестовой форме для самоконтроля и др.).

Эффективность самостоятельной работы студентов целесообразно проверять в ходе текущего и итогового контроля знаний – докладов и презентаций, написания рефератов по темам и разделам курса.

МЕТОДИКА ФОРМИРОВАНИЯ ИТОГОВОЙ ОЦЕНКИ

Итоговая оценка (минимум 4, максимум 10 баллов) определяется по формуле:

$$\text{Итоговая оценка} = A \times 0,4 + B \times 0,6,$$

где *A* – средний балл по лабораторным занятиям и УСР,
B – экзаменационный балл

Итоговая оценка выставляется только в случае успешной сдачи экзамена (4 балла и выше).

ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ УВО

Название дисциплины, с которой требуется согласование	Название кафедры	Предложения об изменениях в содержании учебной программы по изучаемой учебной дисциплине	Решение, принятое кафедрой, разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола)
Генетика	Генетики	Отсутствуют Зав. кафедрой Н.П. Максимова	Утвердить согласование протокол № 18 от 17 мая 2017 г.
Основы молекулярной биологии	Микробиологии	Отсутствуют Зав. кафедрой В. А. Прокулевич	Утвердить согласование протокол № 18 от 17 мая 2017 г.
Векторные системы	Микробиологии	Отсутствуют Зав. кафедрой В. А. Прокулевич	Утвердить согласование протокол № 18 от 17 мая 2017 г.

ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ УВО
на ____ / ____ учебный год

№№ ПП	Дополнения и изменения	Основание

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры
(протокол № ____ от __ _____)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор
(степень, звание)

(подпись)

Н.П.Максимова
(И.О.Фамилия)

УТВЕРЖДАЮ

Декан факультета

к.б.н., доцент
(степень, звание)

(подпись)

В.В. Лысак
(И.О.Фамилия)