



**СОСТАВИТЕЛЬ:**

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



**РЕЦЕНЗЕНТЫ:**

Александр Петрович Ермишин, заведующий лабораторией генетики картофеля Государственного научного учреждения «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси», доктор биологических наук, доцент;

Наталья Михайловна Орел, доцент кафедры биохимии Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент

**РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ В КАЧЕСТВЕ УЧЕБНОЙ:**

Кафедрой генетики Белорусского государственного университета  
(протокол № 6 от 15 декабря 2011 г.);

Учебно-методической комиссией биологического факультета Белорусского государственного университета  
(протокол № 5 от 22 декабря 2011 г.);

Научно-методическим советом Белорусского государственного университета  
(протокол № 3 от 27 января 2012 г)

Ответственный за редакцию: Наталья Павловна Максимова

Ответственный за выпуск: Наталья Павловна Максимова

## ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

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 данного спецкурса – 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. 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

**уметь:**

- использовать знания, полученные в рамках курса, в научно-исследовательских целях и на практике;
- связывать полученные в данном курсе знания по генотерапии с общими понятиями молекулярной генетики, клеточной биологии и медицинской генетики;
- ориентироваться в современных исследованиях по проблемам генотерапии;
- определять приоритетные направления развития генотерапии, в том числе для решения практических задач медицины.

При чтении лекционного курса необходимо применить технические средства обучения для демонстрации слайдов и презентаций.

Для организации самостоятельной работы студентов по курсу необходимо использовать современные информационные технологии: разместить в сетевом доступе комплекс учебных и учебно-методических материалов (программа, список рекомендуемой литературы и информационных ресурсов, основные литературные источники, задания в тестовой форме для самоконтроля и др.).

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.

Эффективность самостоятельной работы студентов целесообразно проверять в ходе текущего письменного опроса по основным разделам курса, а также итоговой проверки знаний по всему курсу. Программа рассчитана на 44 аудиторных часа: 26 – лекционных, 14 – лабораторных работ и 4 – контролируемой самостоятельной работы.

### ПРИМЕРНЫЙ ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН

№ п/п	Наименование разделов, тем	Всего	Количество часов			
			Аудиторные			Самостоятельная работа
			Лекции	Лаб. занятия	КСР	
	Введение	2	2			
1.	Классификация наследственных заболеваний человека и основные подходы их лечения с помощью генотерапии.	14	4			10
2.	Способы выделения и идентификации генов, вызывающих наследственные заболевания человека.	16	4	2	2	8
3.	Методы введения генов в клетки человека и животных ( <i>in vivo, in vitro, ex vivo u in situ</i> ).	18	4	6		8
4.	Основные подходы переноса генов в клетки человека и животных.	14	4	2		8
5.	Стратегии использования генотерапии для лечения наследственных заболеваний человека.	30	8	4	2	16
	Всего:	94	26	14	4	50

# СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

## 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.

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

Моногенные заболевания (дефект аденозиндезаминазы, гемоглинопатия 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.

## 2. СПОСОБЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕНОВ, ВЫЗЫВАЮЩИХ НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЧЛОВЕКА

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.

## 3. 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.

## 4. ОСНОВНЫЕ ПОДХОДЫ ПЕРЕНОСА ГЕНОВ В КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

**Безвекторный перенос генов.** Трансформация и трансфекция. ДЭАЭ-декстрановый метод. Гипертонический солевой метод. Метод  $\text{Ca}^{2+}$ -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.

## 5. 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,  $\gamma$ -интерферона и т. д.). Введение генов для иммуностимуляции.

## ИНФОРМАЦИОННАЯ ЧАСТЬ

### ЛИТЕРАТУРА

#### Основная

1. Геномика – медицине. Научное издание / Под ред. академика РАМН В.И. Иванова и академика РАН Л.Л. Кисилева. – М.: ИКЦ «Академкнига».
2. *Иванов В.И., Барышникова Н.В., Билева Дж. С.* и др. Генетика. Учебник для вузов / Под ред. акад. В.И. Иванова. – М.: ИКЦ «Академкнига».
3. *Зеленин А.В.* (ред.) Генная терапия – медицина будущего. М.: ВИНТИ РАН.
4. *Бочков Н.П.* Клиническая генетика / Бочков Н.П. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.
5. *Горбунова В.Н., Баранов В.С.* Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний / Горбунова В.Н., Баранов В.С. СПб.: "Специальная литература", 1997.
6. *Горбунова В.Н.* Молекулярные основы медицинской генетики / Горбунова В.Н. Под ред. Е. И. Шварца. СПб.: "Интермедика", 1999.
7. *Козлова С.И., Демикова Н.С., Семанова Е., Блинникова О.Е.* Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование / Козлова С.И., Демикова Н.С., Семанова Е., Блинникова О.Е. М.: Практика, 1996.
8. Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот / Под ред. А.С. Спирина. М.: Высшая школа, 1990.
9. *Патрушев Л.И.* Экспрессия генов / Патрушев Л.И. М.: Наука, 2000.
10. *Сингер М., Берг П.* Гены и геномы / Сингер М., Берг П. М.: Мир, 1998.
11. *Фогель Ф., Мотульский А.* Генетика человека / Фогель Ф., Мотульский А. М.: Мир, 1989.

#### Дополнительная:

1. 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.
2. Gene therapy Technologies, Application and Regulations / Ed. A. Meager. New York. John Wiley & Sons Ltd.: 1999.
3. An introduction to molecular medicine and gene therapy / Ed. Thomas F. Kresina.: 2001.
4. Vector Targeting for Therapeutic Gene Delivery / Ed. D.T. Curiel, J.T. Douglas. New York. John Wiley & Sons Ltd.: 2002.

5. Human Molecular Genetics / T. Strachen A.P. Read. New York Bios scientific publishers Ltd.: 1996.

6. 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.

7. 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.

8. 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.