

Рабочий экземпляр № БГД-7064/Р1

Белорусский государственный университет

**УТВЕРЖДАЮ**

Проректор по учебной работе



А. Л. Толстик

«10» сентября 2016 г.

Регистрационный № УД- 2133 /уч.

### **Введение в генотерапию**

**Учебная программа учреждения высшего образования  
по учебной дисциплине для специальности:  
1-31 01 01 Биология (по направлениям)  
специализаций 1-31 01 01-01 07 и 1-31 01 01-02 07 Генетика**

2016 г.

Учебная программа составлена на основе ОСВО 1-31 01 01-2013 и учебных планов УВО № G 31-132/уч. 2013 г., № G 31-133/уч. 2013 г.

**СОСТАВИТЕЛЬ:**

Василий Викторович Гринев, доцент кафедры генетики Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент;

**РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:**

Кафедрой генетики Белорусского государственного университета (протокол № 19 от 4 мая 2016 г.);

Учебно-методической комиссией биологического факультета Белорусского государственного университета (протокол № 10 от 25 мая 2016 г.)

## ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебная дисциплина «Введение в генотерапию» является одним из спецкурсов, предназначенных для студентов специальности 1-31 01 01 Биология (по направлениям) направлений 1-31 01 01-01 Биология (научно-производственная деятельность) и 1-31 01 01-02 Биология (научно-педагогическая деятельность) специализаций 1-31 01 01-01 07 Генетика и 1-31 01 01-02 07 Генетика.

В структуре заболеваний человека наследственная патология занимает лидирующую позицию. Так, без учета моногенных и хромосомных заболеваний, больших и малых врожденных пороков развития и посттравматических осложнений, мультифакториальные заболевания составляют 92-93 % от всей неинфекционной патологии человека. Молекулярно-генетическая природа и патогенез таких заболеваний остаются слабо изученными. Однако, не смотря на это, в последние годы предпринимаются активные попытки использования уже имеющихся знаний с целью генной терапии таких заболеваний. Согласно прогнозам Ф. Коллинза, руководителя американской части международного проекта «Геном человека», в обозримом будущем усилия по поиску и разработке новых и более эффективных методов генной терапии наследственных заболеваний человека приведут к тому, что подавляющее большинство таких заболеваний будет лечиться именно таким способом. Причем немаловажная роль в таких исследованиях отводится специалистам-биологам.

Цель учебной дисциплины – сформировать у студентов целостную систему знаний о молекулярно-генетической природе наследственных заболеваний человека, а также подходах, используемых для идентификации патологических генов и устранения их дефекта. Для достижения поставленной цели в программу курса включены четыре взаимосвязанные части. Кроме того, программа составлена с учетом межпредметных связей и программ по смежным дисциплинам биологического профиля («Генетика», «Генетика онтогенеза», «Молекулярная генетика» и «Функциональная геномика»).

В первой части учебной дисциплины «Введение в генотерапию» освещаются общие вопросы наследственной патологии человека, при этом особое внимание уделено моногенным и мультифакториальным заболеваниям человека как наиболее перспективным в плане разработки и применения геннотерапевтических подходов. Во второй части рассматриваются практические подходы выделения и идентификации генов, контролирующих развитие наследственных заболеваний человека, а также установления первичных молекулярных дефектов в этих генах. Третья часть учебной дисциплины всецело посвящена анализу стратегий генной терапии наследственных заболеваний человека. Наконец, четвертая часть включает рассмотрение подходов и реальных успехов генной терапии конкретных групп наследственных заболеваний человека – моногенных и мультифакториальных заболеваний, а также онкологических и инфекционных патологий.

В результате изучения учебной дисциплины обучаемый должен:

**знать:**

- молекулярно-генетическую природу основных наследственных заболеваний человека;
- теоретические основы методов, используемых для картирования генов наследственных заболеваний, установления первичного молекулярного дефекта в этих генах, создания искусственных генов человека;
- теоретические основы методов и подходов направленной генетической модификации клеток человека *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*;
- иметь системное представление о подходах и реальных успехах в генной терапии наследственных заболеваний человека

**уметь:**

- использовать на практике теоретические знания по установлению первичного молекулярного дефекта в генах наследственных заболеваний и созданию искусственных генов человека;
- использовать теоретические знания, полученные в рамках курса, в исследовательских целях.

**владеть:**

- навыками проектирования генетических конструкций для направленной генетической модификации клеток человека;
- методами создания генетических конструкций, кодирующих короткие шпилечные РНК для искусственной РНК-интерференции.

Изучение учебной дисциплины «Введение в генотерапию» должно обеспечить формирование у студента 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. Обладать навыками устной и письменной коммуникации.

При чтении лекционного курса необходимо применять 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 положения лекционного курса развиваются и закрепляются на лабораторных занятиях, при выполнении которых студенты приобретают навыки создания и использования на практике (*in vitro* на культурах клеток)

средств контроля экспрессии патологических генов человека. Эффективность самостоятельной работы студентов целесообразно проверять в ходе текущего письменного опроса по ключевым разделам курса, а также итогового зачета по лабораторным занятиям и итогового опроса по всему курсу.

В соответствии с учебными планами дневной формы получения образования изучение учебной дисциплины осуществляется в 7 семестре. Программа рассчитана на 86 часов, в том числе 42 аудиторных часа, из них 26 – лекционных, 12 – лабораторных занятий, 4 часа – аудиторного контроля управляемой самостоятельной работы студентов. Форма текущей аттестации по учебной дисциплине – зачет.

## **СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА**

### **1. ВВЕДЕНИЕ**

Предмет дисциплины, решаемые задачи. Развитие представлений о природе наследственных заболеваний человека. Современные концепции здоровья и болезни, факторы, их определяющие. Основные принципы и методы генной терапии наследственных заболеваний человека. Успехи генной терапии наследственных заболеваний человека и перспективы ее развития.

### **2. НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА**

Моногенные заболевания человека. Общая характеристика моногенных заболеваний человека. Классификация моногенных заболеваний человека. Молекулярно-генетическая природа наиболее распространенных моногенных заболеваний человека. Концепция генетического груза.

Хромосомные заболевания (синдромы) человека. Общая характеристика хромосомных заболеваний человека. Классификация хромосомных заболеваний человека. Генетическая природа наиболее распространенных хромосомных заболеваний человека.

Большие и малые врожденные пороки развития человека. Общая характеристика больших и малых врожденных пороков развития человека. Классификация больших и малых врожденных пороков развития человека.

Мультифакториальные заболевания человека. Общая характеристика мультифакториальных заболеваний человека. Классификация мультифакториальных заболеваний человека. Концепция наследственной предрасположенности.

### **3. ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ РАЗВИТИЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА**

Основные методы выделения ДНК и РНК из клеток человека. Клонирование генов, создание геномных и кДНК-библиотек, искусственный синтез генов.

Методы идентификации генов, контролирующих развитие наследственных заболеваний человека. Методы идентификации мутаций в генах наследственных заболеваний человека.

#### **4. СТРАТЕГИИ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА**

Генная терапия *in vivo* и *ex vivo*. Сравнительная характеристика двух стратегий генной терапии. Преимущества и недостатки генной терапии *in vivo*. Преимущества и недостатки генной терапии *ex vivo*.

Безвекторный перенос генов в клетки человека. Физические методы переноса генов в клетки человека: микроинъекция, электропорация, “генные пистолеты”. Химические методы переноса генов в клетки человека: гипертонический солевой метод, метод  $\text{Ca}^{2+}$ -преципитации, декстрановый метод. Биологические методы переноса генов в клетки человека: липофекция, рецептор-опосредованный перенос. Особенности использования безвекторного переноса генов человека *in vivo* и *ex vivo*.

Векторный перенос генов. Перенос генов в клетки человека с помощью плазмид. Требования, предъявляемые к плазмидным векторам, предназначенным для переноса генов в клетки человека.

Перенос генов в клетки человека с помощью вирусных векторов. Векторы на основе ретровирусов: строение, специфичность доставки, пакующая способность, преимущества и недостатки. Векторы на основе аденовирусов: строение, специфичность доставки, пакующая способность, преимущества и недостатки. Векторы на основе аденоассоциированных вирусов: строение, специфичность доставки, пакующая способность, преимущества и недостатки. Векторы на основе других вирусов: вируса простого герпеса, вируса осповакцины, вируса иммунодефицита человека и др. Преимущества и недостатки таких векторов. Проблема стабильности гибридных ДНК в клетках человека.

#### **5. ПОДХОДЫ И УСПЕХИ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА**

Подходы и успехи генной терапии моногенных заболеваний человека. Общая характеристика стратегий генной терапии моногенных заболеваний человека. Подходы и успехи генной терапии тяжелого комбинированного иммунодефицита, обусловленного дефектом гена аденозиндезаминазы. Подходы и успехи генной терапии муковисцидоза, гиперхолестеринемии, фенилкетонурии и др. моногенных заболеваний человека.

Подходы и успехи генной терапии мультифакториальных заболеваний человека. Общая характеристика стратегий генной терапии мультифакториальных заболеваний человека. Подходы и успехи генной терапии шизофрении, болезни Паркинсона, ишемической болезни сердца и др. мультифакториальных заболеваний человека.

Подходы и успехи генной терапии онкологических заболеваний человека.

Общая характеристика стратегий генной терапии онкологических заболеваний человека. Методы генетической модификации раковых клеток: перенос генов “чувствительности”, перенос генов “самоубийц”, перенос генов-супрессоров опухолевого роста, замена мутантных аллелей на нормальные. Методы подавления экспрессии онкогенов: подавление экспрессии на уровне транскрипции, процессинга РНК, трансляции, на уровне белкового продукта. Методы генетической модификации раковых клеток с целью повышения их иммуногенности.

Генетическая модификация нормальных клеток для защиты их от действия цитостатиков и излучения при проведении химио- и радиотерапии онкологических заболеваний. Создание противоопухолевых генно-инженерных вакцин.

Подходы и успехи генной терапии инфекционных заболеваний человека. Общая характеристика стратегий генной терапии инфекционных заболеваний человека. Подходы и успехи генной терапии СПИДа: перенос в инфицированные клетки генов “чувствительности”, генов “самоубийц”, генов иммуностимуляторных цитокинов, высокоиммуногенных антигенов и молекул костимуляции, подавление жизненного цикла вируса иммунодефицита человека. Подходы и успехи генной терапии других инфекционных заболеваний человека (герпесвирусных инфекций, цитомегаловирусных инфекций, вирусного гепатита и т. д.).

## УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСП	Формы контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное		
1	Введение	2						
2	Наследственные заболевания человека	4			2			
3	Выделение и идентификация генов, контролирующих развитие наследственных заболеваний человека	6			4	2	Письменная работа	
4	Стратегии генной терапии наследственных заболеваний человека	6			4	2	Письменная работа	
5	Подходы и успехи генной терапии наследственных заболеваний человека	8			2			



# ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

## ЛИТЕРАТУРА

### Основная:

1. Горбунов В. Н. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний / В. Н. Горбунов, В. С. Баранов. СПб.: Специальная литература. 1997.
2. Медицинская генетика: Учебник / под ред. Н. П. Бочкова. М.: Мастерство; Высшая школа. 2001.

### Дополнительная:

1. Аульченко Ю. С. Методологические подходы и стратегии картирования генов, контролирующих комплексные признаки человека / Ю. С. Аульченко, Т. И. Аксенович. Вестник ВОГиС, 2006. Том 10, № 1.
2. База данных GenBank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>
3. База данных OMIM: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>
4. База данных RefSeq: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/RefSeq>
5. Балахонов А. В. Ошибки развития. Изд. 2-е, перераб. и дополн. / А. В. Балахонов. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2001.
6. Бородина Т. Методы детекции SNP / Т. Бородина. [http://www.molbiol.edu.ru/review/04\\_03.html](http://www.molbiol.edu.ru/review/04_03.html)
7. Козлова С. И. Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование. Атлас-справочник. Изд. 2-е дополн. / С. И. Козлова, Н. С. Демикова, Е. Н. Семанова, О. Е. Блинникова. М.: Практика, 1996.
8. Chen Q. Gene therapy for Parkinson's disease: progress and challenges / Q. Chen, Y. He, K. Yang. Current Gene Therapy, 2005. Vol. 5.
9. Cui Z. DNA Vaccine / Z. Cui. Advances in Genetics, 2005. Vol. 54.
10. Khan A. U. Ribozyme: A clinical tool / A. U. Khan. Clinica Chimica Acta, 2006.
11. Lawler S. E. Genetic strategies for brain tumor therapy / S. E. Lawler, P. P. Peruzzi, E. A. Chiocca. Cancer Gene Therapy, 2006. Vol. 13.
12. Strayer D. S. Current status of gene therapy strategies to treat HIV/AIDS / D. S. Strayer, R. Akkina, B. A. Bunnell, B. Dropulic, V. Planelles, R. J. Pomerantz, J. J. Rossi, J. A. Zaia. Molecular therapy, 2005. Vol. 11, № 6.
13. Web-сервис DINAMelt: <http://www.bioinfo.rpi.edu/applications/hybrid>

## ПЕРЕЧЕНЬ КОНТРОЛЬНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ УПРАВЛЯЕМОЙ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

1. Методы идентификации структурных вариаций в генах наследственных заболеваний человека.
2. Векторы на основе вирусных геномов: организация, преимущества и недостатки, использование в генной терапии.

# МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОРГАНИЗАЦИИ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

Для организации самостоятельной работы студентов по учебной дисциплине курсу следует использовать современные информационные технологии: разместить в сетевом доступе комплекс учебных и учебно-методических материалов (программа, курс лекций, мультимедийные презентации, методические указания к лабораторным занятиям, 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.

## ПЕРЕЧЕНЬ РЕКОМЕНДУЕМЫХ СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ

Учебными планами в качестве формы итогового контроля по учебной дисциплине рекомендован зачет. Для текущего контроля качества усвоения знаний студентами можно использовать следующий диагностический инструментарий:

- защита индивидуальных заданий при выполнении лабораторных работ;
- компьютерное тестирование;
- письменные контрольные работы по отдельным темам курса.

## ПЕРЕЧЕНЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ

(2 ч. каждое)

1. РНК-интерференция: базовая схема, использование в функциональной геномике и экспериментальной генной терапии.
2. Компьютерный дизайн экспрессионной кассеты, предназначенной для внутриклеточного синтеза коротких шпилечных РНК.
3. Компьютерный дизайн праймеров, предназначенных для синтеза экспрессионной кассеты U6/shEGFP, кодирующей анти-egfp короткие шпилечные РНК.
4. Выделение плазмиды pGEM-Zeo-U6 из бактериальных клеток-трансформантов *E. coli* DH5 $\alpha$ .
5. Синтез экспрессионной кассеты U6/shEGFP по технологии PCR-SHGing.
6. Анализ продуктов синтеза экспрессионной кассеты U6/shEGFP с помощью ДНК гель-электрофореза.

## ИТОГОВАЯ АТТЕСТАЦИЯ

К сдаче зачета допускаются студенты, отработавшие все лабораторные занятия, успешно защитившие индивидуальные задания при выполнении лабораторных работ и успешно прошедшие контроль управляемой самостоятельной работы. Лабораторные занятия, пропущенные студентом по

уважительной причине (с документальным подтверждением), отрабатываются в индивидуальном порядке и в полном объеме, после чего студент допускается к сдаче зачета. В тех же случаях, когда студент пропустил более двух лабораторных занятий без уважительной причины, пропущенные занятия индивидуально со студентом не отрабатываются и студент не допускается к итоговой аттестации.

## 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)
1. Генетика	Генетики	Отсутствуют Зав. кафедрой  Н. П. Максимова	Утвердить согласование протокол № 19 от 4 мая 2016 г.
2. Генетика онтогенеза	Генетики	Отсутствуют Зав. кафедрой  Н. П. Максимова	Утвердить согласование протокол № 19 от 4 мая 2016 г.
3. Молекулярная генетика	Генетики	Отсутствуют Зав. кафедрой  Н. П. Максимова	Утвердить согласование протокол № 19 от 4 мая 2016 г.
4. Функциональная геномика	Генетики	Отсутствуют Зав. кафедрой  Н. П. Максимова	Утвердить согласование протокол № 19 от 4 мая 2016 г.

# ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ ПО ИЗУЧАЕМОЙ УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ

на \_\_\_\_ / \_\_\_\_ учебный год

№№ пп	Дополнения и изменения	Основание

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры  
(протокол № \_\_\_\_ от \_\_\_\_\_ 201\_ г.)

Заведующий кафедрой

\_\_\_\_\_ (степень, звание)

\_\_\_\_\_ (подпись)

\_\_\_\_\_ (И. О. Фамилия)

УТВЕРЖДАЮ  
Декан факультета

\_\_\_\_\_ (степень, звание)

\_\_\_\_\_ (подпись)

\_\_\_\_\_ (И. О. Фамилия)