

**АВТОНОМНАЯ НЕКОММЕРЧЕСКАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ
ОРГАНИЗАЦИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ «СИРИУС»
(АНОО ВО «УНИВЕРСИТЕТ «СИРИУС»)**

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ (МОДУЛЯ)

«Генная терапия»

Уровень образования:	высшее образование – программа специалитета
Специальность:	06.05.01 Биоинженерия и биоинформатика
Направленность (профиль):	Биоинженерия

1. Трудоемкость дисциплины (модуля): 3 з.е.

2. Место дисциплины в учебном плане: дисциплина «Генная терапия» входит в Блок 1. «Дисциплины (модули)», часть, формируемую участниками образовательных отношений «Профессиональная подготовка», трек «Медицинская биоинженерия» и изучается в 15-16 модулях (8 семестр).

3. Цель дисциплины (модуля): совершенствование и приобретение современных знаний, теоретических и практических навыков в области генной инженерии.

4. Задачи дисциплины (модуля):

- Приобретение знаний о методологических приемах, используемыми в получении клеток, обладающих высокой генеративной и биосинтетической способностями, а также с основными способами переноса и экспрессии генов в клетках, тканях и органах.
- Формирование навыков в применении основных методов и подходов, используемых при создании искусственных генетических конструкций и для различных целей (научных и производственных).

5. Перечень разделов (тем) дисциплины и их краткое содержание:

Наименование раздела (темы) дисциплины (модуля)	Краткое содержание
История нового направления молекулярной генетики. Определение понятия генетической инженерии.	Основные моменты становления генетической инженерии как нового направления целевого изменения генетического статуса организмов. Достижения генетической инженерии. Геномодифицированные живые объекты. Возможности генно-инженерного подхода.
Основные объекты, используемые в генетической инженерии	Методы, используемые для создания генетических конструкций, ферменты (рестриктазы, Т4ДНК-полимераза, фрагмент Кленова, полинуклеотидкиназа, нуклеаза S1, фосфатаза, ДНК-лигаза). Плазмиды. Ориджины репликации. Совместимость плазмид. Селективные маркеры. Полилинкер. Бело-голубая селекция. Саузерн. нозерн и вестерн блоты. Гибридизация колоний. Клонирование генетических конструкций в бактериальных клетках. ПЦР. Конструирование праймеров. Ферменты (Taq- полимераза, Pfu-полимераза, Pfu-Turbo, обратная транскриптаза). Условия денатурации, отжига и элонгации. Случайный и сайт направленный мутагенез (точечный, делеционный, инсерционный). Амплификация участка ДНК, окружающего известный ген. RT-PCR. Real-time PCR. Иммуно-ПЦР.
Работа с библиотеками генов, экспрессия целевых генов	Библиотеки генов. Размер библиотеки. Расщепление генов, геномов на фрагменты для конструирования библиотек. Векторы (на основе фагалямбда, космиды, YAC"и, BAC"и) их емкость, особенности работы с ними. Физическая карта геномачеловека. STS. Прогулка по хромосоме. Библиотеки к ДНК (конструирование, нормализация, размер). Методы скрининга библиотек. Дифференциальный скрининг, вычитательная гибридизация. Амплификация библиотек. Экспрессия генов в клетках дрожжей. Виды дрожжевых

	<p>векторов. Ориджины репликации. Селективные маркеры. Дрожжевые промоторы. Индуцибельные системы. Дрожжевая двугибридная система. Одногибридная, тригибридная, обратная двугибридная система. Необходимые контроли. Получение рекомбинантных белков в бактериальных клетках. Используемые промоторы (lac, lac, trc, T5, T7). Превращение конститутивных промоторов в индуцибельные. Особенности системы с T7 промотором. Способы борьбы с подтеканием промотора. Оптимизация экспрессии. Тэги (6xHis, GST, ZZ). Выделение и очистка рекомбинантных белков. Тельца включения. Белковый сплайсинг (механизм, использование для получения рекомбинантных белков). Трансдуцирующие пептиды.</p>
Секвенирование	<p>Секвенирование. Принципы секвенирования. Метод Максама-Гилберта. Метод Сэнджера. Способы разделения и детекции фрагментов ДНК. Современные методы секвенирования.</p>
Генетическая модификация эукариотических клеток	<p>Системы введения трансгенов в клетки млекопитающих, основанные на гомологичной рекомбинации. Негативная и позитивная селекция. Нокаутирование генов. Получение трансгенных животных. Cre-lox и Pr- firt рекомбинация. Условный нокаут. Факторы, влияющие на эффективность трансляции в клетках прокариотизукариот. Метод бицистронных конструкций для идентификации IRES-элементов. Источники артефактов. Получением РНК in vitro. Метод Toe-print. SELEX. Создание рандомизированных библиотек. Получение РНК и ДНК аптамеров. Методы селекции, количество циклов, тестирование, применение. Редактирование генов.</p>
Генетический нокдаун	<p>Интерференция РНК. Механизм. Преимущества и недостатки генетического нокдауна по сравнению с нокаутом. Особенности применения метода в клетках млекопитающих. Способы получения siRNA. Критерии выбора последовательности-мишени. Промоторы для экспрессии shRNA. Методы тестирования степени подавления экспрессии гена-мишени. Источники артефактов. Необходимые контроли.</p>
Микрочипы	<p>Микрочиповые технологии. Методы изготовления микрочипов (включая сочетание ступенчатого олигонуклеотидного синтеза и фотолитографии). Определение профилей экспрессии генов (кДНКчипы и чипы Affimetrix). Генотипирование. Детекция амплификации генов и делеций фрагментов хромосом. Виды и способы получения белковых микрочипов. Поиск ДНК-связывающих белков. Методы ChIP-on-chip, ДНК-программируемый белковый чип.</p>

6. Образовательные результаты освоения дисциплины (модуля):

Код и наименование компетенции	Код и наименование индикатора достижения компетенции
ОПК-3 Способен проводить экспериментальную работу с организмами и клетками, использовать физико-химические методы исследования макромолекул, математические методы обработки результатов биологических исследований	ИОПК-3.1 Применяет полученные знания об экспериментальной работе в области биотехнологии и адекватно выбирает алгоритмы для решения задач в области биоинженерии
	ИОПК-3.2 Выбирает оптимальные пути решения биотехнологических задач на основе современной методологии с использованием современного оборудования и экспериментальных методов
	ИОПК-3.3 Работает с современным лабораторным оборудованием общего назначения, а также специализированными приборами для молекулярно-генетических исследований (амплификаторы, приборы для электрофоретического разделения биомолекул и т.п.)
	ИОПК-3.4 Использует базовые знания фундаментальных разделов математики и биоинформатики в объеме, необходимом для обработки информации и анализа биологических данных, в том числе в соответствии с задачами генетики, геномики и генетических технологий
ПК-1 Способность выявлять актуальные проблемы в области профессиональной специализации, понимать структурно-функциональные особенности объекта исследования, формулировать цель и задачи изучения, осуществлять поиск необходимой информации для планирования работ и анализа ее результатов	ИПК-1.1 Знает подходы к поиску источников информации об объекте изучения, ее извлечению и обработке
	ИПК-1.2 Знает структурно-функциональные особенности биологического объекта исследования
	ИПК-1.3 Умеет находить и анализировать информацию о биологических молекулах, клетках, тканях, организмах и их взаимодействиях в живых система
ПК-2 Способность понимать принципы работы с интеллектуальной собственностью	ИПК-2.1 Способен формулировать научные и прикладные задачи управления интеллектуальной собственностью в технических системах и обосновывать методы их решения
	ИПК-2.2 Способен с привлечением профильных специалистов решать задачи управления интеллектуальной собственностью на базе последних достижений науки и техники

	ИПК-2.3 Способен с привлечением профильного специалиста проводить патентные исследования, определять формы и методы правовой охраны и защиты прав на результат интеллектуальной деятельности, распоряжаться правами на них для решения задач в области развития науки, техники и технологии
	ИПК-2.4 Способен выбирать методы и разрабатывать алгоритмы управления интеллектуальной собственностью
	ИПК-2.5 Способен осуществлять сбор и проводить анализ научно-технической информации, интерпретировать и представлять результаты, полученные в ходе решения задач управления интеллектуальной собственностью
ПК-3 Способность выполнять работы по осуществлению процессов получения биотехнологической и биомедицинской продукции	ИПК-3.1 Способен проводить испытания образцов целевых продуктов биотехнологического и биомедицинского производства, исходного сырья и упаковочных материалов, промежуточной продукции и объектов производственной среды
	ИПК-3.2 Планирует и осуществляет биотехнологические процессы с использованием культур микроорганизмов, культур клеток, тканей растений и животных
	ИПК-3.3 Анализирует и выбирает методы контроля качества биотехнологического и биомедицинского производства

7. Оценочные и методические материалы

7.1. Оценочные материалы для организации текущего контроля

Контрольные работы (КР1-3)

- Форма: письменная, синхронная
- Место и время проведения: во время контактной работы в аудитории, согласно расписанию
- Примеры контрольных работ:

Контрольная работа 1.

Вопросы: 1. Определение понятия генетической инженерии. 2. Геномодифицированные живые объекты. 3. ГМО-технологии. Генетическая инженерия. Молекулярное клонирование. 4. Векторы генетической инженерии: плазмиды, фаги, космиды. 5. Плазмиды. Совместимость плазмид. 6. Ферменты генетической инженерии. Рестриктазы. 7. Библиотеки генов. Геномные и кДНК библиотеки. 8. Методы скрининга библиотек генов. 9. Получение рекомбинантных ДНК. 10. Трансдуцирующие пептиды.

Контрольная работа 2.

Вопросы: 1. Клонирование *in vitro*. 2. Полимеразная цепная реакция. 3. Количественная ПЦР, ПЦР в режиме реального времени и цифровая ПЦР. 4. Гетерологичная экспрессия генов в клетках прокариот и дрожжей. 5. Экспрессия генов с помощью бакуловирусов. 6. Секвенирование ДНК нового поколения. 7. Использование антисмысловых интерференции в изучении работы генов. 8. Генный нокаут. Тканеспецифичный нокаут генов. Условный нокаут. 9. Промоторы для экспрессии shRNA. 10. Методы изготовления микрочипов.

Контрольная работа 3.

Вопросы: 1. Полногеномный анализ ассоциаций. 2. Чиповые методы. 3. Виды и способы получения белковых микрочипов. 4. Генная инженерия растений. 5. Редактирование генов. 6. Способы получения трансгенных растений. 7. Агробактериальное заражение и трансформация растений. 8. Физические методы введения рекомбинантных ДНК в клетку. 9. Бактериальная трансформация. Ферменты синтеза рекомбинантных ДНК. 10. Способы получения трансгенных животных.

Критерии оценки:

1. Корректность выполнения заданий — 0,5 балла.
2. Полнота и логика ответа — 0,5 балла.

7.2. Оценочные материалы для организации промежуточной аттестации

- Форма проведения: устная (синхронная), в очном формате в зависимости от расписания. Промежуточная аттестация включает в себя: консультацию (К1), которая проводится после изучения 1-го модуля; экзамен (Э1), который проводится после изучения 2-го модуля; консультацию (К2), которая проводится после изучения 3-го модуля; экзамен (Э2), который проводится после изучения 4-го модуля.

- Место проведения: учебная аудитория.

Пример экзаменационного задания:

1. Векторы для переноса генов. Характеристика основных групп.
2. Виды и способы получения белковых микрочипов.

В каждом экзаменационном билете будет указано два вопроса из предложенного перечня вопросов для подготовки к экзаменам. Дополнительные вопросы будут также выбраны из предложенного перечня вопросов для подготовки к экзаменам. Максимальный балл на экзамене – 10 баллов с учётом дополнительных вопросов.

Критерии оценки:

1. Получен правильный ответ на первый вопрос (2).
2. Полнота правильного ответа (0-2).
3. Получен неправильный ответ на первый вопрос (0).
4. Получен правильный ответ на второй вопрос (2).
5. Полнота правильного ответа (0-2).
6. Получен неправильный ответ на второй вопрос (0).
7. Получены ответы на дополнительные вопросы (0-2).

7.3. Методические рекомендации

Обучение по дисциплине предполагает изучение курса на аудиторных занятиях (практические занятия) и в ходе самостоятельной работы студентов. Студентам необходимо ознакомиться с содержанием рабочей программы дисциплины, с целями и задачами дисциплины, ее связями с другими дисциплинами образовательной программы, методическими разработками по данной дисциплине.

Обучение по дисциплине проводится последовательно путем проведения практических занятий с углублением и закреплением полученных знаний в ходе самостоятельной работы с последующим переводом знаний в умения в ходе практических занятий. Получение углубленных знаний по изучаемой дисциплине достигается за счет дополнительных часов к аудиторной работе самостоятельной работы студентов. Выделяемые часы целесообразно использовать для знакомства с дополнительной научной литературой по проблематике дисциплины, анализа научных концепций и современных подходов к осмыслению рассматриваемых проблем. К самостоятельному виду работы студентов относится работа в библиотеках, в электронных поисковых системах и т.п. по сбору материалов, необходимых для проведения практических занятий или выполнения конкретных заданий преподавателя по изучаемым темам. Обучающиеся могут установить электронный диалог с преподавателем, выполнять посредством него контрольные задания.