

**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, используемых 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:**

<b>Наименование раздела (темы) дисциплины (модуля)</b>	<b>Краткое содержание</b>
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, T4ДНК-полимераза, фрагмент Кленова, полинуклеотидкиназа, нуклеаза S1, фосфатаза, ДНК-лигаза). Плазмиды. Ориджины репликации. Совместимость плазмид. Селективные маркеры. Полилинкер. Бело-голубая селекция. Саузерн. нозерн и вестерн blotы. 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 фага лямбда, космиды, YAC"и, BAC"и) их емкость, особенности работы с ними. Физическая карта генома человека. 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

	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 ( <i>lac</i> , <i>lac</i> , <i>trc</i> , T5, T7). Превращение конститтивных 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.
Секвенирование	Секвенирование. Принципы секвенирования. Метод Максама-Гилберта. Метод Сэнджера. Способы разделения и детекции фрагментов ДНК. Современные методы секвенирования.
Генетическая модификация эукариотических клеток	Системы введения трансгенов в клетки млекопитающих, основанные на гомологичной рекомбинации. Негативная и позитивная селекция. Нокаутирование генов. Получение трансгенных животных. Cre-lox и Pr- frt рекомбинация. Условный нокаут. Факторы, влияющие на эффективность трансляции в клетках прокариотоэукариот. Метод бицистронных конструкций для идентификации IRES-элементов. Источники артефактов. Получением РНК <i>in vitro</i> . Метод Toe-print. SELEX. Создание рандомизированных библиотек. Получение РНК и ДНК аптамеров. Методы селекции, количество циклов, тестирование, применение. Редактирование генов.
Генетический нокдаун	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.
Микрочипы	Микрочиповые технологии. Методы изготовления микрочипов (включая сочетание ступенчатого олигонуклеотидного синтеза и фотолитографии). Определение профилей экспрессии генов (кДНКчибы 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.

## 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 системах
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	<p>ИПК-3.1 Способен проводить испытания образцов целевых продуктов биотехнологического и биомедицинского производства, исходного сырья и упаковочных материалов, промежуточной продукции и объектов производственной среды</p> <p>ИПК-3.2 Планирует и осуществляет биотехнологические процессы с использованием культур микроорганизмов, культур клеток, тканей растений и животных</p> <p>ИПК-3.3 Анализирует и выбирает методы контроля качества биотехнологического и биомедицинского производства</p>

## 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. Гетерологическая экспрессия генов в клетках прокариот и дрожжей. 5. Экспрессия генов с помощью бакуловирусов. 6. Секвенирование ДНК нового поколения. 7. Использование антисмысовых 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 осмыслиению 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.