

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Федеральное государственное автономное учреждение  
высшего профессионального образования  
"Казанский (Приволжский) федеральный университет"  
Институт фундаментальной медицины и биологии



**УТВЕРЖДАЮ**

Проректор  
по образовательной деятельности КФУ  
Проф. Минзарипов Р.Г.

\_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

**Программа дисциплины**  
Основы геномной инженерии БЗ.В.4

Направление подготовки: 020400.62 - Биология

Профиль подготовки: Физиология человека и животных, биохимия, генетика, микробиология

Квалификация выпускника: бакалавр

Форма обучения: очное

Язык обучения: русский

**Автор(ы):**

Абрамова З.И.

**Рецензент(ы):**

Невзорова Т.А.

**СОГЛАСОВАНО:**

Заведующий(ая) кафедрой: Алимова Ф. К.

Протокол заседания кафедры No \_\_\_\_ от " \_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 201\_\_ г

Учебно-методическая комиссия Института фундаментальной медицины и биологии:

Протокол заседания УМК No \_\_\_\_ от " \_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 201\_\_ г

Регистрационный No

Казань  
2014

## Содержание

1. Цели освоения дисциплины
2. Место дисциплины в структуре основной образовательной программы
3. Компетенции обучающегося, формируемые в результате освоения дисциплины /модуля
4. Структура и содержание дисциплины/ модуля
5. Образовательные технологии, включая интерактивные формы обучения
6. Оценочные средства для текущего контроля успеваемости, промежуточной аттестации по итогам освоения дисциплины и учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы студентов
7. Литература
8. Интернет-ресурсы
9. Материально-техническое обеспечение дисциплины/модуля согласно утвержденному учебному плану

Программу дисциплины разработал(а)(и) профессор, д.н. (профессор) Абрамова З.И. кафедра биохимии ИФМиБ отделение фундаментальной медицины, Zinaida.Abramova@kpfu.ru

## 1. Цели освоения дисциплины

Главной целью дисциплины "Основы генной инженерии" является формирование у студентов комплексного представления о молекулярных механизмах хранения, реализации и использования генетической информации в про- и эукариотических клетках и получения информации обо всех потенциальных свойствах клетки, которые не реализуются на данный момент для усвоения в будущем фундаментальных и прикладных направлений в биологии.

Дать четкое понятие отличий генетики, геномики и генной инженерии. Генетика изучает механизмы изменчивости и наследственности, а геномика - направление современной молекулярной биологии, которая применяет на практике полученные знания; цель генной инженерии - получение клеток, с новыми признаками без существенного изменения вида, способных в промышленных масштабах нарабатывать вещества, полезные для человека. Сформировать представление о месте геномики и генной инженерии среди других наук, о значении и областях применения.

## 2. Место дисциплины в структуре основной образовательной программы высшего профессионального образования

Данная учебная дисциплина включена в раздел " Б3.В.4 Профессиональный" основной образовательной программы 020400.62 Биология и относится к вариативной части. Осваивается на 4 курсе, 7 семестр.

Дисциплина "Основы генной инженерии" разработана на достижениях наук - генетика, молекулярная биология и геномики, которые в 21 веке будут определять уровень развития каждой страны. Генная инженерия - направление исследований в молекулярной биологии и генетике, конечной целью которых является получение с помощью лабораторных приемов организмов с новыми, в том числе и не встречающимися в природе, комбинациями наследственных свойств.

Бурному прогрессу этих наук способствовало то, что уже в начале 70-х годов, сразу после первых, еще робких экспериментов по рекомбинации *in vitro* негомологичных молекул ДНК, научной общественностью была осознана важность и перспективность данной методологии. Это привлекло к ней широкие круги биохимиков, биологов, химиков и исследователей ряда других специальностей. Методология постоянно совершенствуется, и все большее число исследователей используют ее при решении самых разных задач биологии: геномика и генетическая инженерия проникла почти во все области экспериментальной биологии, методы данной науки со все большей широтой применяются в медицине и сельском хозяйстве.

Для изучения указанной дисциплины бакалавры должны владеть основными знаниями генетики, молекулярной биологии, микробиологии и цитологии. Особенно такие разделы как строение клеток прокариот и эукариот, роль органоидов в передаче наследственной информации, трансформацию и трансдукцию. Особенности строения генома и реализации наследственной информации и экспрессии генов прокариот и эукариот. Изучение данного курса базируется на таких разделах цитогенетики, как строение хромосом; физики - основные законы термодинамики, седиментации биомолекул, электрического поля и др.

Курс "Основы генной инженерии" - дисциплина, занимающая промежуточное положение между биологическим и медицинскими дисциплинами, изучающая на молекулярном уровне процессы, лежащие в основе получения нового качества жизни. Раскрывая молекулярно-генетическую сущность клонирования жизненно важных свойств и желаемых качеств изменяемого организма, курс оказывает огромное влияние на развитие всех отраслей естественнонаучного знания.

Курс "Основы генной инженерии" позволит существенно повысить качество подготовки студентов в области физико-химической биологии за счет формирования у слушателей логической связи со смежными учебными дисциплинами: "Биохимия", "Энзимология" "Физиология растений", "Микробиологи" "Биотехнология", что предусматривает преемственность между различными разделами биологии.

Предшествующими курсами, на которых непосредственно базируется данная дисциплина, являются биохимия (Б.7), генетика (Б9), микробиология, цитология, особенно такие разделы как строение клеток прокариот и эукариот, роль органоидов в передаче наследственной информации, трансформацию и трансдукцию.

### 3. Компетенции обучающегося, формируемые в результате освоения дисциплины /модуля

В результате освоения дисциплины формируются следующие компетенции:

Шифр компетенции	Расшифровка приобретаемой компетенции
ОК-1 (общекультурные компетенции)	следует этическим и правовым нормам в отношении людей и в отношении природы(принципы биоэтики), имеет четкую ценностную ориентацию на сохранение природы и охрану прав и здоровья человека.
ОК-12 (общекультурные компетенции)	использует основные технические средства в профессиональной деятельности: работает на компьютере и в компьютерных сетях, использует базы данных на основе ресурсов Интернет, способен работать с информацией в глобальных компьютерных сетях.
ОК-16 (общекультурные компетенции)	заботится о качестве выполняемой работы
ОК-3 (общекультурные компетенции)	приобретает новые знания и формирует суждения по научным, социальным и др. проблемам, используя современные образовательные и информационные технологии.
ПК-11 (профессиональные компетенции)	демонстрирует современные представления об основах биотехнологии и генной инженерии, нанобиотехнологии, молекулярного моделирования
ПК-6 (профессиональные компетенции)	демонстрирует базовые представления об основных закономерностях и современных достижениях генетики, о геномике, протеомике

В результате освоения дисциплины студент:

1. должен знать:

2. должен уметь:

3. должен владеть:

знаний:

- основные методы создания банков генов и их использование для клонирования отдельных генов и анализа геномных последовательностей;
- основные этапы выделения, трансформации и клонирования отдельных генов.
- методы анализа, идентификации генов и их продуктов;
- методы создания эффективных конструкций для экспрессии генов;

уметь:

- выделять плазмидную и геномную ДНК;
- ставить реакции рестрикции и лигирования;
- проводить электрофоретический анализ ДНК;
- трансформировать клетки бактерий;
- отбирать рекомбинантные клоны;
- определять экспрессию генов.

применить

- практические навыки лабораторной работы с различными объектами, анализом и статистической обработкой полученных данных, умением делать выводы и обобщения; и самостоятельно проводить поиск и анализ информации в области геномной инженерии и биотехнологии, для использования ее в процессе научно-практической деятельности.

#### 4. Структура и содержание дисциплины/ модуля

Общая трудоемкость дисциплины составляет 2 зачетных(ые) единиц(ы) 72 часа(ов).

Форма промежуточного контроля дисциплины зачет в 7 семестре.

Суммарно по дисциплине можно получить 100 баллов, из них текущая работа оценивается в 50 баллов, итоговая форма контроля - в 50 баллов. Минимальное количество для допуска к зачету 28 баллов.

86 баллов и более - "отлично" (отл.);

71-85 баллов - "хорошо" (хор.);

55-70 баллов - "удовлетворительно" (удов.);

54 балла и менее - "неудовлетворительно" (неуд.).

#### 4.1 Структура и содержание аудиторной работы по дисциплине/ модулю

##### Тематический план дисциплины/модуля

N	Раздел Дисциплины/ Модуля	Семестр	Неделя семестра	Виды и часы аудиторной работы, их трудоемкость (в часах)			Текущие формы контроля
				Лекции	Практические занятия	Лабораторные работы	
1.	Тема 1. Введение История возникновения, развития геномной инженерии и клонирования	7	1	2	0	0	реферат

N	Раздел Дисциплины/ Модуля	Семестр	Неделя семестра	Виды и часы аудиторной работы, их трудоемкость (в часах)			Текущие формы контроля
				Лекции	Практические занятия	Лабораторные работы	
2.	Тема 2. Структура генома человека. Структура хромосом. Строение ДНК. Гены. Виды генов. Альтернативный сплайсинг.	7	2	2	0	0	коллоквиум
3.	Тема 3. Получение генетического материала: химико-ферментативный синтез генов; ферментный синтез сложных генов; выделение природных генов с помощью рестриктаз	7	3	2	2	0	домашнее задание
4.	Тема 4. Включение генов в автономно реплицирующиеся векторные молекулы и создание рекомбинантной ДНК: вектор, плазмиды, фаговые векторы, искусственные конструкции (космиды), фазмиды, челночные векторы	7	4	2	4	0	устный опрос
5.	Тема 5. Введение рекомбинантной ДНК в клетку-реципиент и включение ее в хромосомный аппарат. Методы: конъюгация, трансдукция, трансфекция компетенция и микроинъекция, применение липосом. Селекция клонов	7	5	2	4	0	контрольная работа
6.	Тема 6. Основы клонирования. Клонирование: растений, животных и человека	7	6	2	2	0	реферат

N	Раздел Дисциплины/ Модуля	Семестр	Неделя семестра	Виды и часы аудиторной работы, их трудоемкость (в часах)			Текущие формы контроля
				Лекции	Практические занятия	Лабораторные работы	
7.	Тема 7. Клонирование эмбрионов и стволовые клетки: свойства стволовых клеток, методы получения стволовых клеток. Трансплантация и клонирование.	7	7	2	2	0	коллоквиум
8.	Тема 8. Применение генной инженерии в медицине. Генная дактилоскопия, ее технология; Методы анализа рестрикционных фрагментов (метод секвенирования ДНК по Максаму-Гилбеуту).	7	8	2	2	0	коллоквиум
9.	Тема 9. Генная терапия. Методы генной терапии: использование антисмысловых олигонуклеотидов, применение рибозимов, разработка методов внедрения новых генов в яДНК соматических клеток для лечения опухолевых заболеваний.	7	9	2	2	0	устный опрос
	Тема . Итоговая форма контроля	7		0	0	0	зачет
	Итого			18	18	0	

#### 4.2 Содержание дисциплины

##### **Тема 1. Введение История возникновения, развития генной инженерии и клонировании лекционное занятие (2 часа(ов)):**

Генная инженерия и этика ученых. Парадигмы молекулярной биологии и генной инженерии. Краткая история развития генной инженерии. Определение и задачи: генная инженерия в с/х, генная терапия человека, проект ?Геном человека?. Перспективы контроля над генами. Роль ДНК в наследственности. Основные функции.

##### **Тема 2. Структура генома человека. Структура хромосом. Строение ДНК. Гены. Виды генов. Альтернативный сплайсинг.**

**лекционное занятие (2 часа(ов)):**

Характеристика самовоспроизводящихся систем: Эпоха массовой расшифровки геномов. Основные методы. Биологическая самовоспроизводящаяся система. Понятия и определение. Фундаментальные биологические процессы: репликация, транскрипция, сплайсинг, трансляция. Геном эукариот. Структурно-функциональная роль транспозонов. Мобильные элементы генома прокариот: IS-элементы и Tn-элементы (транспозоны), Элементы и собственно транспозоны в плазидах; Бактериофаг *Mu*. Мобильные элементы генома эукариот: м.г.э. геномов растений М.г.э. дрозофилы, М.г.э. дрожжей, Транспозоны млекопитающих. Функциональное значение м.г.э. Транспозоны и проблема сохранения концов хромосом в ряду поколений. Биологическая роль и использование в молекулярной генетике и геномной инженерии Гены. Основные понятия и определения: маркерные гены (селективные и репортерные, регуляторный (независимые и кластеры генов), структурные гены, прерывающиеся гены. Спейсерная и сателлитная ДНК.

### **Тема 3. Получение генетического материала: химико-ферментативный синтез генов; ферментативный синтез сложных генов; выделение природных генов с помощью рестриктаз**

#### **лекционное занятие (2 часа(ов)):**

Стратегия клонирования генов прокариот и эукариот. Этапы разработки методов. Пути синтеза искусственных генов: химический, ферментативный. Методы: метод получения рекомбинантных плазмид, молекулярное клонирование, сиквенирование. Строение регуляторных районов. Функционирование оперонов. Сложности генных сетей прокариот и эукариот.

#### **практическое занятие (2 часа(ов)):**

Молекулярно-генетические методы изучения наследственности человека- это большая группа методов, позволяющих выявлять варианты структуры исследуемого участка ДНК. В основе методов лежат различные манипуляции с ДНК и РНК. Выделение ДНК Первым этапом любого молекулярно-генетического исследования является выделение нуклеиновых кислот из образца ткани. Для выделения ДНК пригодны любые ядродержащие клетки организма. Чаще всего на практике используется периферическая кровь (лейкоциты). Выделенная из клеток ДНК представляет собой весь геном организма (геномная ДНК). Для выделения ДНК применяется обработка крови солевыми растворами различной концентрации для разрушения плазматической мембраны и ядерной оболочки и очистка препаратов. Выделенная ДНК пригодна для любых молекулярно-генетических исследований и может длительное время сохраняться в замороженном виде. В большинстве случаев для анализа (например, для диагностики болезни) достаточно исследования небольшого фрагмента генома. Для этого исследуемый фрагмент необходимо получить в большом количестве копий (амплификация). Амплифицировать фрагмент ДНК можно при помощи методов молекулярного клонирования и полимеразной цепной реакции (ПЦР).

### **Тема 4. Включение генов в автономно реплицирующиеся векторные молекулы и создание рекомбинантной ДНК: вектор, плазмиды, фаговые векторы, искусственные конструкции (космиды), фазмиды, челночные векторы**

#### **лекционное занятие (2 часа(ов)):**

Вектор. Векторные молекулы содержат: *ori* репликации, автономно реплицируются; стабильно наследуются клеткой-хозяином; содержатся в большом числе копий; обладают достаточной емкостью для клонирования в их состав крупные гены; содержат сайты рестрикции; содержат маркеры, по которым отбор клеток; Плазмиды. Свойства бактериальных плазмид и их использование в геномной инженерии. Выделение ДНК плазмид. Векторы на основе репликонов бактериальных плазмид (векторы *E.coli*, pBR322, pUC19, плаزمида pBluescript II KS(+/-) и др.). Векторы на основе бактериофагов (ДНК M13, фага лямбда, P1, ДНК фага ФХ 174 и др.). Искусственные хромосомы дрожжей. Фазмиды. Фагмиды. Космиды.

#### **практическое занятие (4 часа(ов)):**

Молекулярное клонирование Молекулярное клонирование (геномная инженерия, технология рекомбинантных ДНК)- это совокупность методов, позволяющих осуществлять перенос генетического материала (ДНК) из одного организма в другой. Молекулярное клонирование состоит из следующих этапов: Выделение ДНК из организма донора; Расщепление ДНК ферментами рестриктазами с образованием фрагментов ДНК с липкими концами; Расщепление векторной молекулы (плазмида, фаг, космида и др.) той же рестриктазой, что и исследуемый образец ДНК; Лигирование (сшивание) векторной молекулы и фрагмента исследуемой ДНК с образованием гибридной (рекомбинантной) молекулы; Этапы введения фрагмента чужеродной ДНК в плазмидный вектор рSC 101 с помощью рестриктазы EcoR I : Для клонирования крупных фрагментов ДНК используют фаговые векторы, космиды и фазмиды. Для E. coli векторы сконструированы на основе фага λ и фага M 13. Промежуточный продукт выделяют и используют как вектор для клонирования. Космиды - плазмиды, содержащие cos-участок (липкие концы) ДНК фага λ. Благодаря cos-сайтам они могут быть введены в клетку путем обычной инфекции, в результате чего эффективность получения рекомбинантных клеток возрастает в 100 и более раз. В космидных векторах можно клонировать фрагменты ДНК размером 33 000 - 39 000. п.н., поэтому они предназначены для встраивания крупных генов и создания клонок генов эукариот. Фазмиды - это гибридные векторы, способные развиваться и как фаг, и как плазмида, так как содержат все гены, необходимые для литического цикла, а также гены нужные для репликации плазмиды. Для других видов прокариот сконструированы ?челночные векторы?. Их особенность состоит в способности к репликации в разных клетках-хозяевах. Использование таких векторов удобно для клонирования генов и анализа их продуктов (одни и те же гены получают возможность реплицироваться и экспрессироваться в разных организмах). Основным вектором для клонирования генов животных является геном вируса SV40. Для растительных клеток, которые не содержат собственных плазмид, векторами часто служат геномы вирусов растений и плазмиды рTi.

**Тема 5. Введение рекомбинантной ДНК в клетку-реципиент и включение ее в хромосомный аппарат. Методы: конъюгация, трансдукция, трансфекция компетентия и микроинъекция, применение липосом. Селекция клонов**

**лекционное занятие (2 часа(ов)):**

Введение рекомбинантных ДНК в клетку-реципиент и включение ее в хромосомный аппарат: Конъюгация - у бактерий может происходить передача генетического материала при прямом межклеточном контакте. Генетический материал передается лишь в одном направлении. Способность бактерии быть донором (F+) связана с наличием фактора F, который при конъюгации передается из одной клетки в другую. Фактор F представляет собой плазмиду размером - 60 000 п. н.;? трансдукция - передача ДНК от клетки-донора клетке реципиенту может происходить при участии бактериофагов;? трансформация - передача генов при помощи свободной растворимой ДНК (плазмидами), выделенной из клеток-доноров;? трансфекция - инфекция фагами λ , ψ X174 и T4, соответствующая генетической трансформации;? компетентия - способность клеток поглощать ДНК из окружающей среды; ? микроинъекция молекул ДНК в клетки животных;? применение липосом для введения ДНК в клетки животных. Липосомы - это замкнутые пузырьки воды, окруженные одним или несколькими слоями липидов. Заключенные в липосомы нуклеиновые кислоты защищены от воздействия нуклеаз и легко проникают в клетки животных в результате слияния липосом с клеточной мембраной или поглощения их фагоцитозом. Отбор трансформированных клеток, в геном которых включен переносимый ген, а в дальнейшем - клонирование (размножение клеток с рекомбинантной ДНК) и получают клон клеток с заданными свойствами.

**практическое занятие (4 часа(ов)):**

Введение рекомбинантной молекулы в клетку-хозяина (реципиента). Этот процесс называется трансформацией. Отбор клеток, несущих рекомбинантную ДНК (трансформированные клетки); Получение специфического белкового продукта, синтезируемого клетками-хозяевами. Для молекулярного клонирования необходимо: 1. Ферменты рестриктазы 2. Клонировующий вектор 3. Встраиваемая ДНК (ген, фрагмент гена)

**Тема 6. Основы клонирования. Клонирование: растений, животных и человека**

**лекционное занятие (2 часа(ов)):**

Типы клонирования. Существует три типа клонирования: клонирование гена, репродуктивное клонирование и терапевтическое клонирование. Клонирование гена производит копии генов, самый распространенный и обычный тип клонирования. Процедура состоит из вставки гена из одного организма, в генетический материал, называемого вектор. Клонирование гена известно, как клонирование ДНК. Репродуктивное и терапевтическое клонирования создано для различных целей. Терапевтическое клонирование используется для создания клонированного эмбриона для единственной цели ? создания эмбриональных стволовых клеток с тем же самым ДНК. Репродуктивное клонирование производит копии целых животных.

### **практическое занятие (2 часа(ов)):**

Клонирование: причины и проблемы: Клонирование растений . Клонированием - любой процесс вегетативного размножения у растений. У растений (в отличие от животных) по мере их роста в ходе клеточной специализации - дифференцировки - клетки не теряют так тотипотентных свойств. Трансгенные растений. Направления: Получение сортов с/х культур с более высокой урожайностью. Получение с/х культур, дающих несколько урожаев в год. Создание сортов с/х культур, токсичных для некоторых видов вредителей. Создание сортов с/х культур, устойчивых к неблагоприятным климатическим условиям. Создание сортов растений, способных синтезировать некоторые белки животного . Клонирование животных. Неоплодотворенные яйца некоторых животных могут развиваться в полноценное взрослое животное - процесс называется партагинез. Пример естественного клонирования ? идентичные близнецы. Трудности в клонировании животных. Особо актуальным является создание животных способных продуцировать несвойственные их виду белки. Например, получение свиней, способных продуцировать интерферон человека; коровы, способные продуцировать молоко с лактоферрином. Репродуктивное клонирование - неэффективная техника-большинство клонированных животных эмбрионов не могут развиваться в здоровых особях. Возрасте хромосомы клонируемой клетки. Клоны, созданные от клетки, принятой от взрослой особи, могут иметь хромосомы, которые уже короче. Долли клонирована от клетки блетней овцы, имела хромосомы, теломеры которого были короче, чем у овец ее возраста. Долли умерла в возрасте 6 лет, по сравнению с обычной продолжительностью- 12 лет. Клонирование человека. В 1993 году ученый из Южной Кореи создал клон человека, вырастил его до 4 клеток и уничтожил. Из-за технических трудностей, клонирование людей и других приматов тяжелее доказать, чем клонирование других млекопитающих. Причина в том, что ядро клонированных клеток пропускает две ключевых основы образования белков на веретене, которое является ключевой структурой в разделении ячейки. В яйцеклетках женских приматов, эти два веретена белка расположены очень близко к хромосомам. Следовательно, удаление ядра клетки, для того чтобы создать место для ядра соматической клетки донора также удаляет веретено белка яйца, который сталкивается с разделением клетки. Я.Вильмут считает, что клонирование человека возможно, но недопустимо, С.Фишел, директор Ноттингемского центра вспомогательных репродуктивных технологий, полагает, что клонирование может привести к преимуществам для человечества в целом. На данный момент единственной страной, разрешившей клонирование человеческого эмбриона в исключительно научно-исследовательских целях, является Великобритания. Россия не осталась в стороне от мировых тенденций и приняла Федеральный закон ?О временном запрете на клонирование человека? от 20 мая 2002 г. N 54-ФЗ. Срок действия закона истёк в 2007, но в 2009 принято решение продлить его на 5 лет. Проблема клонирования человека вызывает неоднозначную оценку. С одной стороны, клонирование потенциально очень привлекательно как с научной, так и с практической точки зрения. С другой стороны, пока рассуждения о его пользе человечеству носят больше теоретический характер. С третьей, единственный способ узнать, оправдает ли клонирование человека возлагаемые на него надежды ? это продолжать исследования в данной области. Будем надеяться, что этот переворот в науке принесёт таки человечеству пользу.

### **Тема 7. Клонирование эмбрионов и стволовые клетки: свойства стволовых клеток, методы получения стволовых клеток. Трансплантация и клонирование.**

#### **лекционное занятие (2 часа(ов)):**

Терапевтическое клонирование используется для создания клонированного эмбриона для единственной цели ? создания эмбриональных стволовых клеток с тем же самым ДНК как и у клетки донора. Эти стволовые клетки могут использоваться в экспериментах, нацеленных на изучение болезни и изобретения новых методик лечения заболевания. Самый богатый источник эмбриональных стволовых клеток - ткань, сформированная в течение первых пяти дней после того, как яйцо начало делиться. Стадия развития- бластоидный периодом. Стволовые клетки собираются от клонированных эмбрионов на этой стадии развития, Появляется возможность узнать больше о молекулярных причинах болезни. Стволовые клетки и клетки раковых опухолей очень сходны в своем строении. Предполагается, что стволовые клетки могут накапливать мутации, которые могли привести к раку. В настоящее время реально осуществима только технология клонирования, предполагающая выращивание клона до определенного предела *in vivo*. Естественно, к человеку это не применимо.

**практическое занятие (2 часа(ов)):**

Понятие о стволовых клетках. Из стволовой клетки могут возникнуть кожные, нервные, клетки крови и др. Термин ?стволовая клетка? был введен в биологию А. А. Максимовым в 1908. Происхождение и характеристика стволовых клеток: СК эмбриона и тканей плода; СК взрослого организма (региональные или соматические). По способности к дифференцировке выделяют тотипотентные, плюрипотентные, мультипотентные и унипотентные СК. Оплодотворенную яйцеклетку, зиготу, называют тотипотентной СК свойства СК: Они неспециализированы; Способны к пролиферации; Способны к дифференцировке; Способны к асимметричному делению; Путем миграции к зоне повреждения СК способствуют регенерации. Эмбриональные СК дают начало всем типам клеток человеческого организма -это их основной ролью, в то время как роль Региональные СК - поддерживают и восстанавливают определенные виды тканей, в которых они находятся. Маркеры СК. Способы получения стволовых клеток. 2 группы стволовых клеток: 1. Аллогенные СК (полученные из донорского материала). 2. Аутологичные или собственные СК. Состояние и проблемы применения стволовых клеток в медицине: Технические трудности в получении чистой линии человеческих ЭСК; Недостаток информации об индукции их дифференцировке *in vitro*; Наличие ряда биоэтических вопросов. Существование риска канцерогенеза; Иммунологические проблемы отторжения. Применение СК в кардиологии. Применение СК в гепатологии. Применение СК в гематологии. Применение СК в лечении аутоиммунных болезней. Суммируя представленные данные о роли СК в организме человека, методах их выделения и использования, можно заключить, что изучение СК в любом аспекте представляется крайне актуальной научной проблемой, решение которой способно совершить качественный прорыв в медицине.

**Тема 8. Применение геномной инженерии в медицине. Геномная дактилоскопия, ее технология; Методы анализа рестрикционных фрагментов (метод секвенирования ДНК по Максаму-Гилбеоту).**

**лекционное занятие (2 часа(ов)):**

Секвенирование ДНК Секвенирование - определение нуклеотидной последовательности ДНК. Метод применяется для изучения генома человека как в норме так и в патологии. При помощи секвенирования определяют аллельные варианты генов, а также различные типы генных мутаций (чаще по замене оснований). Программа "Геном человека", результатом которой явилась расшифровка нуклеотидной последовательности генома человека (основная часть программы закончена в 2003г.) была осуществлена с применением методов секвенирования ДНК.

**практическое занятие (2 часа(ов)):**

Существует несколько различных способов секвенирования ДНК. Первым был предложен химический метод Максама-Гилберта, затем ферментативный метод Сенгера. В настоящее время в основном применяется дидезоксинуклеотидный метод секвенирования ДНК (метод обрыва цепи). В этой процедуре одноцепочечная молекула ДНК, последовательность которой определяется, служит матрицей для синтеза серии комплементарных цепей, обрывающихся в момент присоединения к растущей цепи специфических нуклеотидов. Для обрыва синтеза используют дидезоксинуклеотиды ? искусственно синтезированные нуклеотиды, лишенные 2' и 3'- гидроксильных групп и поэтому не способные присоединяться к цепи следующий нуклеотид. Проба ДНК делится на 4 пробирки, в которые добавляют праймер, ДНК-полимеразу, смесь четырех трифосфатов (дАТФ, дГТФ, дТТФ, дЦТФ) и небольшое количество одного из дидезоксирибонуклеотидов (ддАТФ, ддГТФ, ддТТФ, ддЦТФ). Во время синтеза ДНК-полимеразы случайным образом включает в цепь нормальные нуклеотиды и дидезоксинуклеотиды. При этом в каждой пробирке образуется набор фрагментов разной длины, заканчивающихся на один из дидезоксинуклеотидов. После этого проводится электрофорез, что позволяет разделить отличающиеся на один нуклеотид фрагменты ДНК. В результате в геле образуется набор полос, напоминающих лестницу. Нуклеотидная последовательность ДНК читается в геле снизу вверх, согласно направлению 5'-3' цепи ДНК. Для определения нуклеотидной последовательности больших фрагментов ДНК используются автоматизированные машины (ДНК-секвенаторы).

**Тема 9. Генная терапия. Методы генной терапии: использование антисмысловых олигонуклеотидов, применение рибозимов, разработка методов внедрения новых генов в яДНК соматических клеток для лечения опухолевых заболеваний.**

**лекционное занятие (2 часа(ов)):**

Генотерапия в онкологии Одновременно с развитием исследований в области генокоррекции наследственных дефектов успешными также оказались поиски методов терапевтического использования смысловых последовательностей ДНК для лечения ненаследственных заболеваний и, главным образом, злокачественных опухолей и вирусных инфекций. Основные методологические подходы к генотерапии различных опухолей, вполне приложимы и для борьбы с наиболее серьезными инфекционными заболеваниями, например с ВИЧ-инфекцией (СПИДом). В настоящее время применяется следующая стратегия генной терапии рака. Повышение иммуногенности опухоли путём вставки цитокиновых ге?нов, а также генов, кодирующих главный комплекс гистосовместимости, лимфоцитарных лигандов. Направленная доставка (векторирование) генов цитокинов в клетки, которые в пределах опухоли локально могут реализовать токсические эффекты (например, в лимфоциты, инфильтрующие опухоли). Использование опухолеспецифических пролекарственных активаторов, т.е. вставка ферментативно пролекарственно- активирующих генов, сливающихся с промоторными системами, которые реализуются через дифференциально кон?тролируемую (идеально опухолеспецифическую) транскрипцию. Введение маркирующих генов, которые могут обеспечивать выявление минимально ос?тавленных после операции или разрастающихся опухолей. Искусственная репрессия функций генов путём вставки генов, кодирующих комплементар?ную (антисмысловую) мРНК репрессируемого гена (онкогены, гены лекар-ственной резистентности). Небольшое число попыток генной терапии злокачественных опухолей связано с введением в клетки резецированной опухоли генов интерлейкина-2 или фактора некроза опухоли. Затем эти клетки вводят подкожно в область бедра. Через 3 недели удаляют регионарный лимфатический узел (соответственно месту введения смеси трансгенных опухолевых клеток). Культивируют Т-лимфоциты, выделенные из этого узла. Кроме того, размножают лимфоциты из опухоли (опухоль-инфильтрирующие). Пациенту вводят общую массу лимфоцитов, что обеспечивает иммунную реакцию на опухолевые клетки. Так лечили больных злокачественной меланомой, раком почки, запущенным раком разных органов. Т.о., эра генной терапии человека уже началась. Определены принципы и методические подходы к генной терапии, отобраны потенциальные болезни для этого лечения. Работа продолжается одновременно в разных странах и в различных направлениях. Уже очевидно, что генная терапия будет применяться для лечения не только наследственных болезней, но и злокачественных опухолей и хронических вирусных инфекций.

**практическое занятие (2 часа(ов)):**

Антисмысловые рнк, рибозимы и дезоксирибозимы. Антисмысловые РНК как ключевые компоненты одной из систем негативной регуляции экспрессии генов были впервые описаны у бактерий. Вскоре тот же тип регуляции был обнаружен и у эукариот. Уже в первых опытах было установлено, что короткие РНК, комплементарные мРНК, образуют с ними гибриды и блокируют трансляцию. Поскольку действие таких РНК направлено против функционирования кодирующих (осмысленных) РНК, они получили название антисмысловых (antisense RNA), или micРНК (mRNA interfering complementary RNA). Это открытие вскоре легло в основу целого направления исследований искусственной регуляции экспрессии генов, неразрывно связанного с методами генной инженерии. Антисмысловые РНК и олигонуклеотиды.

.Механизм действия антисмысловых РНК.Механизмы ингибирующего действия антисмысловых РНК. Использование антисмысловых РНК. Исследование клеточного цикла. Противовирусная терапия. Природные антисмысловые РНК. Антисмысловые РНК и патология: возможный механизм возникновения доминантных мутаций

#### 4.3 Структура и содержание самостоятельной работы дисциплины (модуля)

N	Раздел Дисциплины	Семестр	Неделя семестра	Виды самостоятельной работы студентов	Трудоемкость (в часах)	Формы контроля самостоятельной работы
1.	Тема 1. Введение История возникновения, развития генной инженерии и клонирования	7	1	подготовка к реферату	5	реферат
2.	Тема 2. Структура генома человека. Структура хромосом. Строение ДНК. Гены. Виды генов. Альтернативный сплайсинг.	7	2	подготовка к коллоквиуму	4	коллоквиум
3.	Тема 3. Получение генетического материала: химико-ферментативный синтез генов; ферментный синтез сложных генов; выделение природных генов с помощью рестриктаз	7	3	подготовка домашнего задания	4	домашнее задание
4.	Тема 4. Включение генов в автономно реплицирующиеся векторные молекулы и создание рекомбинантной ДНК: вектор, плазмиды, фаговые векторы, искусственные конструкции (космиды), фазмиды, челночные векторы	7	4	подготовка к устному опросу	3	устный опрос

N	Раздел Дисциплины	Семестр	Неделя семестра	Виды самостоятельной работы студентов	Трудоемкость (в часах)	Формы контроля самостоятельной работы
5.	Тема 5. Введение рекомбинантной ДНК в клетку-реципиент и включение ее в хромосомный аппарат. Методы: конъюгация, трансдукция, трансфекция компетенция и микроинъекция, применение липосом. Селекция клонов	7	5	подготовка к контрольной работе	3	контрольная работа
6.	Тема 6. Основы клонирования. Клонирование: растений, животных и человека	7	6	подготовка к реферату	4	реферат
7.	Тема 7. Клонирование эмбрионов и стволовые клетки: свойства стволовых клеток, методы получения стволовых клеток. Трансплантация и клонирование.	7	7	подготовка к коллоквиуму	5	коллоквиум
8.	Тема 8. Применение генной инженерии в медицине. Генная дактилоскопия, ее технология; Методы анализа рестриционных фрагментов (метод секвенирования ДНК по Максаму-Гилбеоту).	7	8	подготовка к коллоквиуму	4	коллоквиум
9.	Тема 9. Генная терапия. Методы генной терапии: использование антисмысловых олигонуклеотидов, применение рибозимов, разработка методов внедрения новых генов в яДНК соматических клеток для лечения опухолевых заболеваний.	7	9	подготовка к устному опросу	4	устный опрос
	Итого				36	

## 5. Образовательные технологии, включая интерактивные формы обучения

Освоение дисциплины "Основы геномной инженерии" предполагает использование как традиционных (лекции, практические занятия с использованием методических материалов), так и инновационных образовательных технологий с использованием в учебном процессе активных и интерактивных форм проведения занятий: лекции визуализации, практические занятия: мозговые штурмы, дискуссии, решение комплексных ситуационных заданий в рамках лабораторных практик, выполнение ряда практических заданий с использованием профессиональных программных средств создания и ведения электронных баз данных; мультимедийных программ, включающих подготовку и выступления студентов на семинарских занятиях.

## **6. Оценочные средства для текущего контроля успеваемости, промежуточной аттестации по итогам освоения дисциплины и учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы студентов**

**Тема 1. Введение История возникновения, развития геномной инженерии и клонирования**  
реферат , примерные темы:

История возникновения, развития геномной инженерии и клонирования

**Тема 2. Структура генома человека. Структура хромосом. Строение ДНК. Гены. Виды генов. Альтернативный сплайсинг.**

коллоквиум , примерные вопросы:

Структура генома человека. Структура хромосом. Строение ДНК. Гены. Виды генов. Альтернативный сплайсинг.

**Тема 3. Получение генетического материала: химико-ферментативный синтез генов; ферментный синтез сложных генов; выделение природных генов с помощью рестриктаз**

домашнее задание , примерные вопросы:

Получение генетического материала: химико-ферментативный синтез генов; ферментный синтез сложных генов; выделение природных генов с помощью рестриктаз

**Тема 4. Включение генов в автономно реплицирующиеся векторные молекулы и создание рекомбинантной ДНК: вектор, плазмиды, фаговые векторы, искусственные конструкции (космиды), фазмиды, челночные векторы**

устный опрос , примерные вопросы:

Включение генов в автономно реплицирующиеся векторные молекулы и создание рекомбинантной ДНК: вектор, плазмиды, фаговые векторы, искусственные конструкции (космиды), фазмиды, челночные векторы

**Тема 5. Введение рекомбинантной ДНК в клетку-реципиент и включение ее в хромосомный аппарат. Методы: конъюгация, трансдукция, трансфекция компетенция и микроинъекция, применение липосом. Селекция клонов**

контрольная работа , примерные вопросы:

Введение рекомбинантной ДНК в клетку-реципиент и включение ее в хромосомный аппарат. Методы: конъюгация, трансдукция, трансфекция компетенция и микроинъекция, применение липосом. Селекция клонов

**Тема 6. Основы клонирования. Клонирование: растений, животных и человека**

реферат , примерные темы:

Основы клонирования. Клонирование: растений, животных и человека

**Тема 7. Клонирование эмбрионов и стволовые клетки: свойства стволовых клеток, методы получения стволовых клеток. Трансплантация и клонирование.**

коллоквиум , примерные вопросы:

Клонирование эмбрионов и стволовые клетки: свойства стволовых клеток, методы получения стволовых клеток. Трансплантация и клонирование.

## **Тема 8. Применение генной инженерии в медицине. Генная дактилоскопия, ее технология; Методы анализа рестрикционных фрагментов (метод секвенирования ДНК по Максаму-Гилбеоту).**

коллоквиум , примерные вопросы:

Применение генной инженерии в медицине. Генная дактилоскопия, ее технология; Методы анализа рестрикционных фрагментов (метод секвенирования ДНК по Максаму-Гилбеоту).

## **Тема 9. Генная терапия. Методы генной терапии: использование антисмысловых олигонуклеотидов, применение рибозимов, разработка методов внедрения новых генов в яДНК соматических клеток для лечения опухолевых заболеваний.**

устный опрос , примерные вопросы:

Генная терапия. Методы генной терапии: использование антисмысловых олигонуклеотидов, применение рибозимов, разработка методов внедрения новых генов в яДНК соматических клеток для лечения опухолевых заболеваний.

## **Тема . Итоговая форма контроля**

Примерные вопросы к зачету:

Текущий контроль включает 5-10 минутный опрос во время лекционных занятий в виде тестирования с целью закрепления полученных знаний.

Промежуточный контроль осуществляется в виде написания рефератов, проведения коллоквиумов.

Итоговый контроль - зачет.

### **7.1. Основная литература:**

Генетическая инженерия, Щелкунов, Сергей Николаевич, 2008г.

Генетическая инженерия, Щелкунов, Сергей Николаевич, 2004г.

Введение в генетическую инженерию, Абрамова, Зинаида Ивановна, 2008г.

1.Биология: учебник / Пехов А.П., - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 664 с. Глава XV.<http://www.studmedlib.ru/ru/doc/ISBN9785970414132-A016/000.html>

2.Общественное здоровье и здравоохранение: учебник. Щепин О.П., Медик В.А. 2012. - 592 с.: ил. <http://www.studmedlib.ru/ru/doc/ISBN9785970422168-0004/031.html>

3.Биология: учебник / Пехов А.П., - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 664 с. ГлаваXV.  
<http://www.studmedlib.ru/ru/doc/ISBN9785970414132-A016/006.html>

### **7.2. Дополнительная литература:**

Введение в биологию человека, [Ч.] 1. Молекулярная биология клетки, , 2005г.

1.Клиническая генетика : учебник / Н. П. Бочков, В. П. Пузырев, С. А. Смирнихина ; под ред. Н. П. Бочкова. - 4-е изд., доп. и перераб. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. - 592 с. : ил.<http://www.studmedlib.ru/ru/doc/ISBN9785970426760-0012/008.html>

### **7.3. Интернет-ресурсы:**

Введение в генную инженерию -  
[http://medbiol.ru/medbiol/biology\\_sk/00031c2b.htm#00031d5c.htm](http://medbiol.ru/medbiol/biology_sk/00031c2b.htm#00031d5c.htm)

Генная инженерия - <http://medbiol.ru/medbiol/genexp/00050414.htm#00031c2b.htm>

Генная терапия: коррекция генетической информации -  
<http://www.unn.ru/pages/e-library/aids/2007/33.pdf>

Генная терапия -медицина 21века - [http://www.pereplet.ru/nauka/Soros/pdf/9903\\_063.pdf](http://www.pereplet.ru/nauka/Soros/pdf/9903_063.pdf)

Генная терапия, надежды и разочарования -

<http://antiaging.org.ua/research-methods/genetic/162-gene-therapy-hope-and-disappointment>

История развития генной инженерии - <http://bib.convdocs.org/v2261/?download=1>

История развития генной инженерии - <http://www.distedu.ru/edu14/meller3>

Клиническая генетика -

[http://vmede.org/sait/?page=23&id=Genetika\\_klin\\_mutovin\\_2010&menu=Genetika\\_klin\\_mutovin\\_2010](http://vmede.org/sait/?page=23&id=Genetika_klin_mutovin_2010&menu=Genetika_klin_mutovin_2010)

Принципы и основные методы генетической инженерии -

[http://vpopov.professorjournal.ru/c/document\\_library/get\\_file?uuid=d0432d8f-5413-4b53-a43e-6f4d2c6c3c3c](http://vpopov.professorjournal.ru/c/document_library/get_file?uuid=d0432d8f-5413-4b53-a43e-6f4d2c6c3c3c)

## **8. Материально-техническое обеспечение дисциплины(модуля)**

Освоение дисциплины "Основы генной инженерии" предполагает использование следующего материально-технического обеспечения:

1. Учебный класс, оснащенный мультимедийной техникой, для проведения лекционных занятий.

2. Для проведения лабораторных занятий специализированная лаборатория, оснащенная стерильным боксом. (ауд.105В)

Список оборудования

для проведения лабораторных работ по дисциплине "Основы генной инженерии"

1) Центрифуги: EppendorfR :

- centrifuge 5819R

- centrifuge 5415R

- centrifuge 5415C

2) Система для электрофореза:

- Камера горизонтального э/ф "SE-1"

- Камера вертикального э/ф с заливочным устройством "VE-10"

- Система BioRad для э/ф и блотинга @Mini Trans-Blot Electphoretic Transfer Cell

- Система BioRad для препаративного э/ф -"Protean IIXiCell"

3)Блоки питания:

- Power PacUniversal (BioRAD)

2301 Macrodrive 1 Power Supply (Pharmacia LKB)

- Блоки питания: ПЭФ-3 УХЛ4.2

ПЭФА-1 У42

- системы для э/а "Хийу капур"

3) Качалки и шейкеры:

- Micro-shaker type 326

- Переносный вортекс "Vortex V-1 plus"

- Роллер-миксер "Movil Rod" (SELECTA,Испания)

- Качалка^ BD LAENA Тип T22, THY S-2

4)Весы лабораторные:

- Весы электронные Tun SJ ViBRA (Япония)

- Электронные весы ER-182A(Япония)

5) Портативный pH-метр HI

6) Холодильники:

- Морозильник "Pozis-Свягя"

- Холодильник "Bosch"

7) Магнитная мешалка "Magnetic Stirrer MS-3000"

8) Термостат TC-1/20 СПУ

- 9) Баня KL-1 b KL-4 (Прага)
- 10) Спектрофотометр СФ-26

Программа составлена в соответствии с требованиями ФГОС ВПО и учебным планом по направлению 020400.62 "Биология" и профилю подготовки Физиология человека и животных, биохимия, генетика, микробиология .

Автор(ы):

Абрамова З.И. \_\_\_\_\_

"\_\_" \_\_\_\_\_ 201\_\_ г.

Рецензент(ы):

Невзорова Т.А. \_\_\_\_\_

"\_\_" \_\_\_\_\_ 201\_\_ г.