

**Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«Московский физико-технический институт
(национальный исследовательский университет)»**

УТВЕРЖДЕНО

**Директор физтех-школы
биологической и медицинской
физики**

Д.В. Кузьмин

	Рабочая программа дисциплины (модуля)
по дисциплине:	Теория и практика геномной инженерии
по направлению:	Прикладные математика и физика
профиль подготовки:	Медицинская физика и биоинформатика Физтех-школа Биологической и Медицинской Физики кафедра молекулярной и трансляционной медицины
курс:	1
квалификация:	магистр

Семестр, формы промежуточной аттестации: 1 (осенний) - Экзамен

Аудиторных часов: 45 всего, в том числе:

лекции: 30 час.

семинары: 15 час.

лабораторные занятия: 0 час.

Самостоятельная работа: 60 час.

Подготовка к экзамену: 30 час.

Всего часов: 135, всего зач. ед.: 3

Программу составил: В.Н. Лазарев, д-р биол. наук, доцент, профессор

Программа обсуждена на заседании кафедры молекулярной и трансляционной медицины 21.04.2023

Аннотация

Ознакомление студентов с современными технологиями геномного редактирования. Развитие у студентов системного подхода к анализу биологической информации. Студент получит фундаментальные понятия, законы, теории системной биологии

1. Цели и задачи

Цель дисциплины

- ознакомление студентов с современными технологиями геномного редактирования.

Задачи дисциплины

- знать фундаментальные основы различных технологий редактирования генома у прокариот и эукариот;
- знать особенности и область применения этих технологий в исследовательской работе и медицине.

2. Перечень формируемых компетенций

Освоение дисциплины направлено на формирование следующих компетенций:

Код и наименование компетенции	Индикаторы достижения компетенции
ПК-1 Способен ставить, формализовывать и решать задачи, в том числе разрабатывать и исследовать математические модели изучаемых явлений и процессов, системно анализировать научные проблемы, получать новые научные результаты	ПК-1.1 Способен находить, анализировать и обобщать информацию об актуальных результатах исследований в рамках тематической области своей профессиональной деятельности
	ПК-1.2 Способен выдвигать гипотезы, строить математические модели для описания изучаемых явлений и процессов, оценивать качество разработанной модели
	ПК-1.3 Способен применять теоретические и (или) экспериментальные методы исследований к конкретной научной задаче и интерпретировать полученные результаты
ПК-2 Способен самостоятельно или в качестве члена (руководителя) малого коллектива организовывать и проводить научные исследования и их апробацию	ПК-2.1 Способен планировать и проводить научные исследования самостоятельно или в составе научного коллектива
	ПК-2.2 Способен проводить апробацию результатов научно-исследовательской работы посредством публикации научных статей и участия в конференциях
ПК-3 Способен профессионально работать с исследовательским и испытательным оборудованием (приборами и установками, специализированными пакетами прикладных программ) в избранной предметной области	ПК-3.1 Понимает принципы работы используемого оборудования (специализированных пакетов прикладных программ)
	ПК-3.2 Способен проводить эксперимент (моделирование) с использованием исследовательского оборудования (пакетов прикладных программ)
	ПК-3.3 Способен оценивать точность полученных экспериментальных (численных) результатов

3. Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине (модулю)

В результате освоения дисциплины обучающиеся должны

знать:

1. Фундаментальные молекулярные основы технологий редактирования генома
2. Сферу применения технологии редактирования генома
3. Ограничения при использовании технологий редактирования генома

уметь:

1. Формулировать задачи для реализации профессиональных функций
2. Планировать экспериментальную работу, основываясь на имеющихся знаниях
3. Обобщать и систематизировать знания о теоретических положениях
4. Использовать основные законы естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности
5. Работать с научно-технической информацией

владеть:

1. Методами поиска необходимой достоверной информацией в библиотеках и базах данных
2. Методами подбора материалов

4. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов и видов учебных занятий

4.1. Разделы дисциплины (модуля) и трудоемкости по видам учебных занятий

№	Тема (раздел) дисциплины	Трудоемкость по видам учебных занятий, включая самостоятельную работу, час.			
		Лекции	Семинары	Лаборат. работы	Самост. работа
1	Введение в технологию редактирования генома. Предпосылки.	3	3		6
2	Технологии редактирования генома, основанные на белковых молекулах. Мегануклеазы, ZFN, TALEN	3			6
3	Система CRISPR/Cas как вариант адаптивного иммунитета. Принцип работы системы в бактериальных клетках	3	2		6
4	Технология редактирования генома CRISPR/Cas	3	2		6
5	Редактирование генома у бактерий	3	2		6
6	Редактирование генома дрожжей	3			6
7	Редактирование генома эукариотических клеток	3	2		6
8	Редактирование генома мыши	3	2		6
9	Белки аргонавты	3			6
10	Этические аспекты геномного редактирования	3	2		6
Итого часов		30	15		60
Подготовка к экзамену		30 час.			
Общая трудоёмкость		135 час., 3 зач.ед.			

4.2. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам)

Семестр: 1 (Осенний)

1. Введение в технологию редактирования генома. Предпосылки.

- 1.1 Исторические аспекты и необходимость геномного редактирования
- 1.2 Технология индуцированного мутагенеза
- 1.3 Трансгенез.

2. Технологии редактирования генома, основанные на белковых молекулах. Мегануклеазы, ZFN, TALEN

2.1 Система редактирования генома 1 поколения: мегануклеазы

2.2 Система редактирования генома 2 поколения: ZFN

2.3 Система редактирования генома 3 поколения: TALEN

2.4 Система редактирования генома 4 поколения: CRISPR/Cas

3. Система CRISPR/Cas как вариант адаптивного иммунитета. Принцип работы системы в бактериальных клетках

3.1 Белки Cas

3.2 Механизм действия системы CRISPR/Cas в бактериальных клетках

3.3 Адаптация бактериальной системы CRISPR/Cas для применения *in vitro*

4. Технология редактирования генома CRISPR/Cas

4.1 Возможности и ограничения применения системы

4.2 Модификации системы для повышения специфичности

4.3 Регуляция экспрессии генов с помощью системы CRISPR/Cas

4.4 Визуализация живых клеток с помощью системы CRISPR/Cas

5. Редактирование генома у бактерий

5.1 Системы рекомбинации у *E. coli*. Сайт-специфическая рекомбинация.

5.2 Фаговая трансдукция для редактирования генома бактерий.

5.3 Система CRISPR/Cas для высокоэффективного редактирования *E. coli*.

5.4 Регуляция уровня экспрессии генов у бактерий с помощью CRISPR/Cas

6. Редактирование генома дрожжей

6.1 Системы редактирования генома дрожжей.

6.2 Редактирование генома *Saccharomyces cerevisiae*

7. Редактирование генома эукариотических клеток

7.1 Способы доставки компонентов системы CRISPR/Cas в эукариотические клетки

7.2 Конструирование донорных молекул ДНК для проведения гомологичной рекомбинации, в том числе с позитивной/негативной селекцией.

7.3 Регуляция уровня экспрессии генов в клетках эукариот с помощью системы CRISPR/Cas

7.4. Использование активационных или нокаутных библиотек CRISPR/Cas в исследованиях

8. Редактирование генома мыши

8.1 Мышь как модельный объект. Особенности использования.

8.2 Способы геномного редактирования мышей

8.3 Особенности селекционной работы при геномном редактировании мышей.

9. Белки аргонаты

9.1 Механизмы РНК-интерференции у эукариот и прокариот

9.2 Программируемые РНК-нуклеазы

10. Этические аспекты геномного редактирования

10.1 Клинические испытания генотерапевтических методов с применением геномного редактирования

10.2 Редактирование гена CCR5 для борьбы с ВИЧ.

10.3 Этические проблемы и рекомендации международной комиссии Национальной академии медицины по наследуемому редактированию генома человека

5. Описание материально-технической базы, необходимой для осуществления образовательного процесса по дисциплине (модулю)

- учебные аудитории для проведения занятий лекционного / семинарского типа;
- аудитории, оснащенные компьютерной техникой с подключением к сети «Интернет»;
- компьютер и мультимедийное оборудование (проектор, звуковая система),
- индивидуальные вычислительные средства студентов (персональные компьютеры) для выполнения домашних заданий.

6.Перечень рекомендуемой литературы

Основная литература

Данная литература выдается на базовой кафедре:

1. Редактирование генов и геномов/ отв. ред. С.М. Закиян, С.П. Медведев, Е.В. Дементьева, Е.А. Покушалов, В.В. Власов. – Новосибирск: Издательство СО РАН, 2018. - ISBN 978-5-7692-1578-0
т. 1 – 369 с. – ISBN 978-5-7692-1579-7
т. 2 – 386 с. – ISBN 978-5-7692-1580-3
т. 3 – 301 с. – ISBN 978-5-7692-1581-0
2. Методы редактирования генов и геномов/ С.М. Закиян, С.П. Медведев, Е.В. Дементьева, Е.А. Покушалов, В.В. Власов. - Новосибирск: Издательство СО РАН, 2020 г. - ISBN 978-5-7692-1670-1
3. CRISPR 101. A Desktop Resource. - 3rd Edition. Addgene. - Книга в электронном виде.
https://info.addgene.org/hubfs/CRISPR_101_ebook/3rd%20edition/CRISPR-eBook-3rd-edition.pdf?hsCtaTracking=bf6f5328-0652-4ef5-ab78-dfa031255da0%7C1a1481f7-5c09-4f4c-9ebb-94fd110ce627

Дополнительная литература

Данная литература выдается на базовой кафедре:

1. Anzalone AV, Randolph PB, Davis JR, Sousa AA, Koblan LW, Levy JM, Chen PJ, Wilson C, Newby GA, Raguram A, Liu DR. Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. - Nature. 2019 Dec;576(7785):149-157. doi: 10.1038/s41586-019-1711-4. Epub 2019 Oct 21. PMID: 31634902;
2. Xiao Q, Guo D, Chen S. Application of CRISPR/Cas9-Based Gene Editing in HIV-1/AIDS Therapy. Front Cell Infect Microbiol. 2019 Mar 22;9:69. doi: 10.3389/fcimb.2019.00069. PMID: 30968001;
3. Zhang D, Hussain A, Manghwar H, Xie K, Xie S, Zhao S, Larkin RM, Qing P, Jin S, Ding F. Genome editing with the CRISPR-Cas system: an art, ethics and global regulatory perspective. Plant Biotechnol J. 2020 Aug;18(8):1651-1669. doi: 10.1111/pbi.13383. Epub 2020 Apr 30. PMID: 32271968;
4. Pickar-Oliver A, Gersbach CA. The next generation of CRISPR-Cas technologies and applications. Nat Rev Mol Cell Biol. 2019 Aug;20(8):490-507. doi: 10.1038/s41580-019-0131-5. PMID: 31147612
5. Rodríguez-Rodríguez DR, Ramírez-Solís R, Garza-Elizondo MA, Garza-Rodríguez ML, Barrera-Saldaña HA. Genome editing: A perspective on the application of CRISPR/Cas9 to study human diseases (Review). Int J Mol Med. 2019 Apr;43(4):1559-1574. doi: 10.3892/ijmm.2019.4112. Epub 2019 Feb 26. PMID: 30816503

7. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети "Интернет", необходимых для освоения дисциплины (модуля)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

8. Перечень информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса по дисциплине (модулю), включая перечень необходимого программного обеспечения и информационных справочных систем (при необходимости)

<https://www.benchling.com/crispr>

<http://chopchop.cbu.uib.no/>

<http://www.rgenome.net/cas-offfinder/>

<http://crispor.tefor.net/>

9. Методические указания для обучающихся по освоению дисциплины (модуля)

Студент, изучающий дисциплину, должен с одной стороны, овладеть общим понятийным аппаратом, а с другой стороны, должен научиться применять теоретические знания на практике.

В результате изучения дисциплины студент должен знать основные определения дисциплины, уметь применять полученные знания для решения различных задач.

Успешное освоение курса требует:

- посещения всех занятий, предусмотренных учебным планом по дисциплине;
- ведения конспекта занятий;
- напряжённой самостоятельной работы студента.

Самостоятельная работа включает в себя:

- чтение рекомендованной литературы;
- проработку учебного материала, подготовку ответов на вопросы, предназначенных для самостоятельного изучения;
- решение задач, предлагаемых студентам на занятиях;
- подготовку к выполнению заданий текущей и промежуточной аттестации.

Показателем владения материалом служит умение без конспекта отвечать на вопросы по темам дисциплины.

Важно добиться понимания изучаемого материала, а не механического его запоминания. При затруднении изучения отдельных тем, вопросов, следует обращаться за консультациями к преподавателю.

Возможен промежуточный контроль знаний студентов в виде решения задач в соответствии с тематикой занятий.

ОЦЕНОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ПО ДИСЦИПЛИНЕ (МОДУЛЮ)

по направлению:	Прикладные математика и физика
профиль подготовки:	Медицинская физика и биоинформатика Физтех-школа Биологической и Медицинской Физики кафедра молекулярной и трансляционной медицины
курс:	1
квалификация:	магистр

Семестр, формы промежуточной аттестации: 1 (осенний) - Экзамен

Разработчик: В.Н. Лазарев, д-р биол. наук, доцент, профессор

1. Компетенции, формируемые в процессе изучения дисциплины

Код и наименование компетенции	Индикаторы достижения компетенции
ПК-1 Способен ставить, формализовывать и решать задачи, в том числе разрабатывать и исследовать математические модели изучаемых явлений и процессов, системно анализировать научные проблемы, получать новые научные результаты	ПК-1.1 Способен находить, анализировать и обобщать информацию об актуальных результатах исследований в рамках тематической области своей профессиональной деятельности
	ПК-1.2 Способен выдвигать гипотезы, строить математические модели для описания изучаемых явлений и процессов, оценивать качество разработанной модели
	ПК-1.3 Способен применять теоретические и (или) экспериментальные методы исследований к конкретной научной задаче и интерпретировать полученные результаты
ПК-2 Способен самостоятельно или в качестве члена (руководителя) малого коллектива организовывать и проводить научные исследования и их апробацию	ПК-2.1 Способен планировать и проводить научные исследования самостоятельно или в составе научного коллектива
	ПК-2.2 Способен проводить апробацию результатов научно-исследовательской работы посредством публикации научных статей и участия в конференциях
ПК-3 Способен профессионально работать с исследовательским и испытательным оборудованием (приборами и установками, специализированными пакетами прикладных программ) в избранной предметной области	ПК-3.1 Понимает принципы работы используемого оборудования (специализированных пакетов прикладных программ)
	ПК-3.2 Способен проводить эксперимент (моделирование) с использованием исследовательского оборудования (пакетов прикладных программ)
	ПК-3.3 Способен оценивать точность полученных экспериментальных (численных) результатов

2. Показатели оценивания компетенций

В результате изучения дисциплины «Теория и практика геномной инженерии» обучающийся должен:

знать:

1. Фундаментальные молекулярные основы технологий редактирования генома
2. Сферу применения технологии редактирования генома
3. Ограничения при использовании технологий редактирования генома

уметь:

1. Формулировать задачи для реализации профессиональных функций
2. Планировать экспериментальную работу, основываясь на имеющихся знаниях
3. Обобщать и систематизировать знания о теоретических положениях
4. Использовать основные законы естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности
5. Работать с научно-технической информацией

владеть:

1. Методами поиска необходимой достоверной информацией в библиотеках и базах данных
2. Методами подбора материалов

3. Перечень типовых (примерных) вопросов, заданий, тем для подготовки к текущему контролю

Во время текущего контроля студент должен уметь ответить на следующие вопросы:

1. Технология индуцированного мутагенеза. Особенности проведения. Трудности.
2. Область применения.
3. Трансгенез. Особенности проведения. Трудности. Область применения.

4. На каких технологиях вмешательства в геном основаны существующие и одобренные клинические протоколы генной терапии?
5. Для чего может потребоваться и оказаться эффективным редактирование геномной ДНК соматических клеток? Приведите не менее двух примеров.
6. Мегануклеазы. Структура, создание, особенности. Варианты модификации мегануклеаз. Принципы редактирования генома с помощью мегануклеаз.
7. ZFN. Структура, создание, особенности. Принципы редактирования генома с помощью ZFN.
8. TALEN. Структура, создание, особенности. Принципы редактирования генома с помощью ZFN.
9. Сходства и различия ZFN и TALEN. Ограничения на применение.
10. Специфичность RVD в системе TALEN. Принцип сборки TALEN на примере golden gate.
11. Принцип редактирования генома с помощью CRISPR/Cas систем. Компоненты. Иммунология бактерий.

Во время занятий могут проходить интерактивные обсуждения в чатах курса, что будет являться домашним заданием. Возможно выполнение патентного поиска в качестве самостоятельной задачи. Успешное выполнение всех заданий по курсу и выполнение контрольных срезов знаний дает преимущество на экзамене.

4. Перечень типовых (примерных) вопросов и тем для проведения промежуточной аттестации обучающихся

1. Принцип редактирования генома с помощью CRISPR/Cas систем. Способы доставки компонентов внутрь клетки.
- 2 Принцип редактирования генома с помощью CRISPR/Cas систем. Особенности подбора спейсерной последовательности для гидовой (направляющей РНК).
- 3 Принцип редактирования генома с помощью CRISPR/Cas систем. Модификации системы CRISPR/Cas.
- 4 Основные молекулярные механизмы, участвующие в репарации двухцепочечных разрывов. Условия, влияющие на выбор клеткой пути репарации двухцепочечных разрывов.
- 5 Никазы. Виды. Особенности использования. Дизайн направляющих РНК для использования с никазами.
- 6 Нецелевые эффекты. Способы борьбы с неспецифической работой системы CRISPR/Cas. Особенность дизайна донорной молекулы ДНК для гомологичной рекомбинации.
- 7 Регуляция экспрессии генов с помощью CRISPR/Cas у прокариот
- 8 Способы повышения специфичности CRISPR/Cas систем. Модификации компонентов системы.
- 9 Способы повышения специфичности CRISPR/Cas систем. Адресная доставка компонентов системы.
- 10 Особенности геномного редактирования дрожжей.
- 11 Методы анализа геномного редактирования.
- 12 Определения числа копий трансгенов в ДНК.
- 13 Позитивная/негативная селекция при конструировании донорных молекул ДНК для гомологичной рекомбинации.
- 14 Технологии редактирования РНК
- 15 Подходы в редактировании геномной ДНК мыши. Особенности.
- 16 Технология Cre-LoxP. Принцип работы.
- 17 Принципы создания трансгенных и нокаутных мышей.
- 18 Иммуногенность компонентов CRISPR/Cas.
- 19 Чувствительность CRISPR/Cas систем к структуре хроматина
- 20 Технология prime editing. Особенности. Механизм.

Примеры билетов на экзамене

Билет №1

Нецелевые эффекты. Способы борьбы с неспецифической работой системы CRISPR/Cas. Особенность дизайна донорной молекулы ДНК для гомологичной рекомбинации.

Билет №2

Иммуногенность компонентов CRISPR/Cas.

Билет №3

Никазы. Виды. Особенности использования. Дизайн направляющих РНК для использования с никазами.

Критерии оценивания

Оценка отлично (10 баллов) - выставляется студенту, показавшему всесторонние, систематизированные, глубокие знания учебной программы дисциплины, проявляющему интерес к данной предметной области, продемонстрировавшему умение уверенно и творчески применять их на практике при решении конкретных задач, свободное и правильное обоснование принятых решений.

Оценка отлично (9 баллов) - выставляется студенту, показавшему всесторонние, систематизированные, глубокие знания учебной программы дисциплины и умение уверенно применять их на практике при решении конкретных задач, свободное и правильное обоснование принятых решений.

Оценка отлично (8 баллов) - выставляется студенту, показавшему всесторонние, систематизированные, глубокие знания учебной программы дисциплины и умение уверенно применять их на практике при решении конкретных задач, правильное обоснование принятых решений, с некоторыми недочетами.

Оценка хорошо (7 баллов) - выставляется студенту, если он твердо знает материал, грамотно и по существу излагает его, умеет применять полученные знания на практике, но недостаточно грамотно обосновывает полученные результаты.

Оценка хорошо (6 баллов) - выставляется студенту, если он твердо знает материал, грамотно и по существу излагает его, умеет применять полученные знания на практике, но допускает в ответе или в решении задач некоторые неточности.

Оценка хорошо (5 баллов) - выставляется студенту, если он в основном знает материал, грамотно и по существу излагает его, умеет применять полученные знания на практике, но допускает в ответе или в решении задач достаточно большое количество неточностей.

Оценка удовлетворительно (4 балла) - выставляется студенту, показавшему фрагментарный, разрозненный характер знаний, недостаточно правильные формулировки базовых понятий, нарушения логической последовательности в изложении программного материала, но при этом он освоил основные разделы учебной программы, необходимые для дальнейшего обучения, и может применять полученные знания по образцу в стандартной ситуации.

Оценка удовлетворительно (3 балла) - выставляется студенту, показавшему фрагментарный, разрозненный характер знаний, допускающему ошибки в формулировках базовых понятий, нарушения логической последовательности в изложении программного материала, слабо владеет основными разделами учебной программы, необходимыми для дальнейшего обучения и с трудом применяет полученные знания даже в стандартной ситуации.

Оценка неудовлетворительно (2 балла) - выставляется студенту, который не знает большей части основного содержания учебной программы дисциплины, допускает грубые ошибки в формулировках основных принципов и не умеет использовать полученные знания при решении типовых задач.

Оценка неудовлетворительно (1 балл) - выставляется студенту, который не знает основного содержания учебной программы дисциплины, допускает грубейшие ошибки в формулировках базовых понятий дисциплины и вообще не имеет навыков решения типовых практических задач.

5. Методические материалы, определяющие процедуры оценивания знаний, умений, навыков и (или) опыта деятельности

При проведении устного экзамена обучающемуся предоставляется 30 минут на подготовку. Опрос обучающегося по билету на устном экзамене не должен превышать одного астрономического часа.