

**ГОУ ВПО РОССИЙСКО – АРМЯНСКИЙ (СЛАВЯНСКИЙ)
УНИВЕРСИТЕТ**

УТВЕРЖДЕНО УС РАУ

Ректор _____



А.Р. Дарбинян

08.08.2020 г., протокол № 8

**ПРОГРАММА
ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ «МОЛЕКУЛЯРНАЯ
ДИАГНОСТИКА И БИОТЕРАПИЯ» ПО ПРОФИЛЮ
ОСНОВНОЙ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ
ПРОГРАММЫ «МЕДИЦИНСКАЯ БИОХИМИЯ»**

1. Аннотация

Актуальность программы

Молекулярная диагностика и биотерапия являются важными инструментами для решения многих проблем в области здравоохранения. Эти методы являются неотъемлемой частью решения вопросов профилактики и терапии в целом.

Целью реализации обучения данной программы является формирование и совершенствование дополнительных профессиональных компетенций в области диагностики и биотерапии, медицинской биохимии и содержательных основ предмета исследований.

Программа повышения квалификации «Молекулярная диагностика и биотерапия» направлена на совершенствование и (или) получение новой компетенции в области биомедицины, необходимой для профессиональной деятельности, и (или) повышение профессионального уровня в рамках имеющейся квалификации.

Задачи реализации программы

- повышение квалификации и уровня профессиональных знаний ППС медицинских специальностей в области биомедицины в свете современных достижений медицинских и смежных с ними наук;
- усовершенствование методологической базы молекулярной диагностики;
- ознакомления с современными направлениями развития и практического использования этих методов;
- углубленное изучение новых подходов биотерапии.

2. Уровень образовательной программы – дополнительное профессиональное образование.

3. Вид образовательная программы: Повышение квалификации (дополнительная).

4. Трудоемкость программы повышения квалификации

Настоящая программа рассчитана на 72 академических часов.

5. Форма обучения - очная с применением дистанционных образовательных технологий в режиме видеоконференц – связи.

6. Срок освоения программы 9 недель по 4 занятия в неделю.

7. Категориями слушателей для программы повышения квалификации являются: лица, имеющие среднее профессиональное и (или) высшее образование (профессорско-преподавательский состав и сотрудники кафедр института БМиФ РАУ, Медицинских ВУЗ-ов, НИИ, преподающих в медицинских учреждениях, ведущих научные исследования в области биомедицины, биотехнологии и молекулярной биологии).

8. Для приема на обучение предоставляются следующие документы:

8.1 Заполненная в установленной форме заявка.

8.2 Копия документа, удостоверяющего личность.

8.3 Диплом о наличии среднего профессионального или высшего образования лица, имеющие среднее профессиональное и (или) высшее образование.

9. Планируемые результаты обучения:

- **Знание:** представление о теоретических основах и методах молекулярной диагностики, подходов биотерапии и принципы их использования. Возможности и ограничения применения молекулярной диагностики в разных областях медицины.
- **Умение:** практические навыки вопросов применения адекватных лабораторных диагностических методов.
- **Владение:** современными методами молекулярными методами диагностики формируемые в результате освоения программы.

10. Описание перечня профессиональных компетенций, формируемых в результате освоения программы повышения квалификации:

- Теоретические и практические основы профессиональной деятельности (Способен выявлять и оценивать морфофункциональные, физиологические состояния и патологические процессы в организме человека, моделировать патологические состояния *in vivo* и *in vitro* при проведении биомедицинских исследований. Способен использовать специализированное диагностическое и лечебное оборудование, применять медицинские изделия, лекарственные средства, клеточные продукты и генно-инженерные технологии, предусмотренные порядками оказания медицинской помощи).

- Научно-исследовательская деятельность. (Способен определять стратегию и проблематику исследований, выбирать оптимальные способы их решения, проводить системный анализ объектов исследования, отвечать за правильность и обоснованность выводов, внедрение полученных результатов в практическое здравоохранение).
- Педагогическая (Способен планировать, организовывать и проводить учебные занятия в сфере профессионального обучения и дополнительного профессионального образования, используя знания и методологию в соответствии с профессиональной подготовкой).

11. Форма итоговой аттестации - индивидуальный проект

12. Распределение объема программы по разделам и/или темам и видам учебной работы

Разделы/темы дисциплины	Всего (ак. часов)	Лекции (ак. часов)	Практ. занятия (ак. часов)	Семина -ры (ак. часов)
1	2=3+4+5	3	4	5
Введение	4	2	2	
Раздел 1. (Методы молекулярные диагностики)				
Тема 1. (Иммунопреципитация коиммунопреципитация)	4	2	2	
Тема 2. (ИФА)	6	2	4	
Тема 3. (Иммунохроматография, Иммуногистохимия, Иммуноцитохимия)	4	2	2	
Тема 4. (ChIP-chip и ChIP-seq)	6	2	2	2
Тема 5. (ПЦР)	6	2	4	
Тема 6. (Секвенс анализ)	4	2	2	
Модуль 1.	2	2		
Раздел 2. (Биотерапия)				
Тема 7. (Генная терапия)	8	2	4	2
Тема 8. (Вакциноterapia)	6	2	4	

Тема 9. (Терапевтические моноклональные антитела и цитокины)	6	2	4	
Тема 10. (Терапевтическая Рномика)	4	2	2	
Тема 11. (Наномедицина)	6	2	2	2
Тема 12. (Тераностика)	4	2	2	
Модуль 2.	2	2		
ИТОГО	72	30	36	6

13. Содержание разделов/тем программы

Раздел 1. Методы Молекулярной диагностики

Методы молекулярной диагностики в гематологии и трансфузиологии применяются для выявления причины патологического состояния, установления диагноза и контроля эффективности лечения на уровне геномной ДНК, РНК и белков.

Тема 1. Иммунопреципитация, коиммунопреципитация

В зависимости от способа связывания антител на микрогранулах, различают три технологии иммунопреципитации. В классической технологии применяются микрогранулы, покрытые белком А или белком G. Белок А, как и белок G, может связываться с Fc-областью широкого спектра антител. Антитело, специфичное к выделяемому белку, инкубируют со смесью, из которой планируют выделить данный белок. После образования комплекса выделяемого белка (антигена) с антителом в смесь вводят микрогранулы, покрытые белком А или белком G. Комплексы антиген-антитело связываются на микрогранулах. При помощи центрифугирования и промывки, микрогранулы со связанными комплексами антиген-антитело отделяют от смеси. Антиген и антитело элюируют с микрогранул. Иногда в смесь вводят микрогранулы, с которыми были предварительно связаны антитела. Основной недостаток классической технологии заключается в том, что при элюции выделяемого белка с микрочастицы антитело также будет снято с микрочастицы. В результате, выделяемый белок будет загрязнен, и антитела нельзя будет использовать повторно.

Литература

1. KaboordB., PerrM. Isolation of proteins and protein complexes by immunoprecipitation. Method sinmolecular biology (Clifton, N.J.). — 2008. 424, 349—364. doi:10.1007/978-1-60327-064-9_27.

Тема 2. ИФА

Лабораторный иммунологический метод качественного или количественного определения различных низкомолекулярных соединений, макромолекул, вирусов и тд., в основе которого лежит специфическая реакция антиген-антитело. Выявление образовавшегося комплекса проводят с использованием фермента в качестве метки для регистрации сигнала. Теоретические основы ИФА опираются на современную иммунохимию и химическую энзимологию, знание физико-химических закономерностей реакции антиген-антитело, а также на основные принципы аналитической химии.

Литература

1. Егоров А.М., А.П. Осипов, Б.Б. Дзантиев, Е.М. Гаврилова. (1991) *Теория и практика иммуноферментного анализа*. — М.: Издательство "Высшая школа", 1991. ISBN 5-06-000644. *Иммунохимический анализ в лабораторной медицине (2015)* / В. В. Долгов. — М.-Тверь: ООО "Издательство "Триада" ISBN 978-5-94789-695-4.

2. Stephen Thompson. *Immunoprecipitation and Blotting // Molecular Diagnosis of Infectious Diseases. Methods in Molecular Medicine*TM. 2004.94, 33—45. doi:10.1385/1-59259-679-7:33.

Тема 3. Иммунохроматография, Иммуногистохимия, Иммуноцитохимия

Принцип действия состоит в том, что при погружении тест-полоски в биологическую жидкость (или другой жидкий образец), она начинает мигрировать вдоль полоски по принципу тонкослойной хроматографии. Вместе с ней движутся нанесенные на нижнюю часть тест-полоски меченые специфические антитела, которые аффинно связываются с анализируемым веществом.

Различают 2 формата ИХА: прямой и конкурентный метод.

1. В схеме *прямого* (сэндвичного) ИХА используется конъюгат антитела-метка, нанесенный на мембрану для конъюгата. На тестовой линии иммобилизованы антитела, специфические к данному анализу, а на контрольной линии — антивидовые антитела, специфические к первичным антителам. При нанесении образца, содержащего анализируемое вещество, при попадании образца на мембрану с конъюгатом, происходит связывание анализита с конъюгатом Ат-метка. Затем иммунный комплекс попадает в тестовую зону, где он связывается со специфическими антителами, образуя «сэндвич» Ат-Аг-Ат-метка. Избыток несвязавшегося конъюгата связывается с антивидовыми антителами на контрольной линии. Таким образом, выявление 2 линий на тест-полоске является положительным результатом теста. При

отсутствии аналита в образце конъюгат связывается с антивидовыми антителами только на контрольной линии, образуя одну линию на тест-полоске. Метод прямого ИХА используется для выявления высокомолекулярных соединений — вирусов, в том числе ВИЧ; различных гормонов (например, в тестах на беременность), возбудителей инфекционных заболеваний.

2. Метод *конкурентного ИХА*, используемый для определения низкомолекулярных соединений, основан на конкуренции аналита и иммобилизованного конъюгата аналит: белок-носитель за ограниченное количество центров связывания специфических антител, содержащихся в конъюгате Ат-метка. При нанесении образца, содержащего аналит, он связывается с конъюгатом Ат-метка на мембране с конъюгатом. Далее иммунокомплекс проходит через тестовую зону, где иммобилизован конъюгат аналит: белок-носитель. Иммунокомплекс не может связаться с этим конъюгатом из-за стерических затруднений: низкомолекулярные соединения обычно имеют одну антигенную детерминанту и, соответственно, антитела имеют один центр связывания с антигеном, который уже является занятым аналитом. Далее иммунный комплекс связывают антивидовые антитела, находящиеся на контрольной линии. В результате, отсутствие окрашенной полосы в тестовой зоне и наличие окраски в контрольной зоне свидетельствует о том, что концентрация определяемого вещества в исследуемом образце превышает его пороговое значение для данного теста.

При отсутствии анализируемого вещества в образце, конъюгат Ат-метка связывается с конъюгатом Аг: белок-носитель, иммобилизованным в зоне тестовой линии. Несвязавшийся конъюгат Ат-метка попадает в зону контрольной линии и связывается там с антивидовыми антителами. Таким образом, наличие двух окрашенных линий (тестовой и контрольной) является отрицательным результатом анализа.

Формат конкурентного ИХА используется для выявления низкомолекулярных соединений, в том числе метаболитов наркотических соединений в моче, жидкости ротовой полости, экстрактах тканей.

Преимуществом метода является быстрота его и легкость его применения, возможность использования неприборных форматов ИХА с визуальной оценкой результата анализа. В этом случае не требуется использование никакого оборудования и анализ может быть проведен неспециалистом в любых условиях, в том числе «полевых».

Существуют также приборные полуколичественные и количественные форматы ИХА, в которых используются специальные ридеры для регистрации интенсивности метки в тестовой зоне тест-полоски.

Литература

1. *Nicolas von Ahsen, Carl T. Wittwer, Ekkehard Schütz. Oligonucleotide melting temperatures under pcr conditions: nearest-neighbor corrections for Mg²⁺, deoxynucleotide triphosphate, and dimethyl sulfoxide concentrations with comparison to alternative empirical formulas. Clinical Chemistry: journal. 2001. 47(11)*

Тема 4. ChIP-chip и ChIP-seq

Комбинируя тесты иммунопреципитации хроматина (ChIP) с секвенированием, ChIP-секвенирование (ChIP-Seq) является мощным методом идентификации сайтов связывания ДНК по всему геному для факторов транскрипции и других белков. Согласно протоколам ChIP, ДНК-связанный белок иммунопреципитируется с использованием специфических антител. Затем связанная ДНК совместно осаждается, очищается и секвенируется.

Литература

1. *Bailey T., Krajewski P., Ladunga I., Lefebvre C., Li Q. Practical guidelines for the comprehensive analysis of ChIP-seq data. PLoS computational biology. 2013. 9(11), e1003326. — ISSN 1553-7358. — doi:10.1371/journal.pcbi.1003326.*

Тема 5. ПЦР

Метод ПЦР был разработан в 1983 году Кэри Мюллисом, за что он был удостоен Нобелевской премии. В настоящее время ПЦР - диагностика является, одним из самых точных, оперативных и чувствительных методов диагностики инфекционных заболеваний передающихся половым путем.

Литература

1. *Зорина Виктория Владимировна. Основы полимеразной цепной реакции (пцр) методическое пособие ООО «ДНК-Технология».: г. Москва. https://www.dna-technology.ru/sites/default/files/pcr_a5_083-4.pdf*

Тема 6. Секвенс анализ

Методы определения последовательности генома для получения формального описания её первичной структуры. Технология методов секвенирования нового поколения позволяет «прочитать» одновременно сразу несколько участков генома, что является главным отличием от более ранних методов секвенирования. Это осуществляется с помощью повторяющихся циклов удлинения цепи, индуцированного полимеразой, или многократного лигирования олигонуклеотидов.

Литература

1. Landt S. G., G. K. Marinov, A. Kundaje, P. Kheradpour, F. Pauli. *ChIP-seq guidelines and practices of the ENCODE and modENCODE consortia. Genome Research. 2012. 22(9), 1813–1831. — ISSN 1088-9051. — doi:10.1101/gr.136184.111.*

Раздел 2. Биотерапия

Биотерапия (Бт) включает в себя лечение пациентов путем активизации защитных систем организма или при помощи введения естественных полимерных молекул. Под определение средств Бт попадает широкий спектр разнообразных факторов, включающих наряду с противоопухолевыми вакцинами (ПВ) продукты современных биотехнологий с использованием моноклональных антител (МкАТ), цитокинов (Цк), клеточных факторов, а также средств, регулирующих активность генома, и другие молекулярные процессы жизнедеятельности клетки. Методы Бт вовлекают иммунную систему, а также воздействуют на факторы и механизмы, контролирующие процессы ангиогенеза и апоптоза.

Тема 7. Генная терапия

Генная терапия это применение биомедицинских технологий для лечения дефектов генов с помощью введения в организм генетических конструкций с целью:

- Замен мутантного гена здоровой копией.
- «Выключение» вызывающего болезнь гена.
- Введение нового или модифицированного гена в организм, чтобы помочь в лечении болезни.

Литература

1. Ялсут СИ, Потебня ГП. *Биотерапия опухолей. Киев: Книга-Плюс, 2010. 472 с.*

2. Gurevich E V, V VGurevich. (2015). *Beyond traditional pharmacology: new tools and approaches. Br J Pharmacol. 172, 3229-3241*

Тема 8. Вакциноterapia

Вакцины в биотерапии — это биологические препараты для активной иммунопрофилактики и иммунотерапии, содержащие опухолевые антигены. На их введение система иммунитета отвечает каскадом реакций, которые в конечном итоге приводят к целенаправленному лизису опухолевых клеток. В настоящее время вакциноterapia является признанным методом лечения многих видов злокачественных опухолей. ПВ способны индуцировать иммунный ответ как против первичной опухоли, так и против метастазов.

Тема 9. Терапевтические моноклональные антитела и цитокины

МкАТ — это иммуноглобулины, вырабатываемые В-лимфоцитами в ответ на чужеродные вещества, селективно направленные против того или иного антигена, что является их существенным преимуществом по сравнению с классическими цитостатиками. За последние десятилетия созданы и изучены в предклинических исследованиях сотни МкАТ к различным антигенам, десятки из них дошли до стадии клинических испытаний, отдельные МкАТ получили разрешение на применение в качестве лекарственных средств. Максимальный успех препаратов МкАТ, направленных либо против антигенов В-лимфоцитов (лечение пациентов с гемобластозами), либо против рецептора эпидермального фактора роста EGFR (лечение пациентов с солидными опухолями).

Цитокины биологически активные вещества пептидной природы, регулирующие широкий спектр процессов, протекающих в организме. Они вырабатываются преимущественно клетками иммунной системы, являясь одновременно и ее регуляторами; продуцентами Цк могут быть и эпителиоциты, а также эндотелиальные клетки. Цк участвуют в регуляции процессов эмбриогенеза, гемопоэза, иммунного ответа, мукозального гомеостаза, ангиогенеза, апоптоза, хемотаксиса. Поскольку продукция Цк определяет развитие ряда заболеваний, ведется поиск возможностей их применения (или применения их антагонистов) в терапевтических целях.

Литература

1. Моисеенко ВМ, Данилов АО, Балдуева ИА и др. I–II фаза клинической оценки эффективности генотерапии на основе аутологичных опухолевых клеток,

модифицированных геном TAG7 у больных с диссеминированными солидными опухолями. Вопр онкол 2004; 50 (3): 293–303.

2. *Halioua-Haubold C.L., Peyer J.G., Smith J.A. et al. (2017). Regulatory considerations for gene therapy products in the US, EU, and Japan. Yale J. Biol. Med. 90, 683–693.*

3. *Kochenderfer JN, Gress RE. A comparison and critical analysis of preclinical anticancer vaccination strategies. Exp Biol Med 2007; 232: 1130–41.*

4. *Luiten RM, Kueter EW, Mooi W, et al. Immunogenicity, including vitiligo, and feasibility of vaccination with autologous GM-CSF-transduced tumor cells in metastatic melanoma patients. J Clin Oncol 2005; 23 (35): 8978–91.*

14. Лицам, успешно освоившим соответствующую дополнительную профессиональную программу и прошедшим итоговую аттестацию, выдается удостоверение о повышении квалификации.

15. Программа составлена кафедрой медицинской биохимии и биотехнологии и одобрена Советом Института биомедицины и фармации РАУ.