

«УТВЕРЖДАЮ»

Декан биологического факультета МГУ

Академик

М.Н.Кирпичников

2015 г.



Рабочая программа дисциплины (модуля)

1. Код и наименование дисциплины (модуля): «МЕХАНИЗМЫ ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ»
2. Уровень высшего образования – подготовка научно-педагогических кадров в аспирантуре.
3. Направление подготовки – 06.06.01 Биологические науки. Направленность (профиль) программы – **Иммунология**.
4. Место дисциплины (модуля) в структуре ООП: вариативная часть ООП (осенний семестр), спецкурс по выбору (читается на кафедре иммунологии)
5. Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы (компетенциями выпускников)

Формируемые компетенции (код компетенции)	Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю)
<i>УК-1: Способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях</i>	Владеть: навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В1 (УК-1) Владеть: навыками критического анализа и оценки современных научных

	<p>достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях</p> <p>Код В2 (УК-1)</p>
<p>УК-2 Способность проектировать и осуществлять комплексные исследования, в том числе междисциплинарные, на основе целостного системного научного мировоззрения с использованием знаний в области истории и философии науки.</p>	<p>Знать: методы научно-исследовательской деятельности</p> <p>Код З1 (УК-2)</p>
<p>УК-3: Готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач</p>	<p>Владеть: технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке</p> <p>Код В2 (УК-3)</p>
<p>УК-4: Готовность использовать современные методы и технологии научной коммуникации на государственном и иностранном языке</p>	<p>Владеть: навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках</p> <p>Код В1 (УК-4)</p> <p>Знать: стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках</p> <p>Код З2 (УК-4)</p>
<p>ОПК-1 Способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий</p>	<p>Уметь: собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа</p>

Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) приведены в Приложении.

6. Объем дисциплины (модуля) составляет 3 зачетных единицы, всего 108 академических часов, из которых 28 часов составляет контактная работа аспиранта с преподавателем (28 часов занятий лекционного типа) и 80 часов составляет самостоятельная работа аспиранта (выполнение домашних заданий).

7. Входные требования для освоения дисциплины (модуля), предварительные условия:

ЗНАТЬ: цитологии, клеточной биологии, молекулярной биологии, иммунологии (на уровне программ специалиста/магистра), теоретические и методологические основы биологических научных исследований.

УМЕТЬ: выработать на основе рационального анализа экспериментальных результатов свою точку зрения в вопросах иммунологии и цитологии и отстаивать ее во время дискуссии со специалистами и неспециалистами; читать и реферировать научную литературу в области иммунологии и цитологии, в том числе на иностранных языках, при условии соблюдения научной этики и авторских прав.

ВЛАДЕТЬ: современными информационно-коммуникационными технологиями, иностранным языком.

8. Образовательные технологии: классические лекционные технологии.

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

Наименование и краткое содержание разделов и тем дисциплины (модуля), форма промежуточной аттестации по дисциплине (модулю)	Всего (часы)	В том числе								
		Контактная работа (работа во взаимодействии с преподавателем), часы из них					Самостоятельная работа обучающегося, часы из них			
		Занятия лекционного типа	Занятия семинарского типа	Групповые консультации	Индивидуальные консультации	Учебные занятия, направленные на проведение текущего контроля успеваемости коллоквиумы, практические занятия и др)*	Всего	Выполнение домашних заданий	Подготовка рефератов и т.п.	Всего
Вводная лекция. Концепция гибели клеток	6	2					2	4		4
Инструктивный апоптоз, его лиганды, рецепторы, медиаторы и белковые модули	6	2					2	4		4
Роль митохондрий в гибели клеток	10	2					2	8		8
Митохондриально-направленные антиоксиданты	6	2					2	4		4
Протеазы, участвующие в гибели клеток	10	2					2	8		8
Митохондрии в опухолевых клетках – что в них особенного?	6	2					2	4		4
Роль p53 в ПКГ	10	2					2	8		8

Система CD95 и системная биология механизмов ПКГ	6	2					2	4		4
Некроптоз	10	2					2	8		8
Аутофагия	6	2					2	4		4
In vivo veritas – проявление мутаций в генах каскадов ПКГ в контексте целого организма	10	2					2	8		8
Методы исследования механизмов ПКГ	22	6					6	16		16
Промежуточная аттестация - зачет										
Итого	108	28					28	80		80

10. Учебно-методические материалы для самостоятельной работы аспирантов.

Конспекты лекций, аудио- и видеозаписи лекций, файлы презентаций лекций, основная и дополнительная учебная литература (см. п.11)

11. Ресурсное обеспечение:

Основная литература

1. Alberts B. et al. Molecular biology of the cell. — 5th edition. — Garland science, 2008. — 1601 p. — ISBN 978-0-8153-4105.
2. Banfalvi G. Apoptotic chromatin changes. — Springer science + Business media B. V., 2009. — 412 p. — ISBN 978-1-4020-9560-3.
3. Барышников А. Ю., Шишкин Ю. В. Иммунологические проблемы апоптоза. — М.: Эдиториал УРСС, 2002. — 320 с. — 1000 экз. — ISBN 5-8360-0328-9.

Дополнительная литература

Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет»

1. Сайт кафедры иммунологии биологического факультета МГУ - <http://immunology.bio.msu.ru>
2. Сайт биологического факультета МГУ - <http://www.bio.msu.ru/>
3. Сайт программы Онкоиммунология - <http://www.oncoimmunology.ru>

Перечень используемых информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса, включая программное обеспечение, информационные справочные системы (при необходимости):

Описание материально-технической базы.

Кафедра иммунологии биологического факультета МГУ располагает необходимым аудиторным фондом, компьютерами, проекторами и экранами, аудиоаппаратурой.

12. Язык преподавания: русский

13. Преподаватель (преподаватели): профессор кафедры иммунологии С.А. Недоспасов, профессор факультета фундаментальной медицины Б.Д. Животовский.



**Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) «МЕХАНИЗМЫ ПРОГРАММИРУЕМОЙ
КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ»
на основе карт компетенций выпускников**

РЕЗУЛЬТАТ ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю)	КРИТЕРИИ и ПОКАЗАТЕЛИ ОЦЕНИВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю), баллы БРС					ОЦЕНОЧНЫЕ СРЕДСТВА
	1, 0	2 1-29	3 30-59	4 60-89	5 90-100	
Владеть: навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В1 (УК-1)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Владеть: навыками критического анализа и оценки современных научных достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В2 (УК-1)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- - индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Знать: методы научно-исследовательской деятельности Код З1(УК-2)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет

Владеть: технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код В2(УК-3)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Знать: стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код З2(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Владеть: навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код В1(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Уметь: собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет

Фонды оценочных средств, необходимые для оценки результатов обучения

Примеры вопросов к промежуточному контролю (темы рефератов, вопросы для индивидуального собеседования):

1. Классификация типов клеточной гибели.
2. Основные пути гибели клеток
3. Передача сигнала ПКГ
4. Функции митохондрий в клетке и регуляции её метаболизма
5. Механизмы образования АФК в митохондриях
6. Какие семейства протеаз, принимают участие в гибели клеток?
7. Независимые от транскрипции про-апоптотические функции p53
8. Примеры аутофагии. Для чего используется данный вид ПКГ?
9. Методология генетических нокаутов.
10. Перечислите методы исследования ПКГ, дайте их краткое описание

ПРОГРАММА

зачета по спецкурсу «МЕХАНИЗМЫ ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ»

Тема № 1. Концепция гибели клеток

Роль гибели клеток *in vivo*. Классификация типов клеточной гибели. Морфология апоптоза и некроза. Воспаление - неотъемлемая характеристика патологического некроза, связанная с отсутствием фагоцитоза. Роль клеточной гибели в развитии организма. Филогенез гибели клеток. Стадии клеточной гибели. Основные пути гибели клеток: внешний и митохондриальный. Основные семейства белков, участвующих в регуляции гибели клеток. Различия в чувствительности клеток к гибели и времени ее развития. Основные клеточные компартменты принимающие участие в гибели клеток. Дефицит или ускоренная гибель клеток и последствия приводящие к развитию болезней, ассоциированных с гибелью клеток.

Тема № 2. Инструктивный апоптоз, его лиганды, рецепторы, медиаторы и белковые модули

История открытия ФНО. Семейство ФНО и ФНО рецепторов. Подсемейство "рецепторов смерти": TNFR1, CD95, DR3, DR4-5, EDAR. Исключения - NGFR и DR6. ФНО-Рр55 и FAS, откуда возник "домен смерти". Элаймент первичных структур и трехмерные "фолды" доменов гомотипических взаимодействий в DD, DED, CARD. Передача сигнала ПКГ от CD95 (без деталей, и без объяснения, что такое DISC) и ФНОР (более подробно). Почему ФНО по умолчанию не убивает большинство клеток. Система EDA-EDAR. Система ФНО в эволюции - дрозофила. Возможность некоторых рецепторов ФНО без DD индуцировать апоптоз через другие посредники.

Тема № 3. Роль митохондрий в гибели клеток

Функции митохондрий в клетке не ограничиваются синтезом АТФ для клеточных нужд. Митохондрии принимают участие в поддержании клеточного гомеостаза кальция, в митохондриях происходит образование активных форм кислорода, которые в физиологических концентрациях вовлечены в регуляцию метаболизма, тогда как в больших количествах способны нанести клетке непоправимый ущерб.

Многочисленные экспериментальные данные указывают на митохондрии, как на органеллы, активно участвующие в различных формах клеточной гибели. В частности, пермеабилзация внешней мембраны митохондрий и выход белков из межмембранного пространства является тем ключевым событием, после которого гибель клетки становится неотвратимой.

Пермеабилзация внешней митохондриальной мембраны происходит, в основном, по двум механизмам – образование поры во внешней мембране митохондрий с участием проапоптотных белков (Bax, Bak, Bid), и в результате, так называемой, индукции неспецифической проницаемости митохондрий вследствие открытия поры во внутренней митохондриальной мембране. Этот процесс тесно связан со способностью митохондрий аккумулировать ионы кальция, и может принимать участие как в апоптозе, так и в некрозе. Ключевым фактором, определяющим тип клеточной гибели является уровень АТФ в клетке. Для завершения апоптотной программы необходим АТФ, тогда как в случае падения уровня АТФ клетка неминуемо наступит некроз. Таким образом, митохондрии не только принимают участие в различных формах клеточной гибели, но и способны служить своего рода переключателями между ними.

Тема № 4. Митохондриально-направленные антиоксиданты

Митохондрии участвуют во внутриклеточной передаче сигналов: про-апоптотные белки, Ca²⁺ и активные формы кислорода (АФК). Примеры участия митохондриальных АФК в развитии иммунного ответа: NLRP3-инфламасома и TRAF6-зависимая бактерицидная активность макрофагов. Механизмы образования АФК в митохондриях. Митохондриально-направленные соединения – катионы, проникающие через мембрану. Антиоксиданты. Тестирование препаратов *in vitro*. Примеры эффективного антиапоптотного, противовоспалительного и про-дифференцировочного действия. Мегапроект «Практическое использование ионов Скулачева».

Тема № 5. Протеазы, участвующие в гибели клеток

Семейства протеаз, принимающих участие в гибели клеток. Апоикальные (инициирующие) и "расщепляющие" группы каспаз. Платформы активации каспаз. Доменные структуры каспаз. Функциональное отличие каспаз, имеющих различные домены. Регулирование каспаз: биохимическое, ингибирующее, протеолитическое. Последовательность между активацией каспаз, биохимическими и морфологическими изменениями в гибнущих клетках. Функциональные классы белков расщепляющиеся каспазами. Типы гибели, в которых активируются каспазы. Участие каспаз в рецепторном, митохондриальном и ядерном механизмах апоптоза. Внутриклеточная локализация каспаз. Неапоптотические функции каспаз. Фенотипические изменения как результат нокаута каспаз. Роль протеаз в кросс-токе между апоптозом и аутофагией. Роль катепсинов в гибели клеток. Внутриклеточные ингибиторы каспаз. Роль протеасом в развитии гибели клеток.

Тема № 6. Митохондрии в опухолевых клетках – что в них особенного?

В двадцатых годах прошлого века Отто Варбург заметил, что опухолевые клетки восполняют потребности в АТФ за счет гликолиза даже в аэробных условиях, когда, согласно Луи Пастеру, гликолиз должен быть подавлен. Подобное поведение опухолевых клеток получило название гликолитический сдвиг. Это обусловлено тем, что быстро пролиферирующие клетки опухоли оказываются в гипоксическом окружении, что заставляет их стимулировать гликолиз. В этом первоочередную роль играет так называемый фактор, индуцируемый гипоксией (hypoxiainduciblefactor, HIF). Оказалось, что HIF способен не только стимулировать гликолиз, но и подавлять активность митохондрий, вследствие чего, митохондрии стабилизируются, становятся более устойчивыми к повреждающим факторам, и, как следствие, при этом происходит подавление митохондриальных путей в апоптозе.

Таким образом, одной из стратегий борьбы со злокачественными новообразованиями может послужить использование митохондрий в качестве мишеней, с целью дестабилизировать эти органеллы, способствовать пермеабиллизации внешней митохондриальной мембраны, и вызывать выход проапоптотических белков.

Тема № 7. Роль p53 в ПКГ

Регуляция уровня и активности опухолевого супрессора p53. Факторы, влияющие на выбор между остановкой клеточного цикла и индукцией апоптоза при активации p53. Зависимость набора генов- мишеней, которые p53 активирует или репрессирует, от уровня p53 и его пост-трансляционных модификаций. Транскрипционные мишени p53, связанные с остановкой клеточного цикла, репарацией ДНК или апоптозом. Стимуляция состояния клеточного старения (сенесенс) посредством p53.

Регулирование рецепторного и митохондриального пути индукции апоптоза посредством p53. Независимые от транскрипции про-апоптотические функции p53. Индукция апоптоза при транслокации p53 в митохондрии. Антиоксидантное и прооксидантное действие белка p53.

Тема № 8. Система CD95 и системная биология механизмов ПКГ

CD95, основные домены. PLAD, DD. Комплекс DISC. Основные молекулы, образующие комплекс DISC: CD95, FADD, прокаспазы-8/10, c-FLIP и их основные структурные черты. Механизм активации прокаспазы-8 через образование гомодимеров и ded- цепей. Роль прокаспазы-10. Различная роль коротких и длинных изо форм белка c- FLIP в активации прокаспазы -8. Сигнальные пути downstream от комплекса DISC: тип I и тип II клеток. Системная биология/ математическое моделирование биологических процессов -зачем оно нужно. Ординарные дифференциальные уравнения ,примеры из моделирования комплекса DISC, активации каспазы-8 и ингибирования активации каспазы-8 при помощи белков c- FLIP.

Тема № 9. Некроптоз

Три основных типа клеточной гибели: апоптоз, некроптоз/некроз, аутофагия. Различия в морфологии этих трех типов клеточной гибели и особенности морфологии некроптоза/ некроза. История открытия некроптоза как типа программируемой клеточной гибели. Понятие некроптоза как программируемой

клеточной гибели и некроза как спонтанного типа смерти. Основные участники некроптоза киназы *rip1/rip3*. Их доменная организация, их модификации. *Nec1* как ингибитор киназы *rip1* и некроптоза. Комплексы некросома/Рипоптосома. Основные молекулы входящие в состав комплекса: *rip1/rip3*, *fadd*, *Caspase-8*, *c-Flip*. Деубиквитилирование белка *rip1* и фосфорилирование белков *rip1/rip3* как основа для индукции некроптоза. Индукция некроптоза при активации *tnfr*, *cd95*, *TLR*, генотоксического стресса. Роль изоформ белка *c-Flip* в индукции и ингибировании некроптоза. Сигнальные пути *downstream* от активации некросома/Рипоптосома.

Тема № 10. Аутофагия

Виды аутофагии. Стадии аутофагии. Образование фагофора, *ULK1/ULK2* комплекс, роль протеинкиназы *mTORC1*, роль белка *Bif1*. Регуляторная роль комплексов *PtdIns3K* и белка *Beclin-1*. Конъюгация *Atg5-Atg12*, процессинг *LC3* и встраивание в мембрану *LC3B-II*, замыкание мембраны и образование аутофагосом. Слияние аутофагосом с лизосомами с образованием аутолизосом. Позитивная и негативная регуляция аутофагии посредством опухолевого супрессора *p53*. Роль белков семейства *Bcl2*.

Причинно-следственные связи между аутофагией и клеточной смертью. Критерии клеточной смерти от аутофагии. Взаимная регуляция аутофагии и апоптоза.

Тема № 11. *Invivo*veritas – проявление мутаций в генах каскадов ПКГ в контексте целого организма

Методология генетических нокаутов. Интерпретация нокаутов гомологичных генов. Вырожденные и невырожденные функции. Анализ и интерпретация летальных фенотипов. Множественные нокауты. Примеры ошибочного трактования нокаутных фенотипов.

Панель нокаутов генов каспаз. Ошибочность первоначальных работ по каспазам 1 и 3. Фенотипы нокаутов компонентов *DISC*. Каспаза 8 и некроптоз (*RIP3*). Фенотипы двойных и тройных нокаутов.

Фенотипы нокаутов компонентов апоптосома. Роль генетического бэкграунда.

Генетические заболевания человека связанные с мутациями в компонентах каскадов ПКГ.

Тема № 12. Методы исследования механизмов ПКГ

Основные различия между апоптозом и некрозом. Морфологические методы исследования гибели клеток. Биохимические методы исследования апоптоза.

Анализ протеаз, участвующих в гибели клеток. Анализ изменений в хроматине гибнущих клеток. Методы *in vivo*. Методы анализа некроптоза. Методы анализа аутофагии. Предостережения при оценке и классификации гибели клеток. Методы исследования механизмов ПКГ.