



**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 – **Клеточная биология, цитология, гистология.**
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)

<b>Формируемые компетенции (код компетенции)</b>	<b>Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю)</b>
<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>	<b>Владеть:</b> навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В1 (УК-1) <b>Владеть:</b>

	<p>достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях</p> <p>Код <b>В2 (УК-1)</b></p>
<p><b>УК-2</b> 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><b>Знать:</b> методы научно-исследовательской деятельности</p> <p>Код <b>З1 (УК-2)</b></p>
<p><b>УК-3:</b> Готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач</p>	<p><b>Владеть:</b> технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке</p> <p>Код <b>В2 (УК-3)</b></p>
<p><b>УК-4:</b> Готовность использовать современные методы и технологии научной коммуникации на государственном и иностранном языке</p>	<p><b>Владеть:</b> навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках</p> <p>Код <b>В1 (УК-4)</b></p> <p><b>Знать:</b> стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках</p> <p>Код <b>З2 (УК-4)</b></p>
<p><b>ОПК-1</b> Способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий</p>	<p><b>Уметь:</b> 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	<b>6</b>	2					2	4		<b>4</b>
Некроптоз	<b>10</b>	2					2	8		<b>8</b>
Аутофагия	<b>6</b>	2					2	4		<b>4</b>
In vivo veritas – проявление мутаций в генах каскадов ПКГ в контексте целого организма	<b>10</b>	2					2	8		<b>8</b>
Методы исследования механизмов ПКГ	<b>22</b>	6					6	16		<b>16</b>
<b>Промежуточная аттестация - зачет</b>										
<b>Итого</b>	<b>108</b>	<b>28</b>					<b>28</b>	<b>80</b>		<b>80</b>

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,	2	3	4	5	
<b>Владеть:</b> 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
<b>Владеть:</b> 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
<b>Знать:</b> методы научно-исследовательской деятельности Код З1(УК-2)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет

<b>Владеть:</b> 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
<b>Знать:</b> 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
<b>Владеть:</b> 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
<b>Уметь:</b> 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 проапоптозных 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 апоптозной 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-апоптозные белки, Ca<sup>2+</sup> и активные формы кислорода (АФК). Примеры участия митохондриальных АФК в развитии иммунного ответа: NLRP3-инфламмоса 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 антиапоптозного, противовоспалительного и про-дифференцировочного действия. Мегапроект «Практическое использование ионов Скулачева».

### **Тема № 5. Протеазы, участвующие в гибели клеток**

Семейства протеаз, принимающих участие в гибели клеток. Апикальные (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.