

НАЗВА ДИСЦИПЛІНИ: «STEM CELLS» («СТОВБУРОВІ КЛІТИНИ»)

**Перелік дисциплін вільного вибору аспіранта
 ДВА.03.01.16**

ВИКЛАДАЧ:

Півень Оксана Олександрівна, доктор біол. наук, провідний н.с. співробітник відділу генетики ІМБГ НАН України, o.o.piven@imbg.org.ua

МОВА ВИКЛАДАННЯ: українська, англійська

ЗАГАЛЬНЕ НАВАНТАЖЕННЯ: 3 кредити ЄКТС

Заняття в аудиторії: 30 годин (12 годин лекцій, 8 годин – семінари, 8 годин модульні контрольні роботи, та 2 години консультацій).

Самостійна робота слухачів курсу: 60 години.

АНОТАЦІЯ

Дисципліна «**Стовбурові клітини**» належить до переліку дисциплін вільного вибору аспіранта. Вона забезпечує особистий і професійний розвиток аспіранта та спрямована на формування бази знань, достатньої для подальшої успішної самостійної дослідницької роботи у галузях клітинної біології, цитології, гістології молекулярній біології та генетиці.

МЕТА І ЗАВДАННЯ КУРСУ:

Підготувати фахівців для фундаментальної та прикладної науки у галузях клітинної біології, цитології, гістології молекулярній біології та генетики, забезпечити аспірантів сучасними теоретичними та методологічними знаннями у області біології стовбурової клітини, розвинути здатність формулювати наукові та прикладні завдання та пропонувати підходи для їхнього вирішення та критичного аналізу результатів. Дисципліна спрямована на розвиток наукового та особистого потенціалу аспіранта.

РЕЗУЛЬТАТИ НАВЧАННЯ, МЕТОДИ ВИКЛАДАННЯ І ФОРМИ ОЦІНЮВАННЯ

Результати навчання	Методи викладання і навчання	Форми оцінювання
Знати основи клітинної біології, суть теорії клітин, основи молекулярної генетики та основні поняття сигнально-регуляторних мереж клітин; основні методи роботи з культурою клітин <i>in vitro</i> , особливості клітинних ліній та первинних клітинних культур, основні генетичні, біохімічні та гістологічні методи	Лекції та семінарські заняття, презентація дослідження, підготовка власної доповіді	Індивідуальні завдання, модульні контрольні роботи

дослідження

Вміти: застосовувати сучасні методологічні підходи у роботі із стовбуровими клітинами для вирішення наукових проблем у області клітинної біології еукаріотних клітинах;

ЗМІСТ КУРСУ

Вступне слово

Стовбурові клітин є сучасним напрямком клітинної біології, який ґрунтується на принципах та засадах клітинної біології і використовує сучасні досягнення у галузі молекулярної біології і генетики.

В курсі детально розглядаються фундаментальні знання у галузі біології стовбурових клітин, їхнє застосування у фундаментальній та прикладній біології, молекулярне підґрунтя підтримки стовбуровості та методи маніпуляції геномами стовбурових клітин: I модуль (1 кредит) - Концепція стовбурової клітини, характеристика стовбурових клітин, ембріональні і дорослі стовбурові клітини. Систематика. Ієрархія; II модуль (1 кредит) – Плюрипотентність, диференціальний потенціал стовбурових клітин та основні сигнально-регуляторні механізми підтримання стовбуровості; III модуль (1 кредит) – Клонування, терапевтичне клонування. Створення нових модельних об'єктів для завдань прикладної і фундаментально науки (нокауту генів, умовні нокауту генів); IV модуль (1 кредит) – Спрямоване диференціювання стовбурових клітин, успіхи застосування у клітинній терапії та трансплантології. Індуковані плюрипотентні стовбурові клітини.

Тематичний план

Змістовний модуль 1: Концепція стовбурової клітини, характеристика стовбурових клітин, ембріональні і дорослі стовбурові клітини. Систематика. Ієрархія

ЛЕКЦІЯ 1. (1 година)

Вступ до біології стовбурових клітин. Історія відкриття та дослідження стовбурових клітин. Концепція стовбурової клітини. Порівняльні характеристики з іншими клітинами, основні відмінності

ЛЕКЦІЯ 2. (1 година)

Ембріональні і дорослі стовбурові клітини. Джерело отримання. Систематика. Ієрархія. Морально етичні аспекти використання стовбурових клітин

Семінар 1. Соматичні стовбурові клітини. Застосування соматичних стовбурових клітин у клініці. Злоякісні стовбурові клітини. Теорія виникнення раку.

Модульний контроль №1

Контрольні запитання.

1. Концепція стовбурової клітини.
2. Етичні проблеми дослідження та використання стовбурових клітин.
3. Ембріональні стовбурові клітини.

4. Класифікація та характеристика соматичних стовбурових клітин.
5. Самовідновлення та підтримка плюрипотентності у стовбурових клітин
6. Ракові стовбурові клітини.
7. Клітинна терапія із застосуванням стовбурових клітин
8. Мезенхімальні стовбурові клітини плаценти та кордової крові.
9. Плюрипотентність. Що таке диференціальний потенціал?
10. Ніші стовбурових клітин. Що таке Хоумінг?

Самостійна робота здобувачів.

Постійними завданнями для самостійної роботи є:

- робота над лекційним матеріалом з конспектом та рекомендованою літературою;
- виконання самостійних завдань;
- опрацювання частини лекційного матеріалу, винесеного на самостійне вивчення, а саме:
 1. Основні методології, що використовувалися та використовуються для ізоляції та характеристики стовбурових клітин. Короткий історичний огляд
 2. Сучасна законодавчо затверджена нормативна база, що регулює використання стовбурових клітин в Україні та країнах ЄС і США

Література: [1, 2, 3, 5, 7, 10]

Змістовний модуль 2: Плюрипотентність, диференціальний потенціал стовбурових клітин та основні сигнально-регуляторні механізми підтримання стовбуровості

ЛЕКЦІЯ 3. (1 година)

Плюрипотентність та диференціальний потенціал стовбурових клітин. Wnt та канонічний Wnt – сигналінги у підтриманні стовбуровості

ЛЕКЦІЯ 4. (1 година)

Плюрипотентність та диференціальний потенціал стовбурових клітин. Сигнально-регуляторні шляхи MAPK, Jak-STAT, Notch у регулюванні функцій стовбурових клітин.

Семінар 2. Методичні підходи вивчення сигнально-регуляторних каскадів клітини

ЛЕКЦІЯ 5. (1 година)

Плюрипотентність та диференціальний потенціал стовбурових клітин. Роль мікро РНК у підтриманні стовбуровості та диференціюванні.

Семінар 3. Методи біоінформатичного аналізу мікро РНК

Модульний контроль №2

Контрольні запитання.

1. Сигнальні шляхи та їхнє значення у підтриманні плюрипотентності.
2. Регулювання стану спокою та ініціювання диференціації
3. Порівняння сигнально-регуляторних механізмів стовбуровості ембріональних стовбурових клітин миші та людини
4. Наведіть приклади порушення функції канонічного Wnt сигналінгу у стовбурових
5. Роль мікрооточення у підтриманні стовбуровості.
6. Wnt– сигналінг у підтриманні стовбуровості та диференціюванні.
7. Як MAPK, Jak-STAT та Notch каскади регулюють функції стовбурових клітин
8. Які ростові фактори є необхідними для тривалого культивування стовбурових клітин
9. PcG, TGFb та Shh у підтриманні стовбуровості та ініціації диференціювання.

10. Що таке фідер? Його значення ?
11. Регуляція диференціювання мікро РНК
12. Які мікро РНК залучені у підтриманні стовбуровості?

Самостійна робота здобувачів.

Постійними завданнями для самостійної роботи є:

- робота над лекційним матеріалом з конспектом та рекомендованою літературою;
- виконання самостійних завдань;
- опрацювання частини лекційного матеріалу, винесеного на самостійне вивчення, а саме:

1. Загальні принципи спрямованого диференціювання стовбурових клітин *in vitro*.

Література: [3, 4, 7, 8]

Змістовний модуль 3: Клонування, терапевтичне клонування. Створення нових модельних об'єктів для завдань прикладної і фундаментально науки (нокауті генів, умовні нокауті генів).

ЛЕКЦІЯ 6. (1 година)

Клонування. Перенос соматичного ядра в енукейовану яйцеклітину. Терапевтичне клонування. Репродуктивне клонування.

ЛЕКЦІЯ 7. (1 година)

Створення нових модельних об'єктів для завдань прикладної і фундаментально науки
Генетично модифіковані організми. Перспективи трансгенних технологій.

ЛЕКЦІЯ 8. (1 година)

Створення нових модельних об'єктів для завдань прикладної і фундаментально науки.
Нокаут гену. CreLoxP рекомбінація. Створення knock-out та knock-in мишей

ЛЕКЦІЯ 9. (1 година)

Створення нових модельних об'єктів для завдань прикладної і фундаментально науки.
Умовний нокаут гену. Застосування умовнонокаутних тварин при вивченні процесів кардіогенезу та ремоделювання дорослого серця.

ЛЕКЦІЯ 10. (1 година) Редагування геному людини. CRISPR-Cas9 система та перспективи її застосування для редагування генних мутацій.

Семінар 4. Ознайомлення з принципами підбору та дизайну gRNA. Методи створення конструкцій для застосування CRISPR-Cas9.

Семінар 5. Ортологи CRISPR-Cas9 та їхнє застосування.

Модульний контроль №3

Контрольні запитання.

- 1 Перші роботи з переносу ядра
- 2 Що таке клонування? Види клонування?
- 3 Дати визначення терапевтичному клонуванню. Перспективи застосування.
- 4 Репродуктивне клонування. Морально-етичні аспекти.

- 5 Що таке ГМО?
- 6 Навести приклади застосування трансгенних організмів у сучасних біомедичних технологіях
- 7 Перерахувати основні етапи створення трансгенного організму
- 8 Що таке GFP
- 9 Що таке нокаут та гену?
- 10 Принципи роботи CreLoxP рекомбінація
- 11 Створення knock-out та knock-in мишей
- 12 Що таке умовний нокаут гену?
- 13 Навести приклади застосування умовного та конститутивного нокауту генів
- 14 Перспективи редагування геному.
- 15 CRISPR-Cas9 система та її застосування для редагування генних мутацій.

Самостійна робота здобувачів.

Постійними завданнями для самостійної роботи є:

- робота над лекційним матеріалом з конспектом та рекомендованою літературою;
- виконання самостійних завдань;
- опрацювання частини лекційного матеріалу, винесеного на самостійне вивчення, а саме:

1. Клітинна терапія нейродегенеративних захворювань людини. Прогрес та відкриті питання.

2. Стовбурові клітини крові. Основні етапи гемопоєзу, його порушення та асоційовані із ними патології людини.

Література: [3, 5, 10, 11]

Змістовний модуль 4: Спрямоване диференціювання стовбурових клітин, успіхи застосування у клітинній терапії та трансплантології. Індуковані плюрипотентні стовбурові клітини.

ЛЕКЦІЯ 11. (1 година)

Спрямоване диференціювання стовбурових клітин. Фактори диференціювання. Індуковані плюрипотентні стовбурові клітини

Семинар 6. Остеобластна диференціація. Створення трансплантатів нового покоління

ЛЕКЦІЯ 12. (1 година)

Пряме перепрограмування соматичних клітин. Ретровірусні та аденовірусні системи доставки. Неінтегративні методи перепрограмування (міРНК, ростові фактори, CRISPR-Cas9) Індуковані плюрипотентні стовбурові клітини. Шлях від специфікованої соматичної клітини до стовбуровості. Фактори Яманака. Перспективи застосування.

Семинар 7. Методи перепрограмування клітин для клінічного застосування

Модульний контроль №4

Контрольні запитання.

- 1 Що таке спрямоване диференціювання стовбурових клітин?
- 2 Дати визначення та навести приклади факторів диференціювання.
- 3 Перспективи застосування диференційованих стовбурових клітин

- 4 Порівняти перспективи та медичні ризики застосування стовбурових клітин та продуктів отриманих із стовбурових клітин у клініці.
- 5 Що таке індуковані плюрипотентні стовбурові клітини
- 6 Фактори Яманака.
- 7 Еволюція напрямку індукції плюрипотентності соматичних клітин
- 8 Пряме перепрограмування соматичних клітин
- 9 Інтегративні методи та системи доставки при прямому перепрограмуванні
- 10 Перспективи застосування мiPНК при прямому перепрограмуванні?
- 11 Перспективи застосування CRISPR-Cas9 для прямого перепрограмування соматичних клітин
- 12 Клінічне застосування перепрограмованих соматичних клітин
- 13 Рости фактори, білки та інші методи не інтегративного перепрограмування соматичних клітин.

Самостійна робота здобувачів.

Постійними завданнями для самостійної роботи є:

- робота над лекційним матеріалом з конспектом та рекомендованою літературою;
- виконання самостійних завдань;
- опрацювання частини лекційного матеріалу, винесеного на самостійне вивчення, а саме:

1. Ембріональні стовбурові клітини як модельні об'єкти при медико-біологічних дослідженнях

Література: [1, 6, 8, 9, 11, 12]

- **Підсумковий контроль – екзамен.**

УМОВИ ВИЗНАЧЕННЯ НАВЧАЛЬНОГО РЕЙТИНГУ

Форми оцінювання	Кількість	Максимум балів за 1	Разом
Робота на заняттях	4	5	20
Виконання контрольної роботи	4	10	40
Доповідь (презентація)	4	5	20
Іспит			20
Разом			100

ВИМОГИ І КРИТЕРІЇ ОЦІНЮВАННЯ

Види робіт	Кількість балів за один вид робіт	Критерії оцінювання
Доповідь (презентація)	5	Доповідь підготовлена і виголошена вчасно, з максимальним використанням рекомендованої літератури. Доповідь структурована, логічна, послідовна;

		містить елементи проблемного підходу. Доповідач демонструє володіння матеріалом і здатність відповісти на запитання аудиторії.
	3-4	Доповідь підготовлена і виголошена вчасно, але без дотримання тих чи тих вимог, викладених вище.
	1-2	Доповідь підготовлена із запізненням та/або містить прогалини та помилкові твердження. Доповідач не демонструє належної підготовки та/або не готовий відповідати на змістовні запитання.
Робота на зняттях	5	Аспірант бере участь у конференції як дискусант.
	1-4	Аспірант задає змістовні запитання, висловлює аргументовані зауваження, бере участь у дискусії.
Контрольна робота	10	Роботу виконано і подано вчасно; автор демонструє належний рівень знань і розуміння теми, виявляє аналітичні здібності, здатність до самостійного, системного, логічного і послідовного мислення. Роботу оформлено відповідно до вимог.
	4-8	Роботу виконано і подано вчасно; автор демонструє достатню обізнаність із основними положеннями предмету теми у рамках курсу. Виклад має логічний і послідовний характер, однак у тексті наявні певні фактичні неточності. Окремих частинам викладу бракує аналітичного характеру.
	1-3	Роботу виконано і подано вчасно. Автор демонструє достатню обізнаність з матеріалом, однак роботі суттєво бракує систематичного аналізу й логічного та послідовного викладу. Робота містить фактичні неточності та/або необґрунтовані судження. Текст вирізняється значними мовно-стилістичними недоліками.
	0	Завдання не виконане у визначений викладачем термін або містить плагіат.

Порядок перерахунку рейтингових показників нормованої 100-бальної шкали оцінювання в національну шкалу та шкалу ЄКТС

За 100-бальною шкалою	За національною шкалою	За шкалою ЄКТС
	ІСПИТ	
91 – 100	Відмінно	A (відмінно)

81 – 90	Добре	В (дуже добре)
71 – 80		С (добре)
66 – 70	Задовільно	Д (задовільно)
60 – 65		Е (достатньо)
40 – 59	Незадовільно	FX (незадовільно – з можливістю повторного складання)
1 – 39		F (неприйнятно)

Мінімальний рівень оцінки за роботу в семестрі з курсу «**Стовбурові клітини**» (допуск до іспиту) складає 40 балів. У разі отримання оцінки «неприйнятно» (нижче 40 балів) здобувач не допускається до складання іспиту. У разі отримання оцінки «незадовільно» здобувач має право на два перескладання: викладачеві та комісії. Максимальна підсумкова оцінка після перескладання може бути лише «задовільно».

ПОЛІТИКА ДОБРОЧЕСНОСТІ

Виконання навчальних завдань і робота в курсі має відповідати вимогам «Кодексу Академічної доброчесності ІМБГ НАНУ», затвердженого Вченою радою ІМБГ НАН України 10 вересня 2019 року, http://imbg.org.ua/docs/education/IMBG_academic_integrity_code.pdf

ПЕРЕЛІК РЕКОМЕНДОВАНИХ ДЖЕРЕЛ

Основний:

1. *Embryonic Stem Cells -Differentiation and Pluripotent Alternatives*. Editor Michael S. Kallos. Publisher: InTech, Chapters published, 2011
2. *Adult Stem Cell Niches*. Editor Sabine Wislet-Gendebien. Publisher: InTech, Chapters published, 2014
3. Russell J. *Stem cells*. 2012. 102p.
4. *Stem Cell Biology in Normal Life and Diseases*. Editor Kamran Alimoghaddam Publisher: InTech, Chapters published, 2013
5. *Биология стволовых клеток и клеточные технологии*. В 2-х томах / Под. Ред. М.А. Пальцева. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», издательство «Шико», 2009.
6. *Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки*. С.П. Медведев, А.И. Шевченко, Т.Г. Сухих, С.М. Закиян. – Новосибирск: Издательство СО РАН, 2011.
7. Мензоров А.Г. *Эмбриональные стволовые клетки мыши и человека // ВЖГуС, 2013, Т. 17, № 2, С. 234 – 245*

8. *Regulatory Networks in Stem Cells. Editors: Rajasekhar, Vinagolu K. Stem Cell Biology and Regenerative Medicine 2009.*

Додатковий:

9. *Мензоров А.Г. Получение нейронов для клеточной терапии // ВЖГуС, 2014, Т. 18, № 4/3, С. 1042 – 1050.*
10. *Progress in Stem Cell Transplantation. Editor Taner Demirer Publisher: InTech, Chapters published, 2015*
11. *Tissue Engineering. Eite by John Fisher, Antonios Mikos, Joseph Bronzino. CRC Press. 2006.*
12. *Induced pluripotency: history, mechanisms, and applications. Matthias Stadtfeld¹, Konrad Hochedlinger Genes & Dev. 2010. 24:2239-2263*