



ЕЛЕКТИВНИЙ КУРС  
(курс за вибором)  
“ *Сучасні проблеми  
молекулярної  
біології* ”

Лекцію підготував – к.б.н.

доцент Павліченко

Віктор Іванович

[medbio@zsmu.zp.ua](mailto:medbio@zsmu.zp.ua)

*Запоріжжя*

*2015*

# Лекція № 8

## Генна терапія

### План

- 1. Розвиток генної терапії та її досягнення*
- 2. Вірусні і не вірусні вектори в генотерапії*

Генна терапія – нова  
галузь сучасної  
біомедицини, заснованої  
на введенні в організм  
хворого штучних  
генетичних конструкцій з  
лікувальною метою

# Типи генотерапії:

1) Соматична – уведення генів системно через кров (*in vivo*), локально – у певні тканини (*in situ*) та у виділені з організму клітини (*ex vivo*)

2) Фетальна – уведення генів в зиготу та ембріони (*in utero*).

# Генная терапия *in vivo*

# Генная терапия *ex vivo*

Терапевтический ген

Терапевтический ген

Конструирование рекомбинантного вектора на базе аденовируса, адено-ассоциированного вируса, лентивируса или плазмиды

Рекомбинант

Клетки донора

Биопсия

Печень

Генетическая модификация клеток

Факторы роста

Имплантация

Размножение клеток *in vitro*



## Розвиток генотерапії:

1972- Стенфорд.У-т, ДНК –це конструктор

1976- Genetech, трансгенні бактерії

1989- генетичні маркери лімфоцитів

1990- генотерапія (ГТ) імунodefіциту

1997- ГТ 2000 пацієнтів (рак, СНІД)

1999- помер від ГТ Д. Гелзінгер

2006- успіх ГТ в лікуванні меланоми

2007- успіх лікування хвороби Лебера

2011- лікування СНІДу (КТ)

2012- редагування геному (CRISPR/Cas.9)

2015- 120 млн. Б.Гейтс (2 роки – Лебера)

# Уільям Андерсен – 1990, США





# Ашанта де-Сільва (1990)



# ГЕНОТЕРАПИЯ EX VIVO



# Генно-інженерна конструкція для корекції спадкового імунодефіциту



- ген ADA (ДНК человека) - кодирует синтез фермента аденозиндезаминазы
- ген neo (ДНК бактерии) – контролирует устойчивость клеток к антибиотику неомицину,
- LTR (ДНК ретровируса) – длинные концевые повторы, содержат промотор для экспрессии терапевтического гена в лимфоцитах

# ***ВІДКРИТТЯ ТА ВИКОРИСТАННЯ CRISPR***

**1987 – у бактерій відкрита система CRISPR  
(кластерні регулярні короткі паліндромні  
повтори)**

**2010 – зясована захисна функція CRISPR**

**2013 – редагування геному клітин соми ссавців  
(Д. Черч, Ф. Чжан)**

**2015 – редагування геному клітин ембріонів  
людини (Цзюньцзю Хуан)**

**2015 – 120 млн. на дослідження по редагуванню  
соми людини при амаврозі Лебера (Фен Чжан)**

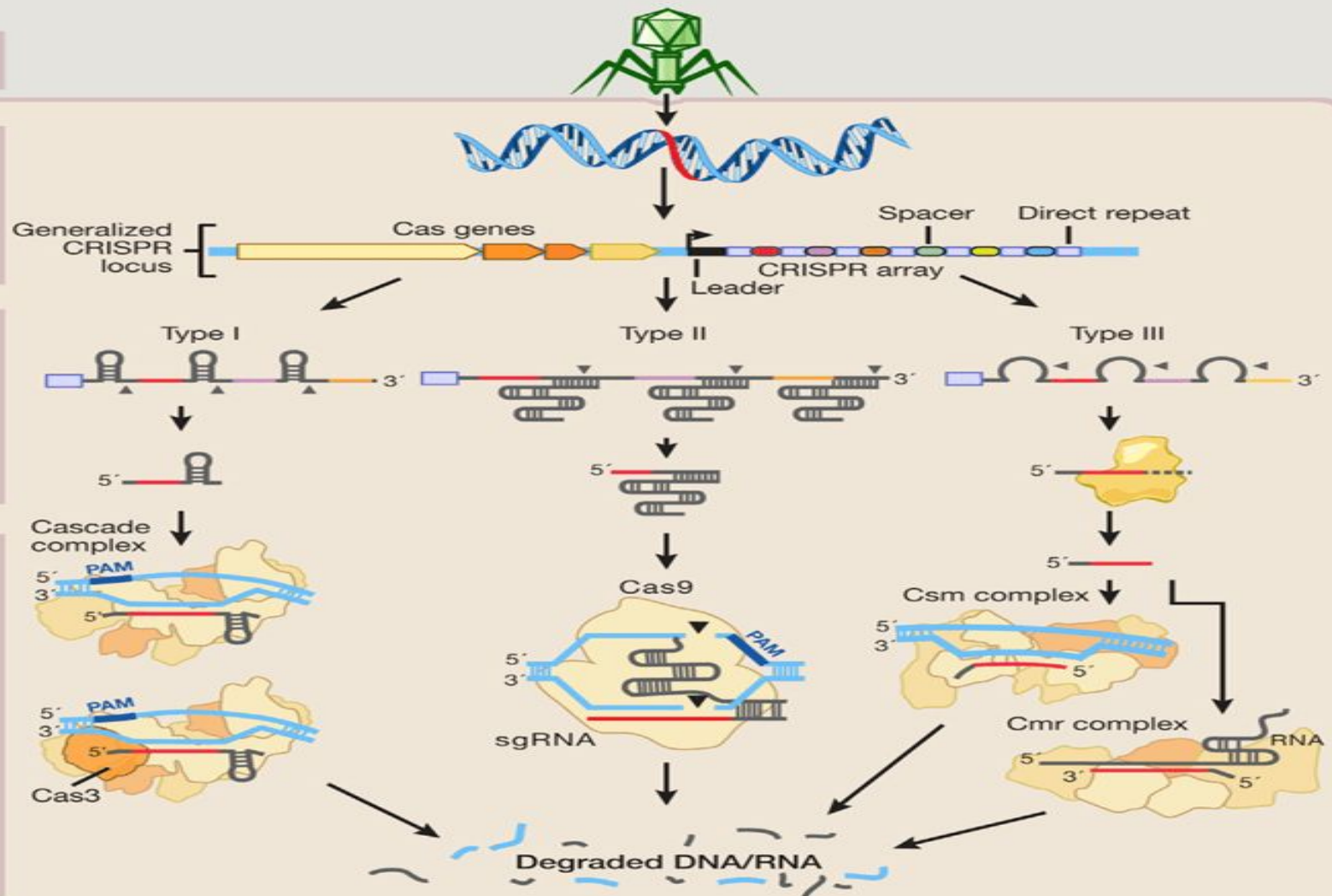
# Система для редагування геному

**Phage infection**

**Spacer acquisition**

**crRNA biogenesis and processing**

**Target degradation**



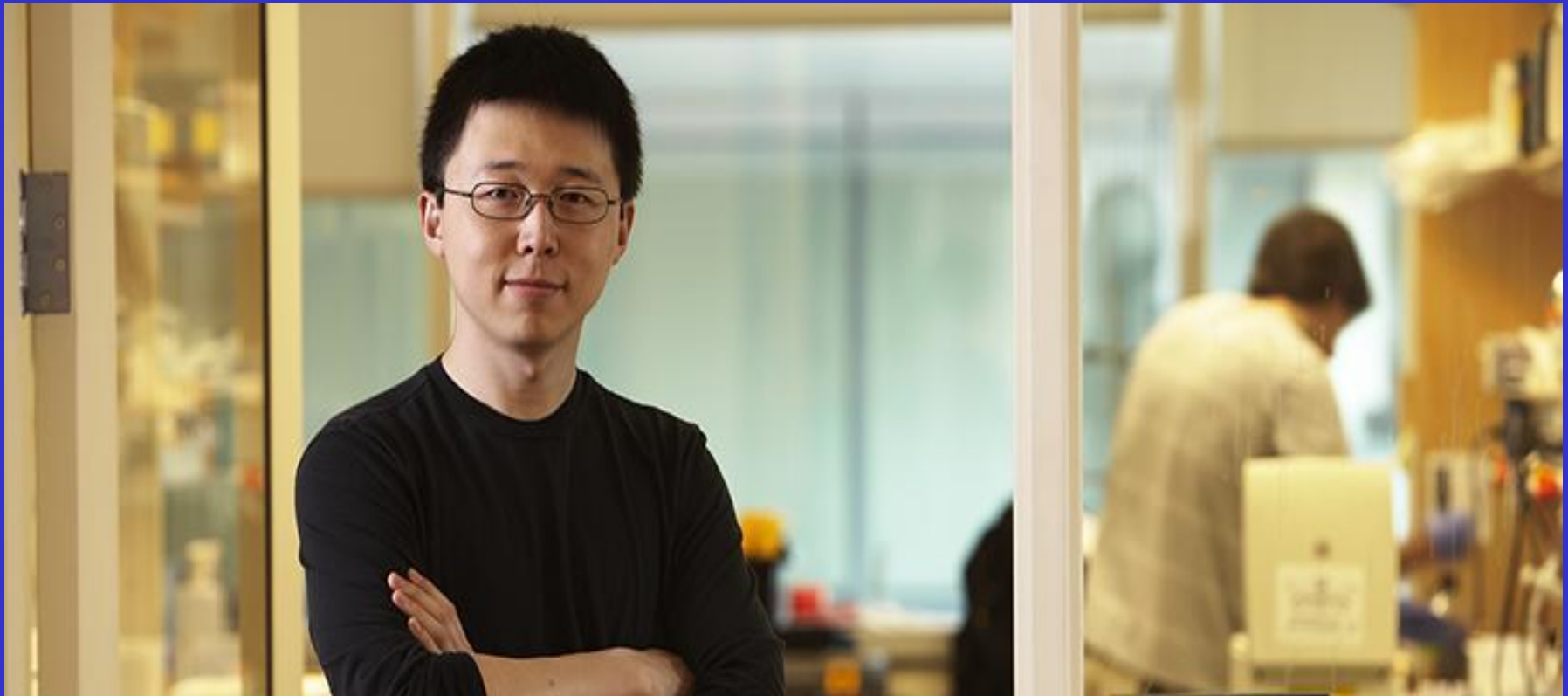


# ФЕТАЛЬНИЙ ДОСЛІД Ц. ХУАНА (2015)

- 1-у 86 (100%) зигот уведено CRISPR на 48 год (8 клітин – три поділи зиготи)
- 2-вижив 71 ембріон (82,5%)
- 3-проаналізували 54 ембріони (62,5%)
- 4-редагування геному відбулося у 28 ембріонах (32,4%)
- 5-ген бета-таласемії видалено лише у 4 ембріонів (4,62%)

ФАТАЛЬНИЙ РЕЗУЛЬТАТ – 4,62%!!!!!!!

**Feng Zhang (2015 – науковий саміт, США)**



**Investigator, McGovern  
Institute  
Assistant Professor**



## *2. Вірусні і невірусні вектори в генотерапії*

# Використання вірусних векторів в різних країнах



# У створенні векторів

## використовують:

1-Ретровіруси – 27%

2-Аденовіруси – 26%

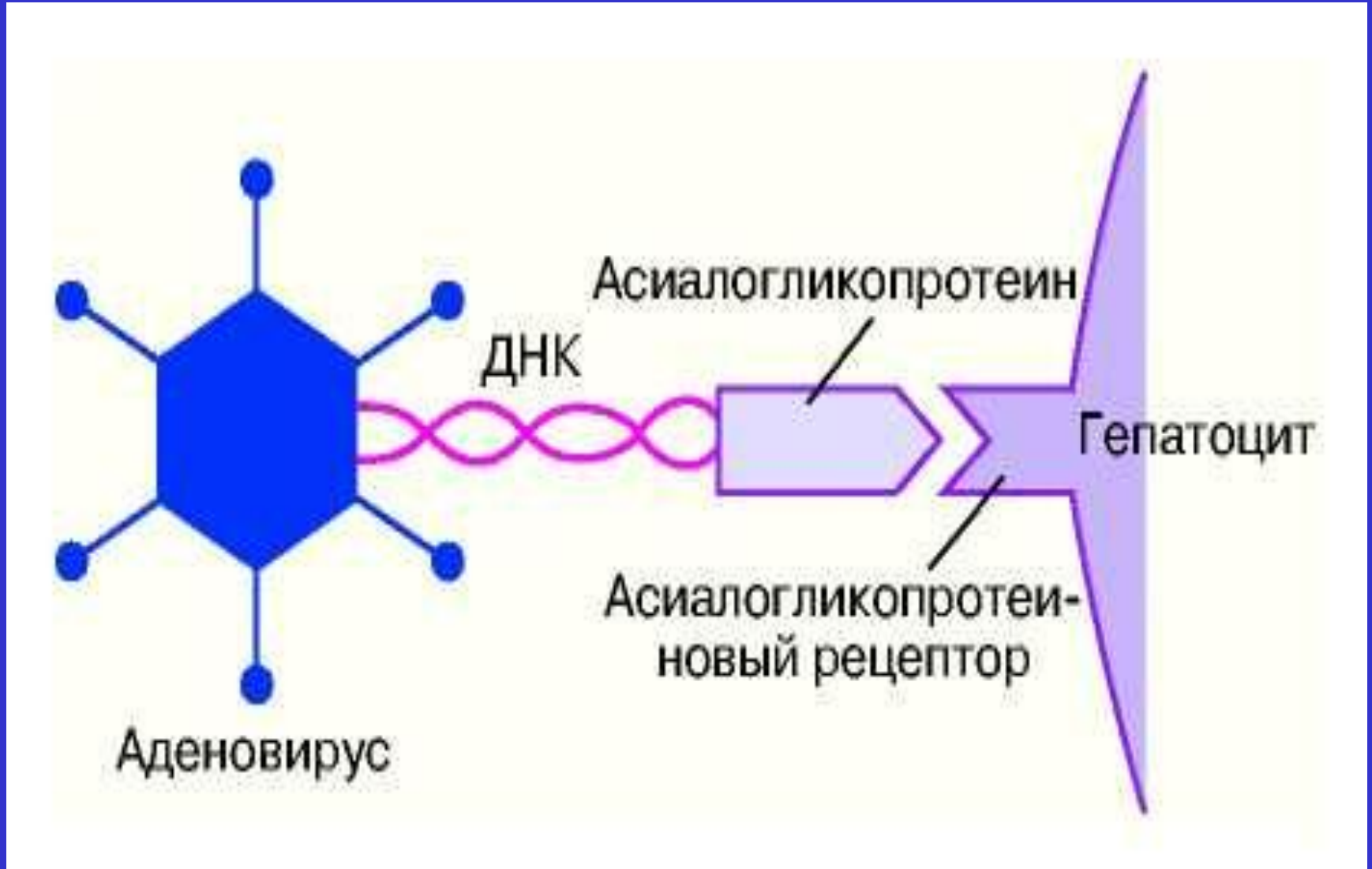
3-Аденоасоційовані віруси – 16%

4-Гола плазмідна ДНК – 15%

5-Вірус простого герпесу – 10%

6-Лентивіруси та інше – 6%.

# Схема рецепторного перенесения гена

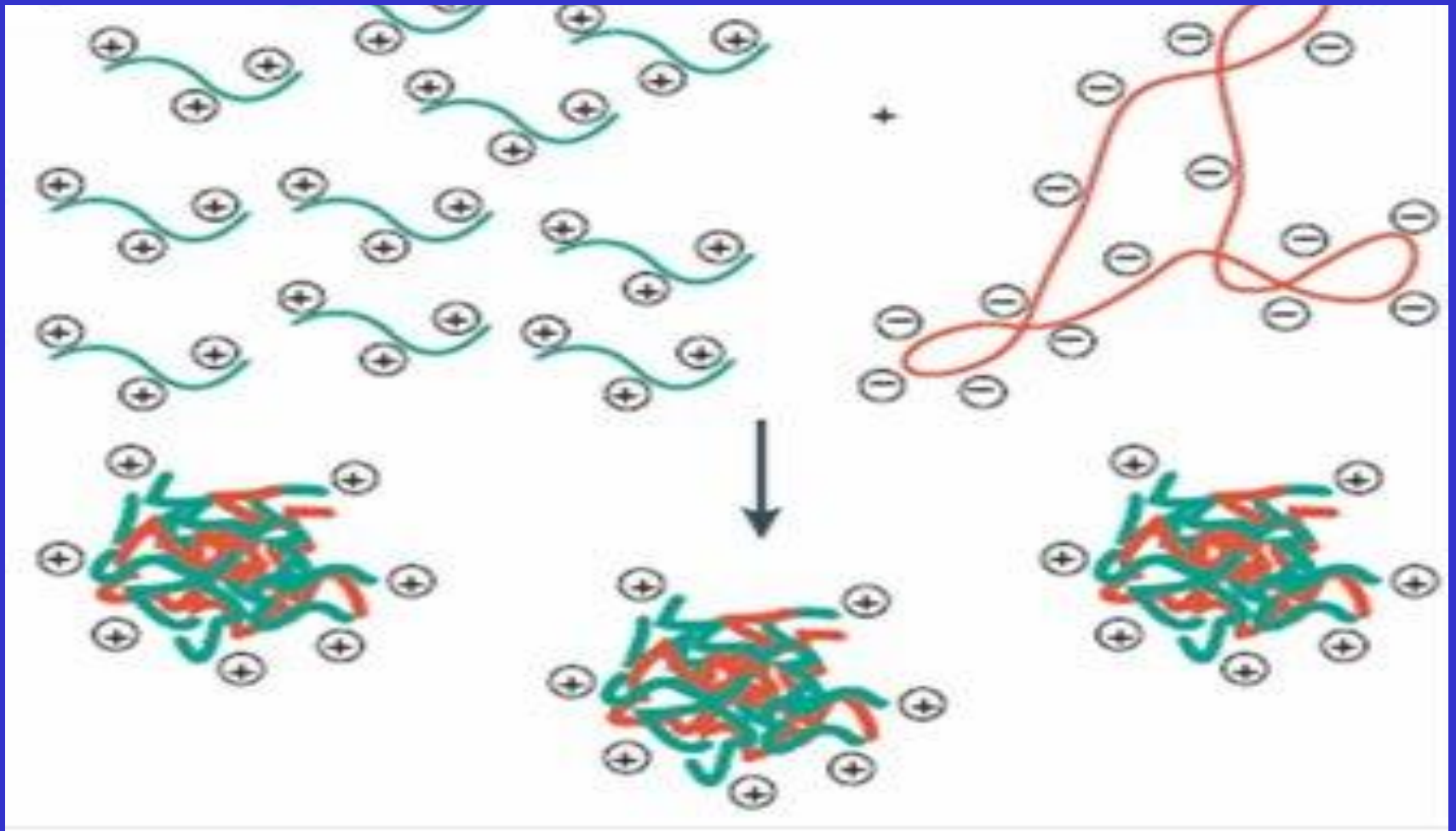


# Невірусні системи доставки генів:

1) Фізичні методи - мікроін'єкції, ін'єкція струменем, електропорація, заморожування-відтаювання, біобалістика

2) Хімічні методи - використанні солей деяких катіонів (наприклад кальцію), ДЕАЕ-декстрану, полілізину, ліпосом

# Схема утворення поліплексів

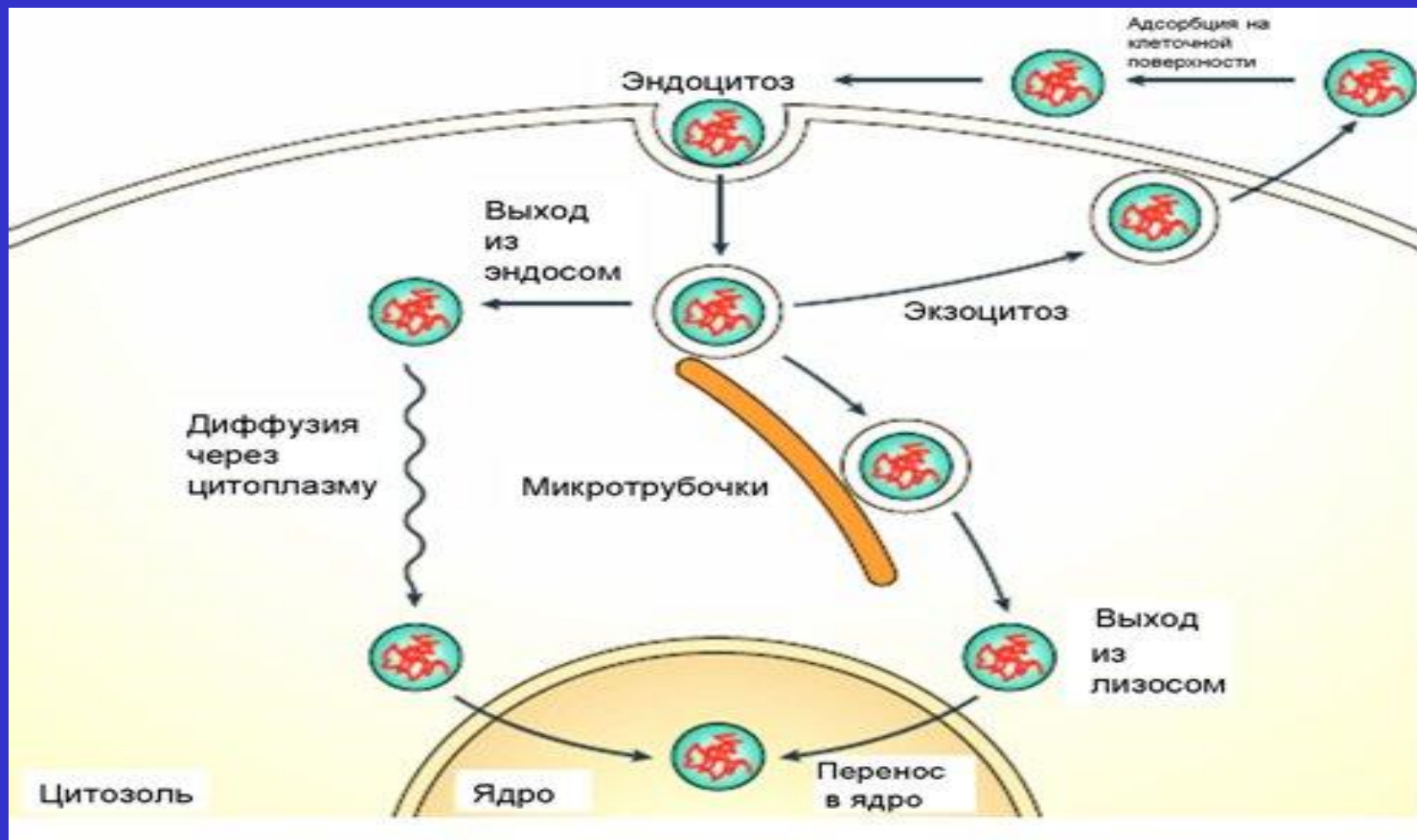


**В Україні дослідження в галузі генної терапії (ГТ) проводяться під керівництвом академіка Кордюма В.А. (Інститут молекулярної біології і генетики).**

**1. Розробляється ГТ гіперхолестеринемії (створена не вірусна молекул. конструкція).**

**2. Спільно з науковцями Ізраїлю розробляються підходи ГТ інсулінозалежного цукрового діабету.**

# Шляхи транспорту поліплексів





**Бажаю успіху!**