

АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ УДМУРТСКОЙ РЕСПУБЛИКИ  
«РЕГИОНАЛЬНЫЙ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОДАРЕННЫХ ДЕТЕЙ»

РАССМОТРЕНО

На заседании Методического совета

АОУ УР «РОЦОД»

Протокол № 3 от 24.08. 2020г.

УТВЕРЖДАЮ

Директор АОУ УР «РОЦОД»

Р.Р. Бякова

Приказ № 19/дог от 24.08. 2020г.



ПРИНЯТО

Решением Педагогического совета

АОУ УР «РОЦОД»

Протокол № 5 от 27.08. 2020г.

РАССМОТРЕНО

На заседании Экспертного совета

АОУ УР «РОЦОД»

Протокол № 3 от 27.08. 2020г.

Дополнительная общеразвивающая программа  
естественнонаучной направленности

«Генная инженерия»

Возраст детей 14-17 лет  
Срок реализации – 1 год

**Разработчик:** Иванова Марина Александровна,  
педагог дополнительного образования первой  
категории АОУ УР «РОЦОД»

## 1. Пояснительная записка

Дополнительная общеобразовательная общеразвивающая программа «Генная инженерия» естественнонаучной направленности, имеет продвинутый уровень сложности и ориентирована на развитие одаренности учащихся в области науки. Дополнительная общеобразовательная общеразвивающая программа «Генная инженерия» составлена на основании нормативных документов:

- Федерального закона «Об образовании в Российской Федерации» от 29.12.2012г. № 273-ФЗ (ст. 75) с изменениями, введенными в действие от 1 сентября 2020 года Федеральным законом от 31 июля 2020 года № 304-ФЗ;

- Порядка организации и осуществления образовательной деятельности по дополнительным общеобразовательным программам (Приказ Министерства просвещения Российской Федерации от 9 ноября 2018 г. №196 «Об утверждении Порядка организации и осуществления образовательной деятельности по дополнительным общеобразовательным программам» с изменениями, введенными в действие от 7 ноября 2020 года Приказом Министерства просвещения РФ от 30 сентября 2020 года № 533);

- Санитарно-эпидемиологических требований к организации воспитания и обучения, отдыха и оздоровления детей и молодежи (Постановление Главного государственного врача РФ от 28.09.2020 года №28 «Об утверждении СанПиН 2.4.3648-20«Санитарно-эпидемиологические требования к организациям воспитания и обучения, отдыха и оздоровления детей и молодежи»)

- Приказа Министерства просвещения РФ от 5 августа 2020 года №391 «Об организации и осуществлении образовательной деятельности при сетевой форме реализации образовательных программ»;

- Приказа Министерства образования и науки Российской Федерации от 23.08.2017 года № 816 «Об утверждении Порядка применения организациями, осуществляющими образовательную деятельность, электронного обучения, дистанционных образовательных технологий при реализации образовательных программ»

- Устава АОУ УР «РОЦОД»;

- Положения о дополнительной общеразвивающей программе АОУ УР «РОЦОД».

**Актуальность.** Биология – это самая быстро развивающаяся наука XXI века. В первую очередь это связано с появлением такого ее раздела как генная инженерия.

В рамках школьной программы на генную инженерию уделяется очень мало времени. Однако уже сейчас мы видим профессии, которые требуют знаний и навыков геномного редактирования. Многие высокорейтинговые конкурсы, олимпиады, такие как олимпиада НТИ, Конкурс проектов «Большие вызовы», ВсОШ включают в свою программу направление генного редактирования.

Генная инженерия это в первую очередь прикладная область биологии, поэтому большое значение имеет отработка практических навыков, для которой нужно дорогостоящее оборудование и расходный материал.

Благодаря созданию в Удмуртской Республики центра одаренных детей «ТАУ», здесь появилась, и лаборатория «БиоТехноЛаб» в которой есть достаточное количество оборудования для отработки навыков по генной инженерии.

Все это позволит ребятам изучить генную инженерию на хорошем уровне не только в теории, но и на практике и как следствие быть успешными в различных конкурсах, так и помочь им в выборе будущей профессии.

**Новизна:** Данная программа подразумевает большое количество практических занятий, которые возможны только в хорошо оснащённой лаборатории, что позволяет детям получить хорошие навыки по работе с лабораторным оборудованием в области геномного редактирования.

**Цель:** теоретическое и практическое ознакомление обучающихся с фундаментальными понятиями генной инженерии.

**Задачи:**

1. сформировать у обучающихся представление о предмете и методах генной инженерии;
2. расширить представление о круге фундаментальных и прикладных задач, решаемых с привлечением генно-инженерных методов;
3. сформировать навыки планирования молекулярно-генетических исследований;
4. сформировать у обучающихся практические навыки по проведению генно-инженерных экспериментов и умение интерпретировать получаемые результаты.

**Возраст обучающихся, участвующих в реализации программы:** программа рассчитана на детей в возрасте 14-17 лет.

**Содержание и объем стартовых знаний, необходимых для начального этапов освоения программы:** базовые знания в области генетики и молекулярной биологии: строение клетки, структуру молекул белка и нуклеиновых кислот.

Учебно-познавательная деятельность детей организуется с использованием следующих **методов обучения:** объяснительно-иллюстративных, практических, исследовательских, проблемных, дистанционных, кейс-метод.

В процессе изучения курса предусмотрена работа учащихся, с дополнительной литературой, ресурсами Интернет, что способствует их саморазвитию, самообразованию и формированию ключевых компетенций.

**Формы работы:** лекция, лабораторная работа, практическая работа, экскурсия, консультация, дистанционные занятия.

**Объём программы и срок реализации:** Программа рассчитана на 144 часа обучения и предусматривает недельную нагрузку по 2 часа 2 раз в неделю.

Занятия проводятся на базе АОУ УР «РОЦОД» с детьми в количестве до 10 человек.

По окончании программы дети переходят на выполнение индивидуального исследовательского проекта в области геномного редактирования и могут быть зачислены на профильную программу «Проектная академия: генетика».

## 2. Планируемые результаты

По завершении обучения по программе «Генная инженерия» учащийся имеет следующие результаты:

### 1. Предметные

*знать:*

- структуру и функции элементарной единицы наследственности – гена;
- молекулярные механизмы генетических процессов, основы генетической инженерии, популяционной и эволюционной генетики;
- строение и состав генома прокариотических и эукариотических организмов;
- возможности использования методов генетики в селекции растений, животных и в медицинской практике.
- основные методы создания банков генов и их использование для клонирования отдельных генов и анализа геномных последовательностей;
- основные этапы выделения, трансформации и клонирования отдельных генов.
- методы анализа, идентификации генов и их продуктов;
- методы создания эффективных конструкций для экспрессии генов;

*уметь:*

- выделять плазмидную и геномную ДНК;
- ставить реакции рестрикции и лигирования;
- проводить электрофоретический анализ ДНК;
- проводить ПЦР;
- трансформировать клетки бактерий и растений;
- отбирать рекомбинантные клоны;
- определять экспрессию генов;
- работать в программе Ugene

*владеть:*

- методами генетического, мутационного, цитологического, молекулярно-генетического анализа;

### 2. Метапредметные:

- владеть основными современными методами и приемами проведения экспериментальных исследований;
- владеть навыками обработки и представления полученных результатов.
- уметь анализировать информацию из смежных дисциплин (химии, микробиологии, зоологии и т.д.) и сопоставлять ее с полученными в ходе исследования результатами;
- обрабатывать и анализировать полученные результаты исследований с применением компьютерных технологий.

### 3. Личностные:

- осмысление мотивов своих действий при выполнении заданий;
- развитие самостоятельности суждений, независимости и нестандартности мышления;
- формирование профессионального самоопределения, ознакомление с миром профессий, связанных с генной инженерией;

- формирование коммуникативной компетентности;
- формирование мнения о этической стороне генной инженерии.

## 2. Организационно – педагогические условия

Для успешной реализации программы необходимо:

### 1. Кадровое обеспечение:

- педагог дополнительного образования, имеющий образование по специальности «биология» и специализирующийся на молекулярной биологии или генетике.
- научные консультанты: ученые, преподаватели Удмуртского Государственного Университета
- лаборант

### 2. Материально-техническое обеспечение:

Занятия проводятся в биотехнологической лаборатории «БиоТехноЛаб», в которой имеется все необходимое учебно-лабораторное оборудование для проведения практических работ по данной дисциплине, а также в наличии необходимая посуда, стерильные расходные материалы и химические реактивы.

Наименование оборудования	Назначение/краткое описание функционала оборудования
Мульти-вортекс V-32 с платформой на 32 места: 16x1,5мл, 8x0,5мл, 8x0.2мл и насадкой для одной пробирки до 15мл	Прибор для гомогенизации или перемешивания различных растворов в условиях лаборатории, инструмент пробоподготовки.
Аквадистиллятор электрический ДЭ-4М по ТУ 9452-001-23159878-2013	Предназначен для получения дистиллированной воды для нужд лаборатории автоматизированный, проточный.
Деионизатор D-301 со сборником воды С-30	Предназначен для получения демонизированной воды для лабораторных работ.
Дозатор пипеточный переменного объёма; Наконечники универсальные для лабораторных дозаторов; Штатив-подставка для пипеток универсальный на 5 дозаторов	Для отбора проб определённого объёма
Пробирки объемом 0,2 мл, в стрипах по 8ук с крышками, нестерильные	Для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР-диагностики)
Пробирки микроцентрифужные объемом 1,5 мл с крышками, нестерильные, градуированные	Для постановки ПЦР, центрифугирования, хранения образцов генов, плазмид, буферных растворов
Источник бесперебойного питания Ippon Smart Winner 3000VA в комплекте с сетевым фильтром	Для бесперебойной работы
Станция автоматическая QIAcube	Для выделения нуклеиновых кислот и белка
Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот T100 (T100 Thermal	Для проведения ПЦР

Cycler)	
Устройство для электрофореза нуклеиновых кислот в агарозных и акриламидных гелях УЭФ-01-"ДНК-Техн." по ТУ 9443-002-46482062-2002; источник питания Эльф-4 Камера для горизонтального электрофореза (170*120мм) Камера для вертикального электрофореза на два геля, размер стекла 20 см x 20 см	Предназначен для разделения макромолекул (белков и нуклеиновых кислот, а также их фрагментов) под действием электрического поля
Трансиллюминатор Квант-С, 20x20 см, длина волны 470 нм	Для просмотра гелей, окрашенных интеркалирующими агентами (красителями), в УФ-лучах, либо для просмотра гелей / пленок в лучах видимого света. Используются для выявления молекул нуклеиновых кислот, разделенных в гелевом электрофорезе.
Нагревательная плита	Для нагрева питательных сред
Мешалка магнитная	Предназначена для работ с жидкостями, процессами растворения, приготовления однородных суспензий и эмульсий, инструмент пробоподготовки
Весы ВЛТЭ-1100Т (НПВ 1000 г, дискретность 0,1 г, класс точности II Высокий, внешняя калибровка) лабораторные	Предназначены для точных измерений массы
Термостат электрический суховоздушный охлаждающий ТСО-1/80 СПУ	Предназначен для прогрева до необходимой температуры флаконов с соответствующей данному типу клеток культуральной средой
Холодильник медицинский	Предназначен для хранения реактивов и объектов исследования
Видеосистема гельдокументирующая "Взгляд"	Предназначена для захвата и обработки изображений люминесцирующей ДНК в гелях, окрашенных бромистым этидием и аналогичными по спектральным характеристикам красителями.
Центрифуга лабораторная 5430 с роторами FA-45-30-11 и F-35-6-30 управление ручками	Позволяет проводить центрифугирование в микропробирках, криопробирках, пробирках типа Falcon, во всех распространенных системах для отбора проб
Баня водяная WB-2 (2-х местная), Stegler	Предназначена для нагревания образцов

	в различных сосудах, снабжена микропроцессорным блоком управления, что обеспечивает цифровую индикацию параметров и стабильность поддержания температуры, инструмент пробоподготовки
Сушильный шкаф	Предназначен для сушки и полимеризации образцов, для термических испытаний, стерилизации и определения содержания твердого остатка.

### 3. Расходные материалы (в зависимости от решаемого кейса):

1. Эндонуклеазы рестрикции
2. Плазмиды
3. T4 ДНК лигаза - Рекомбинантная T4 ДНК лигаза для «липкого» лигирования ДНК-вставки в вектор, лигирования линкерных адаптеров, сшивки одноцепочечного разрыва ДНК, циклизации линейной ДНК.
4. Overnight ligation буфер - Буферы для стандартного лигирования
5. Праймеры
6. Наборы для очистки ДНК из агарозного геля и реакционных смесей
7. Taq ДНК-полимераза с «горячим стартом» для рутинной ПЦР и ПЦР-РВ
8. qPCRMix-HS SYBR – интеркалирующий краситель
9. qPCRMix-HS SYBR+LowROX - референсный краситель в низкой концентрации для ПЦР-РВ
10. Этидий бромид
11. 50X TAE электродный буфер
12. Буфер для разведения ДНК
13. Смесь dNTP (10 mM каждого) Смесь dNTP для ПЦР, обратной транскрипции и любых приложений, требующих синтеза ДНК.
14. Taq буфер - Стандартные 10X буферы для Taq и HS Taq ДНК-полимераз.
15. Маркер длин ДНК 1 kb DNA Ladder
16. Gel Loading Dye, Blue буфер - 4X буфер для нанесения образцов ДНК/РНК на агарозный гель.

### 3. Учебно-методическое и информационное обеспечение программы

- методические разработки, дидактические материалы (Приложение 1)
- Базы и банки данных, базовых пакетов, программных средств для полного анализа макромолекул по биоинформатике с их адресами в Интернете:

**GenBank** – <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank> - банк данных по нуклеотидным последовательностям (3400000000 пар оснований в 461000 последовательностей).

**SWISS-PROT** – <http://www.expasy.ch/sprot/sprot-top.htm> - аннотированный банк данных по аминокислотным последовательностям белков.

**PIR** – <http://www.nbrf.georgetown.edu/pir/searchdb.html> - аннотированный банк данных по аминокислотным последовательностям белков, организованных в соответствии с гомологией и таксономией.

**PDB** – <http://www.rcsb.org/pdb/> - банк данных по 3D структуре биологических макромолекул.



**NDB** – <http://ndbserver.rutgers.edu> - банк данных по нуклеиновым кислотам. Включает структуры ДНК и РНК вместе с их 3-мерными изображениями. Структуры хранятся в формате «pdb» и могут быть визуализированы программой RasMol([www.rasmol.org](http://www.rasmol.org)).

**ProDom** – <http://protein.toulouse.inra.fr/prodom.html> - банк данных по доменам белков.

**NCBI** - [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) - крупнейший биоинформатический веб-сайт, предоставляющий доступ к базам данных белковых и нуклеотидных последовательностей, экспрессии генов, мутаций, эволюции генных семейств. Выбор конкретной базы осуществляется в поле «Search».

**EMBL-EBI** - [www.ebi.ac.uk](http://www.ebi.ac.uk)- веб-сайт Европейского биоинформатического института, содержащий широкий круг баз данных аналогичный **NCBI**. Помимо баз данных сайт предоставляет доступ к наиболее популярным биоинформатическим программам для анализа данных (**BLAST, ClustalW, Muscle, GeneWise**).

**PubMed**- [www.pubmed.org](http://www.pubmed.org) – крупнейшая база данных научных публикаций по биологии и медицине. Для всех статей доступны открытые аннотации.

**GeneCards** – [www.genecards.org](http://www.genecards.org) – содержит краткое описание всех известных генов человеческого организма, их названия по разным номенклатурам, последовательности, хромосомную локализацию, особенности устройства, список тканей, в которых конкретные гены активны.

**International Hap Map Project** – [www.hapmap.org](http://www.hapmap.org) – база данных международного проекта по обнаружению распространённых мутаций (полиморфизмов) в человеческом геноме.

Web-серверы, предоставляющие пользователю генетическую информацию, оснащены комплексом программных средств для поиска информации в банках данных и анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей. В качестве запросов при поиске последовательностей в банках данных могут использоваться номенклатурные названия генов, организмов, ключевые слова и др. В качестве примера предложим программу **Auto Dok**, которая является программой для автоматического докинга. С ее помощью можно посмотреть, как молекулы лекарств или кандидатов на роль лекарств взаимодействуют в известной 3D-структуре. В частности, программа применяется для разработки лекарств, специфически связывающихся с тем или иным белком. Здесь же приведем примеры основных программ сравнения аминокислотных и нуклеотидных последовательностей.

**ACT** – (**Artemis Comparison Tool**) – геномный анализ;

**Arlequin** – анализ популяционно-генетических данных;

**Bio Edit** – редактор множественного выравнивания аминокислотных и нуклеотидных последовательностей;

**Bio Numerics** – коммерческий универсальный пакет программ по биоинформатике;

**BLAST** – поиск родственных последовательностей в базе данных аминокислотных и нуклеотидных последовательностей;

**ClustaIW** – множественное выравнивание аминокислотных и нуклеотидных последовательностей;

**FASTA** – набор алгоритмов определения схожести аминокислотных и нуклеотидных последовательностей;

**Mesquite** – программа для сравнительной биологии на языке **Java**;

**Muscle** – множественное сравнение аминокислотных и нуклеотидных последовательностей. Более быстрая и точная программа в сравнении **ClustaIW**;

**Pop Gene** – анализ генетического разнообразия популяций;  
**Populations** – популяционно-генетический анализ.

Примером интегрированного инструмента биолога является также

**Unipro UGENE**. Это свободно распространяемое программное обеспечение для работы молекулярного биолога. Пользовательский интерфейс этого продукта обеспечивает: простую и удобную работу с последовательностями; визуализацию хроматограмм; использование редактора множественного выравнивания последовательностей; **просмотр трехмерных моделей PDB и MMDB** с поддержкой стереорежима; просмотр филогенетических деревьев; применение конструктора вычислительных схем, автоматизирующего процесс анализа; поддержку сохранения изображений в векторные форматы для удобства публикаций.

**ChemSketch**- программа позволяет легко и быстро рисовать сложные химические формулы – <http://www.aediabs.com//download/>

**RasMol** – программа для визуализации молекул белков и нуклеиновых кислот - [http://rasmolOrg/RasWin\\_Latest\\_Instalier/exe](http://rasmolOrg/RasWin_Latest_Instalier/exe)

#### 4. Учебный план

№ п/п	Наименование разделов и тем.	Всего часов	Количество часов		Форма (аттестации) контроля
			Теорет.	Практич.	
<b>1.</b>	<b>Структура и стабильность генома</b>	<b>18</b>	<b>10</b>	<b>8</b>	
1.1	Введение. Центральная догма молекулярной биологии	2	2		
1.2	Структура ДНК и ее воспроизведение	4	2	2	
1.3	Механизм репликации ДНК	4	2	2	
1.4	Исправление повреждений ДНК	4	2	2	
1.5	Пространственная организация генома	4	2	2	
<b>2.</b>	<b>Реализация генетической информации</b>	<b>20</b>	<b>12</b>	<b>8</b>	
2.1	Транскрипция	4	2	2	
2.2	Регуляция транскрипции	4	2	2	
2.3	Созревание мРНК. Жизненный цикл мРНК эукариот	2	2		
2.4	Трансляция	4	2	2	
2.5	Посттрансляционная судьба белков	4	2	2	
<b>3.</b>	<b>Базовые методы генной инженерии</b>	<b>26</b>	<b>10</b>	<b>16</b>	
3.1	Базовые биологические понятия. Задачи генной инженерии	4	2	2	
3.2	Рестрикция. Классы рестриктаз. Лигирование	6	2	4	
3.3	Гель-электрофорез	6	2	4	
3.4	Плазмиды и их структурные элементы	6	2	4	
3.5	Бактериальные штаммы, трансформация, компетентность	4	2	2	
<b>4.</b>	<b>Кейс метод</b>	<b>6</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	Решение кейса
<b>5.</b>	<b>Полимеразная цепная реакция, обратная транскрипция</b>	<b>18</b>	<b>8</b>	<b>10</b>	
5.1	Полимеразная цепная реакция (ПЦР)	6	2	4	
5.2	ПЦР. Технические подробности	4	2	2	
5.3	Вариации ПЦР	4	2	2	
5.4	Обратная транскрипция	4	2	2	
<b>6.</b>	<b>Высокопроизводительное клонирование</b>	<b>16</b>	<b>12</b>	<b>4</b>	
6.1	Высокопроизводительное клонирование	2	2		

6.2	Стандартизация в клонировании рестрикцией-лигированием	2	2		
6.3	Рестриктазы IIS, GoldenGate и GoldenBraid клонирование	2	1	1	
6.4	Клонирование за счет создания однонитевых концов	2	1	1	
6.5	Рекомбинационное клонирование	2	2		
6.6	Сайт-специфический мутагенез	2	2		
6.7	Клонирование при помощи совместной ПЦР вставки и вектора	4	2	2	
<b>7.</b>	<b>Синтез генов</b>	<b>16</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	
7.1	Химический синтез олигонуклеотидов	4	2	2	
7.2	Основные принципы синтеза генов	4	2	2	
7.3	Коррекция ошибок при синтезе генов	4	2	2	
7.4	Синтез геномов	4	2	2	
<b>8.</b>	<b>Биоинформатика</b>	<b>18</b>	<b>6</b>	<b>12</b>	
8.1	Введение в теорию биоинформатики	4	4		
8.2	Программное обеспечение Unipro UGENE	14	2	12	
<b>9.</b>	<b>Итоговая работа</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>6</b>	Решение кейса
	<b>ИТОГО</b>	<b>144</b>	<b>68</b>	<b>76</b>	

## 5. Содержание программы

### 1. Структура и стабильность генома

**Теория:** как передается информация между разными биологическими молекулами и что такое "центральная догма молекулярной биологии". Из чего состоят нуклеотиды и как они объединяются в цепочку ДНК. Как происходит копирование молекулы ДНК (репликация) и как был доказан основной принцип этого процесса. Какие стадии репликации ДНК выделяют, и что происходит в ходе этих стадий. Как инициируется репликация у про- и эукариот, что такое ориджин репликации. Почему при репликации одна цепь воспроизводится непрерывно, а другая — фрагментами. Какие основные виды ДНК-полимераз встречаются и в чем их основные отличия. Какие основные виды процессов исправления повреждений (репарации) бывают. Как происходит коррекция ошибок ДНК-полимеразы и как с этим связано метилирование ДНК. Какие линейные размеры имеют молекулы ДНК разных организмов. Какие основные уровни компактизации ДНК реализуются у про- и эукариот. Что такое нуклеосомы, гистоны и топологически ассоциированные домены.

#### **Практика:**

- Общие правила и техника безопасности работы в лаборатории по генной инженерии.
- Получение субклеточных фракций методом дифференциального центрифугирования
- Выделение нуклеиновых кислот эукариот классическими методами. Выделение нуклеиновых кислот с помощью коммерческих наборов.
- Определение концентрации нуклеиновых кислот в мышечной ткани (мясе) методом спектрометрии.

### 2. Реализация генетической информации

**Теория:** что такое транскрипция и в какой точке гена она начинается. Какие РНК-полимеразы существуют у про- и эукариот и какие элементы входят в их состав. Что необходимо для инициации и терминации транскрипции. Что такое транскрипционный активатор и репрессор. Что такое опероны у бактерий и как происходит регуляции транскрипции оперонов. Чем отличается регуляция транскрипции у про- и эукариот. Структура и модификация матричной РНК. Процесс сплайсинга. Ядерный экспорт и деградация мРНК. Компоненты принимающие участие в процессе трансляции и какую функцию они выполняют. Как происходит декодирование информации из нуклеотидов в аминокислоты. Как происходит инициация, элонгация и терминация трансляции. Фолдинг белка и его основных регуляторов. Посттрансляционная модификация аминокислот. Деградации белков и роли в этом убиквитина.

#### **Практика:**

- Экстракция белков из клеток эукариот. Осаждение белков сульфатом аммония. Диализ белков.
- Выделение альбумина из яичного белка и измерение концентрации биуретовым методом.

- Количественное определение белка по методу Бредфорд. Фракционирование белков методом электрофореза в полиакриламидном геле.
- Определение субъединичной структуры и молекулярных масс субъединиц белков методом электрофореза в ПААГ с додецилсульфатом натрия.

### **3. Базовые методы генной инженерии**

**Теория:** Базовые биологические понятия. Задачи генной инженерии. Рестрикция. Классы рестриктаз. Искусственные рестриктазы. Значение рестриктаз. База данных ферментов рестрикции REBASE. Лигирование. Гель-электрофорез. Методика проведения электрофореза в агарозном геле. Плазмиды и их структурные элементы. Физические характеристики и функции плазмид. Бактериальные штаммы, трансформация, компетентность.

#### **Практика:**

- Получение векторной ДНК: методы выделения и очистки плазмидной ДНК.
- Методы разделения макромолекул: электрофорез ДНК в агарозном геле.
- Экстракция и очистка фрагментов ДНК из геля.
- Эндонуклеазы рестрикции: реакции рестрикции и лигирования ДНК.
- Экскурсия в Удмуртский Государственный университет в «Дом научных коллаборации»

### **4. Кейс метод.**

**Теория:** Технология выполнения кейсов.

**Практика:** Решение кейса

### **5. Полимеразная цепная реакция, обратная транскрипция.**

**Теория:** Проведение ПЦР. Ход реакции. Варианты ПЦР. Применение ПЦР: криминалистика, установление отцовства, медицинская диагностика, мутагенез. Обратная транскрипция.

#### **Практика:**

- Определение ГМО в продуктах питания методом ПЦР.
- Определение ДНК злаков в хлебной продукции с помощью полимеразной цепной реакции.
- Определение гена метаболизма кофеина методом ПЦР.
- Определение полиморфизма гена ACE методом ПЦР.

### **6. Высокопроизводительное клонирование**

**Теория:** Стандартизация в клонировании рестрикцией-лигированием. Рекомбинационное клонирование. Рестриктазы IIS и IIT, GoldenGate и GoldenBraid клонирование. Клонирование за счет создания односторонних концов. Сайт-специфический мутагенез Клонирование при помощи совместной ПЦР вставки и вектора. Программы для работы с высокопроизводительным клонированием.

#### **Практика:**

- Трансформация клеток рекомбинантной ДНК
- Экскурсия в Удмуртский федеральный исследовательский центр УрО РАН

### **7. Синтез генов**

**Теория:** Химический синтез олигонуклеотидов. Методы синтеза олигонуклеотидов. Основные принципы синтеза генов. Алгоритм получения синтетического гена Синтез генов на микрочипе. Коррекция ошибок при синтезе генов. Синтез геномов.

**Практика:**

- Работа в программном обеспечении DNAWorks
- Автоматический дизайн олигонуклеотидов для синтеза генов на основе ПЦР.
- Моделирование неприродных форм белка с помощью компьютерных технологий

## **8. Биоинформатика**

**Теория:** Введение в теорию биоинформатики. Программное обеспечение Unipro UGENE.

**Практика:**

- Создание, редактирование и аннотирование нуклеотидных и белковых последовательностей.
- Быстрый поиск в последовательности.
- Рестрикционный анализ со встроенной базой данных ферментов рестрикции REBASE.
- Аннотирование плазмид.
- Работа с хроматограммами.
- Поиск повторов в последовательности ДНК: прямых, обратных, tandemных.
- Сборка контига. Открытые рамки считывания.

## **9. Итоговая работа**

**Теория:** Ознакомление с технологией выступления «стендовый доклад»

**Практика:** Решение кейса и защита его в форме стендового доклада

## 6. Формы аттестации

Промежуточная аттестация проводится как оценка результатов обучения за полугодие в виде решение практического кейса.

Итоговый контроль по окончании обучения проводится в формате хакатона, где дети решают проблемные задачи (кейсы) в группах, за определённый промежуток времени. Работа по выполнению кейса может быть выполнена за несколько занятий, так как включает в себя продолжительные технологические процессы. Результаты работы представляются в виде итоговой работы со стендовой защитой.

Оценка итоговой работы (максимальный балл по каждому критерию – 3)

Критерии		Максимальный уровень достижений учащихся
Hard skills		
1	Наличие решения	
2	Анализ различных вариантов	
3	Реальность выбранного решения	
4	Практические результаты	
Soft skills		
5	Оформление	
6	Выступление	
Self skills		
7	Ответы на вопросы	
ИТОГО		

Общий уровень достижений учащихся переводится в оценку по следующей шкале:

21-17 баллов: «отлично»;

16-13 баллов: «хорошо»;

12-8 баллов: «удовлетворительно»;

7-0 баллов: «не удовлетворительно».



## 7. Календарный учебный график

<u>Сроки реализации по годам освоения программы</u>	<u>I полугодие</u>		<u>II полугодие</u>		<u>Всего учебных недель</u>	
	<u>Начало учебного года</u>	<u>17 недель</u>	<u>19 недель</u>			
<u>1 год</u>	<u>1-ый учебный день учебного года</u>	<u>У</u>	<u>А</u>	<u>У</u>	<u>ИА</u>	<u>36</u>

**Условные обозначения:**

У – учебные занятия по расписанию

А – аттестация (текущая, промежуточная)

ИА – итоговый контроль

## 8. Методические материалы

№	Раздел или тема программы	Формы занятий	Приёмы и методы организации образовательного процесса	Дидактический материал	Техническое и материальное оснащение занятий	Формы подведения итогов
1.	Структура и стабильность генома	лекция диалог практическая работа	Словесные, наглядные, практические, игровые.	Протокол (инструкция) выполнения работы. Листочки с заданиями и вопросами.	Ноутбуки, интерактивная доска	
2.	Реализация генетической информации	лекция диалог практическая работа	Словесные, наглядные, практические, игровые.	Протокол (инструкция) выполнения работы. Листочки с заданиями и вопросами.	Ноутбуки, интерактивная доска	
3.	Базовые методы генной инженерии	лекция диалог практическая работа	Словесные, наглядные, практические, игровые.	Протокол (инструкция) выполнения работы. Листочки с заданиями и вопросами.	Ноутбуки, интерактивная доска Оборудование для проведения гелеэлектрофореза.	Решение кейса
4.	Полимеразная цепная реакция, обратная транскрипция	лекция диалог практическая работа	Словесные, наглядные, практические, игровые.	Протокол (инструкция) выполнения работы. Листочки с заданиями и вопросами.	Ноутбуки, интерактивная доска. Оборудование для проведения ПЦР	
5.	Высокопроизводительное клонирование	лекция диалог практическая работа	Словесные, наглядные, практические, игровые.	Протокол (инструкция) выполнения работы. Листочки с заданиями и вопросами.	Ноутбуки, интерактивная доска Оборудование для проведения ПЦР	
6.	Синтез генов	лекция диалог	Словесные, наглядные,	Протокол (инструкция)	Ноутбуки, интерактивная	

		практическа я работа	практические, игровые.	выполнения работы. Листочки с заданиями и вопросами.	я доска	
7.	Биоинформа тика	лекция диалог практическа я работа	Словесные, наглядные, практические, игровые.	Протокол (инструкция) выполнения работы. Листочки с заданиями и вопросами.	Ноутбуки, интерактивна я доска Оборудовани е для проведения ПЦР	
8.	"Геномное редактирова ние" Олимпиады НТИ	лекция диалог хакатон	Словесные, наглядные, практические, игровые.	Протокол (инструкция) выполнения работы. Листочки с заданиями и вопросами.	Ноутбуки, интерактивна я доска	Решение кейсов

## 9. Оценочные материалы для проверки результативности выполнения дополнительной общеразвивающей программы

За 1 полугодие

**Кейс:** «Рестрикция плазмидного вектора» - 4 часов

**Место кейса в структуре программы:** промежуточная аттестация

**Метод работы с кейсом:** Метод проектов

**Проблемная ситуация:** Вам предоставлены три образца плазмидной ДНК, карты их последовательностей и список доступных для работы рестриктаз. Проведите реакцию рестрикции и визуализацию результатов.

**Педагогическая ситуация:** осваиваем основные методы «мокрой биологии». Привязка к предметным областям знания: генетика, молекулярная биология.

**Цели кейса:**

**Продуктовая:**

- Получение рестрикционной карты.

**Образовательная - освоение основ:**

- технологии проектирования (замысел-реализация-рефлексия)
- наблюдения и постановки биологических опытов.

**Планируемые результаты проекта:**

- рестрикционная карта фрагмента ДНК.

**Этапы реализации проекта:** кейс рассчитан на 8 часов работы с группой учащихся.

### ДОРОЖНАЯ КАРТА МОДУЛЯ

Этап работы	Цель	Описание	Планируемый результат
Введение	Обоснование актуальности работы над задачей кейса	Введение в проблематику.	Присвоение задачи кейса, выбор направления работы.
Подготовительный	Подобрать реактивы, ознакомиться с техникой безопасности при работе на оборудовании и в лаборатории.	Изучение прописей необходимых реактивов. Знакомство с оборудованием, разбор инструкций и режимов работы	Схема выполнения опытов.
Реализационный	Проведение рестрикции плазмидной ДНК	Проведение реакций амплификации, рестрикции. Визуализация результатов с помощью	Рестрикционная карта

		электрофореза.	
Экспертный	Коммуникация с экспертным сообществом	Обсуждение результатов работы, рефлексия, постановка последующих целей	Полученная экспертная оценка, разработан план реализации

**Основное оборудование и материалы:** Реактивы и оборудования для проведения ПЦР и электрофореза.

За год

**Кейс № 1:** «Выделение ДНК из соскобов буккального эпителия» - 6 часов

**Место кейса в структуре программы:** Итоговая аттестация

**Метод работы с кейсом:** Хакатон

**Проблемная ситуация:** как узнать генотип человека? Для этого необходимо посмотреть на его ДНК. Можно ли взять ДНК у живого человека, не подвергая его риску вмешательства – не повреждая покровы или не проводя пункцию?

**Педагогическая ситуация:** необходимо выделить образцы геномной ДНК, чтобы в дальнейшем провести реакцию ПЦР на один из фрагментов гена бета-актина и визуализировать результат с помощью электрофореза в агарозном геле. Для проведения реакции ПЦР необходимо составить программу для амплификатора, основываясь на общем алгоритме ПЦР, информации о праймерах и амплификоне и характеристике используемой полимеразы. Привязка к предметным областям знания: молекулярная биология, медицина, молекулярная генетика.

**Цели кейса:**

**Продуктовая:**

- Получение образца ДНК для дальнейшей работы.

**Образовательная - освоение основ:**

- технологии проектирования (замысел-реализация-рефлексия)
- наблюдения и постановки биологических опытов

**Планируемые результаты проекта:**

- Стендовый доклад о полученных результатах

**Этапы реализации проекта:** кейс рассчитан на 8 часов работы с группой учащихся.

#### ДОРОЖНАЯ КАРТА МОДУЛЯ

Этап работы	Цель	Описание	Планируемый результат
Введение	Обоснование актуальности работы над задачей кейса	Введение в проблематику.	Присвоение задачи кейса, выбор направления работы.
Подготовительный	Подобрать	Изучение	Схема

	реактивы, ознакомиться с техникой безопасности при работе на оборудовании и в лаборатории.	прописей необходимых реактивов. Знакомство с оборудованием, разбор инструкций и режимов работы	выполнения опытов.
Реализационный	Получение пробы ДНК	Выполнение операций по забору пробы, выделению ДНК	Образцы ДНК
Экспертный	Коммуникация с экспертным сообществом	Обсуждение результатов работы, рефлексия, постановка последующих целей	Полученная экспертная оценка, разработан план реализации

**Основное оборудование и материалы:** ватные палочки, чашки Петри, центрифуги, набор для выделения геномной ДНК.

**Кейс № 2:** «Трансформация плазмидной ДНК в бактериальные клетки» - 6 часов

**Место кейса в структуре программы:** Итоговая аттестация

**Метод работы с кейсом:** Хакатон

**Проблемная ситуация:** что такое плаزمид? Как создать ген модифицированный организм? Как вставить фрагмент ДНК в другой организм?

**Педагогическая ситуация:** осваиваем основной метод трансформации и изучаем процесс создания ГМО.

**Привязка к предметным областям знания:** молекулярная биология, генетика.

**Цели кейса:**

**Продуктовая:**

- Получение трансформантов – клеток E.coli.

**Образовательная - освоение основ:**

- технологии проектирования (замысел-реализация-рефлексия)
- наблюдения и постановки биологических опытов.

**Планируемые результаты проекта:**

- Создание трансформированных клеток бактерий и оценка эффективности трансформации.

**Этапы реализации проекта:** кейс рассчитан на 8 часов работы с группой учащихся.

#### ДОРОЖНАЯ КАРТА МОДУЛЯ

Этап работы	Цель	Описание	Планируемый результат
-------------	------	----------	-----------------------

Введение	Обоснование актуальности работы над задачей кейса	Введение в проблематику.	Присвоение задачи кейса, выбор направления работы.
Подготовительный	Приготовление инокулята и компетентных клеток E.coli	Изучение методов подготовки компетентных клеток Расчет реактивов	Схема выполнения опыта
Реализационный	Выполнение процесса трансформации	Получение трансформированных клеток	Запись хода работ и обсчёт эффективности трансформации
Экспертный	Коммуникация с экспертным сообществом	Обсуждение результатов работы, рефлексия, постановка последующих целей	Полученная экспертная оценка, разработан план реализации

**Основное оборудование и материалы:** Реактивы и оборудования для приготовления среды и компетентных клеток; чистая культура E.coli; плазмидный вектор.

**Кейс № 3:** «Генотипирование» - 6 часов

**Категория кейса:** базовый

**Место кейса в структуре программы:** Итоговая аттестация

**Метод работы с кейсом:** хакатон

**Проблемная ситуация:** как установить родственную связь? Как определить происхождение организма по его геному?

**Педагогическая ситуация:** осваиваем методику установления родства хвойных пород деревьев.

**Привязка к предметным областям знания:** генетика.

**Цели кейса:**

**Продуктовая:**

- Получение электрофореграммы, отображающей размер аллель.

**Образовательная - освоение основ:**

- технологии проектирования (замысел-реализация-рефлексия)
- постановка молекулярно-биологических опытов.

**Планируемые результаты проекта:**

- Определение возможности родства образцов ели европейской.

**Этапы реализации проекта:** кейс рассчитан на 8 часов работы с группой учащихся. ДОРОЖНАЯ КАРТА МОДУЛЯ

Этап работы	Цель	Описание	Планируемый результат
-------------	------	----------	-----------------------

Введение	Обоснование актуальности работы над задачей кейса	Введение в проблематику.	Присвоение задачи кейса, выбор направления работы.
Подготовительный	Подобрать реактивы, ознакомиться с техникой безопасности при работе на оборудовании и в лаборатории.	Изучение прописей необходимых реактивов. Знакомство с оборудованием, разбор инструкций и режимов работы	Схема выполнения опытов.
Реализационный	Оценка родства образцов, их генотипирование	Выделение ДНК образца, Проведение реакций амплификации. Визуализация результатов с помощью электрофореза.	Определение родства
Экспертный	Коммуникация с экспертным сообществом	Обсуждение результатов работы, рефлексия, постановка последующих целей	Полученная экспертная оценка, разработан план реализации

**Основное оборудование и материалы:** Реактивы и оборудование для выделения ДНК, проведения ПЦР и ПААГ электрофореза.



## 10. Список литературы

### *Для обучающихся*

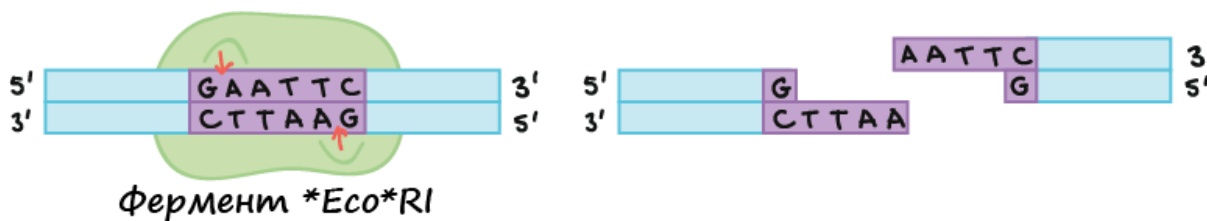
1. Введение в генетику: Учебное пособие/ Пухальский В.А. - М.: НИЦ ИНФРА-М, 2015. - 224 с. - Режим доступа: <http://znanium.com/catalog/product/510420>
2. Единое окно доступа к образовательным ресурсам, биотехнология. [http://window.edu.ru/catalog/resources?p\\_rubr=2.2.75.3](http://window.edu.ru/catalog/resources?p_rubr=2.2.75.3)
3. Основы генетики: учебник / В.В. Иванищев. - М.: РИОР: ИНФРА-М, 2017. - 207 с. - Режим доступа: <http://znanium.com/catalog/product/557529>
3. Сазанов А. А. Основы генетики - СПб.: ЛГУ им. А. С. Пушкина, 2012. - 240 с. - Режим доступа: <http://znanium.com/catalog/product/445015>
- Интернет ресурсы: 1. «Биомолекула» научно-популярный сайт, посвящённый молекулярным основам современной биологии и практическим применениям научных достижений в медицине и биотехнологии. <https://biomolecula.ru/> 2. Биотехнология «для чайников» <http://practice.biotechnolog.ru/>
4. Практическая молекулярная биология. <http://molbiol.edu.ru/index.html>
5. Применение молекулярных методов исследования в генетике. <http://znanium.com/catalog/product/460545>

### *Для педагога*

1. Век генетики и век биотехнологии на пути к редактированию генома человека: Монография / Глазко В.И., Чешко В.Ф., Иваницкая Л.В. - М.:КУРС, 2017. - 560 с. - Режим доступа: <http://znanium.com/catalog/product/792846>
2. Единое окно доступа к образовательным ресурсам, биотехнология. [http://window.edu.ru/catalog/resources?p\\_rubr=2.2.75.3](http://window.edu.ru/catalog/resources?p_rubr=2.2.75.3)
3. Иванищев В.В. Молекулярная биология. - Москва: Издательский Центр РИОР: ООО "Научно-издательский центр ИНФРА-М", 2018. - 225 с.
4. Крупнейшая биологическая база данных. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
5. Портал образовательных курсов, в том числе биотехнологии, молекулярной биологии и генетике. <https://stepik.org/catalog?tag=485282>
6. Применение молекулярных методов исследования в генетике: Учебное пособие / Нефедова Л.Н. - М.: НИЦ ИНФРА-М, 2016. - 104 с. - Режим доступа: <http://znanium.com/catalog/product/460545>
7. Сазанов А.А. Генетика. - СПб.: ЛГУ им. А.С. Пушкина, 2011. - 264 с. - Режим доступа: <http://znanium.com/catalog/product/445036>
8. Субботина, Т.Н. Молекулярная биология и геновая инженерия: практикум / Т.Н. Субботина, П.А. Николаева, А.Е. Харсекина. - Красноярск: Сиб. федер. ун-т, 2018. - 60 с. - ISBN 978-5-7638-3857-2. - Текст: электронный. - URL: <https://new.znanium.com/catalog/product/1032111> - Текст: электронный. - URL: <http://znanium.com/catalog/product/1032111>

Примеры методических карточек

**Эндонуклеазы рестрикции, рестриктазы (от лат. restrictio — ограничение)**

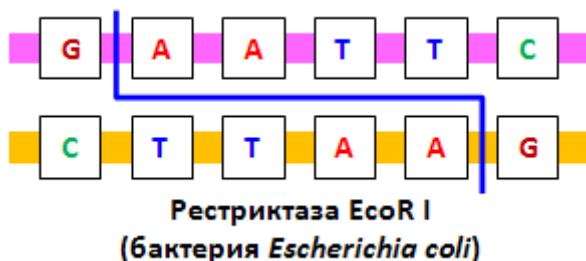


Рестриктазы — группа ферментов, относящихся к классу гидролаз, катализирующих реакцию гидролиза нуклеиновых кислот.

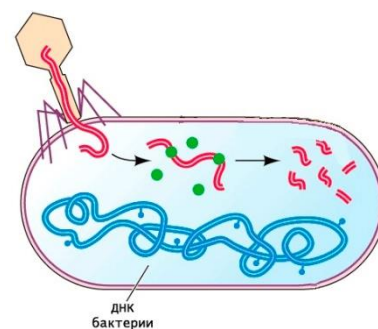
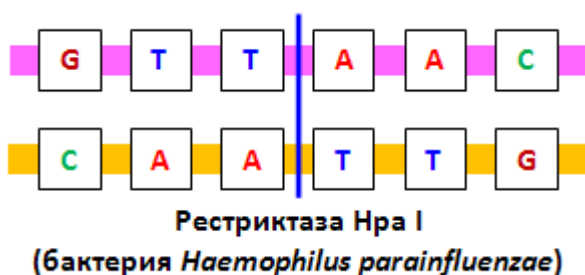
Каждая рестриктаза узнаёт определённый участок ДНК – сайт узнавания (длиной от четырёх пар нуклеотидов) и расщепляет нуклеотидную цепь внутри участка узнавания или вне его.

Эндонуклеазы рестрикции вносят разрывы в обе цепи ДНК, расщепляя её на две части. В зависимости от специфичности разрезания ДНК, образуются продукты, имеющие разное строение концов

- **Липкие концы** имеют выступающие одноцепочечные участки. При этом выступающие участки двух образующихся фрагментов комплементарны друг другу.



- **Тупые концы** образуются, в случае, когда разрезание ДНК происходит строго по оси симметрии узнаваемой последовательности



**Биологическая роль**

Бактерии рестриктазы — это важнейший инструмент защиты клетки от бактериофагов.

В настоящее время рестриктазы с различными сайтами узнавания являются основным инструментом генетических исследований и генной инженерии.

1. Напишите сайт узнавания рестриктазы **SfoI** (только одну из цепей ДНК в направлении от 5' к 3' концу). Используя базу данных <https://www.neb.com/>

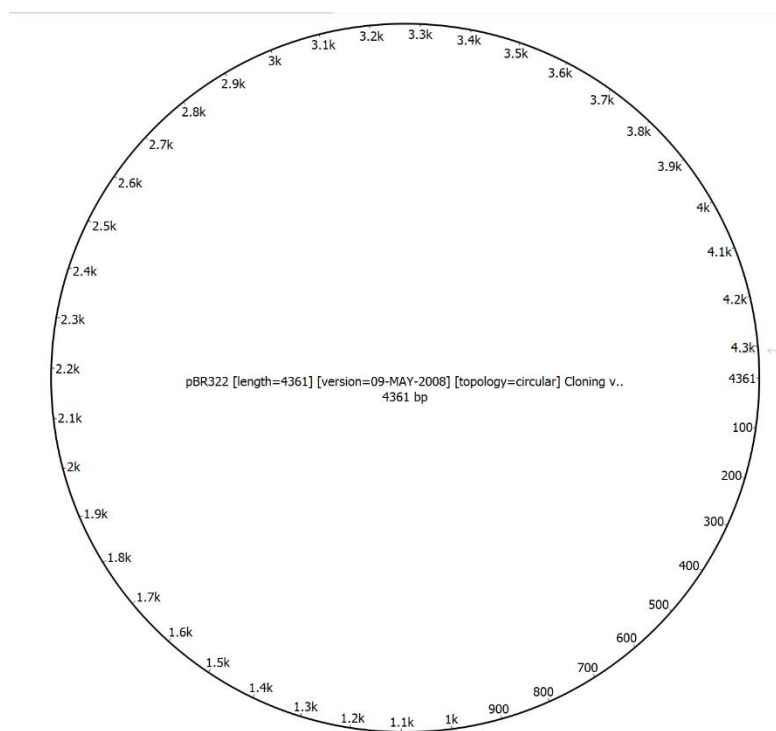
Ответ \_\_\_\_\_

2. Какие концы образует рестриктаза HpaI?

Ответ \_\_\_\_\_

3. Искусственные плазмиды активно используют в генетической инженерии в качестве векторов, в которые клонируют гены, кодирующие белки, представляющие интерес для исследований. Работать с последовательностями нуклеотидов плазмидной ДНК вручную, искать самостоятельно сайты рестрикции, крайне затруднительно. Специально для таких работ существуют несколько программ для ПК, например, бесплатная UGENE (пример визуализации плазмидной ДНК см. на рисунке). Для решения задач в области генетической инженерии широко используют эндонуклеазы рестрикции - ферменты, позволяющие "разрезать" двуцепочечную ДНК. Рестриктазы позволяют "вырезать" гены из одного источника и далее клонировать полученные последовательности в различные векторы, в том числе, плазмидные.

Молекулярные биологи активно использовали плазмиду pBR322 в течение многих лет.



**Задача.** Используя программу UGENE (или аналогичную), карту плазмиды pBR322 (последовательность нуклеотидов можно найти на <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, сохранить в блокноте в текстовом формате с расширением .fasta), определите число фрагментов ДНК, которые образуются при гидролизе плазмидной ДНК эндонуклеазой рестрикции *GlaI*.

Ответ \_\_\_\_\_