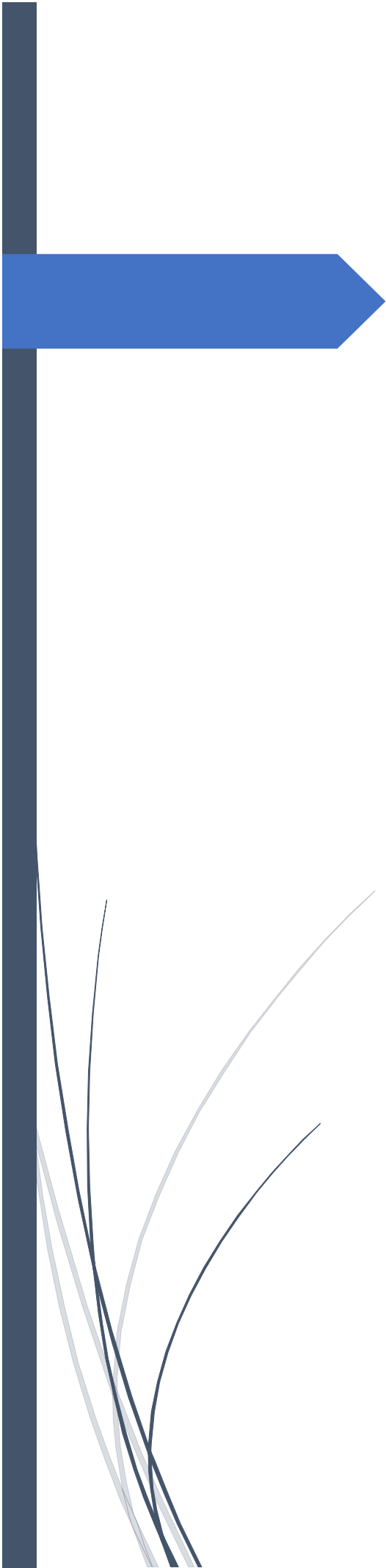




«Посмотрите на свою ДНК!»

Методическая разработка занятия (урока) по
генетики

Автор: Подгузов Николай
Александрович, учитель
биологии МОУ СШ № 124
Красноармейского района
Волгограда

Волгоград

Урок «Посмотрите на свою ДНК!» («Выделение молекулы ДНК из слизистой оболочки ротовой полости»)

ДНК является ежедневной темой для разговоров – ее клонируют, секвенируют, картируют, модифицируют. Познакомьте ваших учеников с молекулярной биологией с помощью их собственной ДНК!

Увидеть – значит поверить. Для учеников, в первый раз слышащих или мало слышанных о молекулярной биологии, ДНК – нечто абстрактное и недоступное взгляду. Эта работа помогает сделать невидимое видимым – убедиться в том, что ДНК вполне реальна и осязаема.

Каждый узнает что-то новое. Эта работа подходит для любого класса и не требует никакого специального оборудования. В старших классах можно совместить эту работу с уроками по строению и функциям ДНК, клеток и ферментов, а в средней школе она может быть замечательным введением в мир науки о ДНК.

ПЛАН-КОНСПЕКТ УРОКА ПО ГЕНЕТИКЕ

Тема урока: «Выделение молекулы ДНК из слизистой оболочки ротовой полости»

Цель урока: 1. Развивающие цели.

- 1) Развивать у школьников практические навыки исследовательской работы.
- 2) Научиться основам лабораторного биохимического практикума.
- 3) Формирование у детей целостности естественно - научной картины мира.
- 4) Развивать самостоятельность при выполнении лабораторных работ.
- 5) Формировать интеллектуальные и практические умения, умения анализировать, сопоставлять.

2. Образовательные цели.

- 1) Обеспечить усвоение учащимися основ науки.
- 2) Обобщить и закрепить, систематизировать, ранее полученные теоретические знания по свойствам и механизму функционирования нуклеиновых кислот.
- 3) Обобщить и закрепить, систематизировать ранее полученные знания по предметам биологии, физики, химии.

3. Воспитательные цели.

Воспитывать самостоятельного, свободномыслящего человека, имеющее критическое мышление, аналитическое восприятие природы, владеющего различными способами познания, в том числе и навыков практической деятельности.

Тип урока: Практическое занятие

Вид урока: лабораторная работа

Средства обучения: лабораторное оборудование и реактивы, компьютер, проектор, мультимедиа- средств обучения, слайды с иллюстрациями, проведения работы.

ПЛАН УРОКА

I. Организационный момент

II. Актуализация знаний.

Контрольный тест. Основные понятие о ДНК. Правила выполнения лабораторных работ по биохимии.

III. Изучение нового материала:

1. ДНК и клетка.
2. Технология выделения ДНК

- А) на уровне научных технологий
- Б) на уровне возможностей школы или дома
- 3. Алгоритм выполнения работы.
- 4. Выполнение лабораторной работы.
- 5. Применение знаний и полученных навыков:
- IV. Закрепление.** Выполнение задания: ответить на вопросы
- V. Домашняя работа:** выделить в домашних условиях ДНК из фруктовых соков.

ВВЕДЕНИЕ ДЛЯ УЧИТЕЛЯ

Почему желательно проводить работу по выделению ДНК?

- 1) Выделение ДНК позволяет вашим ученикам увидеть их собственные гены. Ваши ученики будут в восторге от того, что смогут собственными глазами увидеть вещество, делающее каждого из нас уникальным и неповторимым. Выделенную ДНК можно перенести в стеклянный сосуд и бережно хранить сколь угодно долго.
- 2) Выделение ДНК помогает ученикам понять свойства ДНК. Молекулы ДНК, из которых сделаны наши хромосомы, невероятно длинные и тонкие. Спросите своих учеников, как такие длинные молекулы могут поместиться внутри микроскопических клеток эпителия щеки. Тонкие белые нити, из которых состоит осадок ДНК – это многие **тысячи** отдельных молекул, переплетенных друг с другом как клубок ниток.
- 3) Выделение ДНК — это первый шаг в биотехнологии. С помощью этой работы ученики получают представление о том, как просто можно выделить ДНК для использования в современных научных экспериментах.

Эта работа может быть выполнена в любое удобное время в течение года, но наиболее полезно связать ее со следующими темами:

- Биомолекулы
- Строение клетки
- Митоз и мейоз
- Генетика
- ДНК-технология

Ученики перед началом этой работы должны иметь представление о структуре и функции ДНК. Для этого перед уроком можно дать задание на повторение этого материала или, если это ученики средней школы, то провести дополнительное занятие (Приложение 1).

Вопросы безопасности

В этой работе не требуется никаких специальных мер предосторожности. Тем не менее, в помещении, где выполняется работа, нельзя есть, пить, пользоваться косметикой. Рекомендуется использование перчаток и защитных очков. Ученики должны вымыть руки с мылом до и после урока. Если какой-то из растворов попадет кому-либо из учеников в глаза, тщательно промойте их водой.

По ходу урока учителю рекомендуется задавать вопросы для закрепления знаний и использования их в дальнейшей работе (*варианты таких вопросов в тексте выделены курсивом*)

ПРИМЕРНЫЙ ТЕКСТ УЧИТЕЛЯ ВО ВРЕМЯ ПРОВЕДЕНИЯ УРОКА И ДЕМОНСТРАЦИИ СЛАЙДОВ ПРЕЗЕНТАЦИИ

Добрый день! (Слайд 1). Мы продолжаем с вами знакомство с молекулярной генетикой. (Слайд 2) На сегодняшний день мы уже должны знать такие основополагающие понятия как ген, геном, нуклеиновые кислоты, хромосомы, процессы

непосредственно связанные с функционалом этих молекул такие как трансляция, репликация, транскрипция. Этот сложный мир молекулярных взаимодействий позволяет существовать самой жизни и ее эволюции.

Сегодня мы с вами продолжим тему современных исследований и технологий, применяемых в молекулярной генетике. Кстати, о каких технологиях мы говорили на прошлом уроке? *(учитель опрашивает учеников – те вспоминают и называют технологии:*

- *Выделение и культивирование клеток;*
- *полимеразная цепная реакция (ПЦР)*
- *Электрофорез ДНК*
- *Секвенирование ДНК*
- *Разрезание и сшивание ДНК*
- *-Клонирование ДНК и др.*

Большинство задача, которую надо решить в генетике при различных исследованиях, экспериментов и применений технологий на молекулярном уровне начинаются с простой, казалось бы, задачи: необходимо выделить тот самый материал, с каким в дальнейшем будут проводиться различные процедуры. Выделить ту самую дезоксирибонуклеиновую кислоту, как часто ее называют – молекулу жизни. Выделение ДНК — это первый шаг во многих биотехнологических процедурах: клонировании и картировании генов, секвенировании ДНК. Почти любой анализ ДНК подразумевает, что она должна быть выделена из клеток или тканей. *(А как вы думаете, зачем нужно выделять молекулы ДНК?).*

Так для чего же выделяют ДНК? (Слайд 3). На сегодняшний день исследование ДНК, выделенной из объектов биологического происхождения, является общепринятой и наиболее информативной и точной в медицинской практике при диагностике моногенных и мульти факториальных заболеваний, в судебно-медицинской и криминалистической экспертизе при идентификации личности, определении биологического родства, а также при научных молекулярно-генетических исследованиях.

Поскольку при молекулярной диагностике объектом исследования является непосредственно молекула ДНК человека, то ее (диагностику) можно проводить не только на тех тканях, где

экспрессируется соответствующий ген, но практически на любых доступных клетках организма, из которых можно выделить ДНК. Молекулярно-генетический анализ позволяет

эффективно исследовать практически любой биологический материал: кровь, слюну, волосы, костную и мышечную ткань и пр.

В процессе выделения ДНК из биологического материала основная задача – хорошо диспергировать ткань, чтобы разрушить клетки, а затем отделить ДНК от сопутствующих ей белков и посторонних примесей для получения препарата с чистотой, пригодной для постановки, например ПЦР. *(Что такое ПЦР?)*

Способы экстракции.

Способы экстракции бывают разные, и каждый из них имеет свои плюсы и минусы. Определяют следующие методы экстракции при помощи: · силики (диоксид кремния); · ионообменной смолы; · бумажных фильтров; · магнитных частиц; · гель-фильтрации; · органических растворителей; · микроцентрифужной колонки (Слайд 4-6).

Экстракция силикой. С использованием диоксида кремния. Метод практически не имеет недостатков, к ним относят лишь сложность получения молекулы из малого количества биологического образца. Преимуществ же значительно больше: · экономичность; · возможность автоматизации процесса; · быстрота выполнения исследования; · простой в исполнении; · исключает наличие ингибиторов (замедление процесса).

Экстракция с использованием бумажных фильтров. Преимущества метода: · безопасность в обращении с материалом; · ДНК выделяется быстро; · нуклеиновая

кислота имеет высокое качество; · полученный образец, может храниться длительное время при комнатной температуре; · подходит для исследования практически любой жидкий материал; · существует возможность автоматизации процесса. Из недостатков определяют следующие: · дороговизну способа; · возможность применять лишь на жидких образцах; · массу полученного ДНК невозможно скорректировать; · может потребоваться изменения протокола.

Выделение при помощи магнитных частиц. Из недостатков можно говорить лишь о стоимости исследования, она сравнительно высока по отношению к другим методам. Из плюсов определяют: · возможность выделять большое количество нуклидов за счёт большого объёма сорбента; · в момент выделения минимизированы потери; · малый риск перекрёстной загрязнения; · масштабность методики; · высокое качество продукта на выходе.

Выделение с применением гель-фильтрации. Преимущество метода быстрота выполнения, из недостатков небольшое количество полученного материала.

Экстракция ионообменной смолой. Плюсы процедуры: · простота и быстрота исследования; · дешевизна; · возможность автоматизации; · подходит практически для анализа любого материала. К минусам относят: · недостаточную очистку ДНК, она получается очень грубая; полученный образец не подходит для ПЦРФ.

Выбор одной из методик зависит от многих факторов и основывается исходя из определённых критериев (Слайд 7.): количества времени отведённого на анализ; · поставленной задачи; · ожидаемого результата (необходимой степени очистки, количества полученного образца и др.); · первично выбранного материала для процедуры; · дальнейшее применение полученной молекулы (ПЦР, синтез, клонирование).

В научных лабораториях и установках, требуется тщательная подготовка рабочего места и лаборатории в целом (Слайд 8). Предварительно оборудование обеззараживают ультрафиолетом. Дополнительно столы обрабатывают 70% этиловым спиртом, полы также подвергаются дезинфекции специальными средствами. Всю необходимую пластиковую посуду (наконечники, пробирки, колбы) также дезинфицируют. Сотрудники лаборатории обязаны быть в стерильной медицинской одежде, полностью закрывающей тело, а также, шапочках и резиновых перчатках. *(Для чего предпринимаются такие меры?)* Все эти меры прежде всего предпринимаются для того, чтоб не допустить загрязнение образца чужеродными нуклеиновыми кислотами или др. веществами.

Любая выделенная из клеток ДНК выглядит одинаково, но все равно здорово посмотреть на собственную ДНК, осознавая, что это то, что делает вас живым и уникальным. В этой лабораторной работе вы выделите собственную ДНК из эпителиальных клеток, собранных со внутренней поверхности ваших щек. Вы будете использовать простую и быструю процедуру, которую ученые обычно используют для выделения ДНК из различных источников.

Выделение и очистка ДНК: как это работает?

Если мы хотим действительно выделить и получить чистую ДНК-у, то необходимо проделать ряд последовательных процедур (этапов), о которых мы говорили немного выше (Слайд 9).

Сейчас же мы перейдем к самому механизму выполнения работы более подробно. И так что предстоит вам сделать.

1. Получить рабочий материал. (Слайд 10.)

Работу начинается с того, что вы осторожно пожевываете внутренние поверхности щек; при этом с них слущиваются эпителиальные клетки. Далее надо прополоскать рот водой и затем сплевывать ее в пробирку, чтобы собрать клетки.

2. Буферный раствор. (Слайд 11.) К воде, содержащей клетки, добавляется буферный раствор для лизиса, содержащий детергент (моющее средство), разрушающий

фосфолипидные мембраны клеток и высвобождающий ДНК. Буферный раствор обладает свойством поддерживать слабощелочную среду (рН - 8,5), чтобы ДНК оставалась стабильной. Таким образом нити ДНК окажутся свободно плавающими в водном растворе. Однако в этом же растворе будет плавать все содержимое клеток: ДНК, РНК, полисахариды, липиды, сложные полимерные соединения... Кроме того, в водном растворе клеточные ферменты начнут постепенно разрушать ДНК. Поэтому ее нужно как можно скорее отделить от других клеточных компонентов.

3. **Очистка.**(Слайд 12.) Как вы уже могли догадаться, большинство молекул, которые могут помешать выделению чистой ДНК – это белки. Мы можем легко избавиться от белков, не повредив ДНК, если используем специальный фермент, расщепляющий белки, так называемую протеазу. Протеаза расщепляет пептидные связи между отдельными аминокислотами, из которых состоит белок. Уничтожая все белки, вы в том числе уничтожаете ферменты, расщепляющие ДНК- ДНКазы - которые могут помешать выделению. Клеточный лизат, содержащий протеазу, инкубируется на оптимальной для ее работы температуре - +50°C.

ДНК и другие компоненты клетки, такие как белки, сахара и жиры, растворяются в буфере для лизиса. ДНК растворяется благодаря тому, что окружена молекулами воды, не дающими отрицательно заряженным фосфатным группам образовывать прочные связи с положительно заряженными ионами, находящимися в растворе.

4. **Выделение.** (Слайд 13.) Когда к раствору добавляется большое количество спирта, молекул воды становится относительно мало, и они уже не препятствуют взаимодействию ионов натрия с ДНК с образованием нерастворимой натриевой соли ДНК. На границе слоев воды и спирта начинает образовываться осадок в виде тонких белых нитей.

Положительно заряженные ионы натрия уже присутствуют в растворе, так как раствор протеазы, который добавляют на предыдущем этапе, содержит соль.

Чем более холодный спирт мы берете, тем хуже растворяется ДНК – это можно сравнить с тем, как сахар хуже растворяется в холодном чае, чем в горячем.

В присутствии соли и спирта ДНК, выделенная из ваших клеток, собирается вместе и выпадает в осадок, который можно видеть невооруженным глазом! В то же время, другие компоненты, содержащиеся в растворе, такие как аминокислоты или углеводы, остаются растворенными в спирте. Одна видимая глазом нить состоит из тысяч цепей ДНК, на каждой из которых расположены тысячи генов, так что вы сразу смотрите на миллионы генов. Помните, что вы видите ДНК из многих тысяч клеток.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ.

Замечания для учителя. Подготовка к уроку.

Что нужно.

Оборудование и материалы:

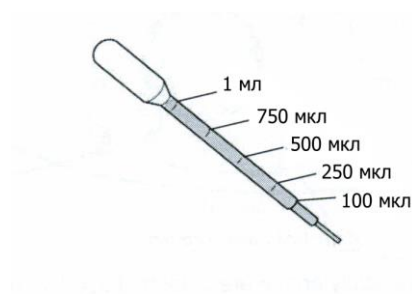
- **Буферный раствор для лизиса.** 120 мл воды (можно из-под крана), 5 г пищевой соды NaHCO_3 , 1,5 г поваренной соли NaCl и 5 мл моющего средства (например, «Фейри») или мыла. Так мы получаем буферный раствор для расщепления клеточных мембран. Здесь главное правило: полученный раствор должен быть слабощелочным, то есть оптимальное значение рН — 8,5. Подпишите пробирку «Лизис»;
- **Протеаза.** Протеазу можно заказать в интернет-магазине, но можно обойтись и другим препаратом: таблетка Мезима (это лекарство, должно быть в аптеке у каждого). Её нужно тщательно измельчить в небольшом объеме воды (например, 1 мл). Подготовьте данный раствор в необходимом количестве, в зависимости от числа учеников. Подпишите пробирку «Прот»;
- **Спирт:** этанол $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. Он должен быть чистым, не ниже 96%, то есть водкой заменять его нельзя. Если у вас нет в химкабинете, то можно попробовать попросить у

школьного врача или можно заказать в одном из интернет-магазинов, где он продается под маркировкой «медицинский антисептический раствор». Вариант — использовать не этиловый спирт, а изопропиловый, только учтите, что он ядовитый. Спирт должен быть охлажденным, его нужно поместить в морозилку за несколько часов до эксперимента;

- Пробирки.
- Пипетки.
- Клетки собственного тела. Например, клетки слизистой рта;
- Термометр;
- Термостат или сосуд с водой нужной температуры +50оС.

Рабочие места учеников (4 ученика на место)	Число
15 мл пробирки, по 3 мл воды в каждой	4
пробирка, подписанная «прот», содержащая 1.25 мл раствора протеазы	1
15 мл пробирка, подписанная «лизис», содержащая 10 мл буфера для лизиса	1
Одноразовые пластиковые пипетки	6
Фломастер	1
Стакан для слива	1

Перед началом лабораторных занятий, покажите ученикам если они не пользовались, градуировки на пипетке или, если имеется, объясните, как пользоваться автоматической микропипеткой пусть попрактикуются. В качестве единицы измерения в течение работы будет применяться как 250 мкл так и 1 мл



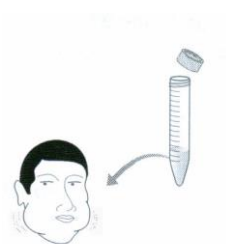
Для успешного выполнения работы необходимо собрать достаточное количество клеток со внутренней поверхности щеки. Проверьте, чтобы ваши ученики правильно выполняли эту процедуру. Так же желательно, чтобы во время проведения работы, учащиеся записывали свои действия и полученные результаты, наблюдения в дневник исследований.

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРОТОКОЛ

Процедура выделения ДНК (Слайд 14.)

Шаги 1. Сбор материала

1. Возьмите с вашего стола 15 мл пробирку, содержащую 3 мл воды. Подпишите ее вашими инициалами.
2. Осторожно пожуйте внутренние поверхности ваших щек в течение 30 секунд. НЕ НАДО кусать щеки до крови!
3. Наберите воду из 15-мл пробирки (3 мл) в рот и тщательно полощите его в течение 30 секунд.
4. Аккуратно выплюньте воду обратно в пробирку



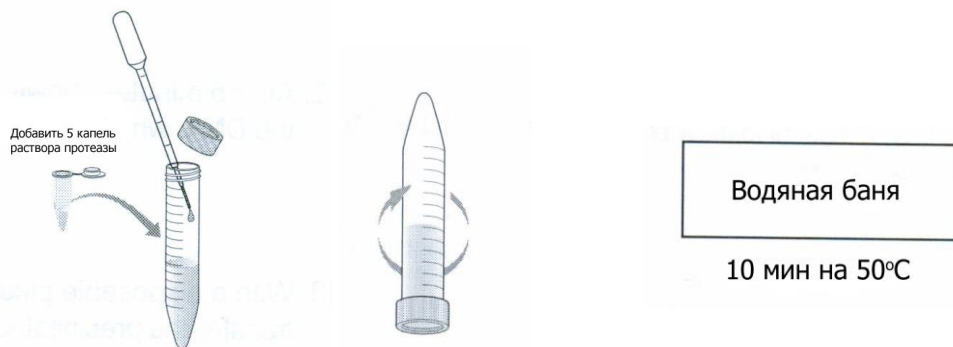
Шаги 2. Лизис клеток.

1. Возьмите пробирку с буфером для лизиса с вашего стола, и добавьте 3 мл буфера к вашему образцу.
2. Закрутите пробирку крышкой и аккуратно переверните пробирку 5 раз (не трясите ее!). Посмотрите на пробирку. Вы заметили какие-то изменения? Если да, запишите их.



Шаг 3: удаление белков

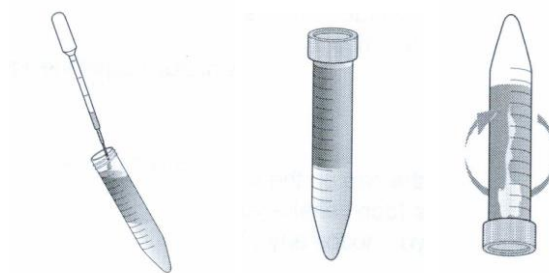
1. Возьмите с вашего стола пробирку с протеазой («прот»). Добавьте 5 капель протеазы (5x250 мкл) к вашему образцу.
2. Закройте пробирку и несколько раз переверните ее, чтобы перемешать содержимое.
3. Поместите вашу пробирку в штатив или стакан на водяную баню, нагретую до 50°C на 10 минут. По истечении этого времени выньте пробирки.



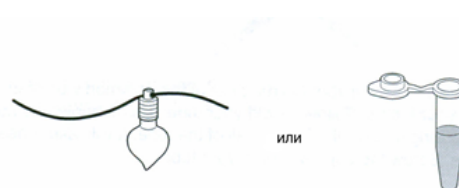
Шаги 4 и 5: сделайте вашу ДНК видимой

1. Возьмите у вашего преподавателя пробирку с холодным спиртом. Держа пробирку с вашим образцом под углом 45°, наполните ее спиртом (надо добавить около 10 мл), так чтобы он медленно стекал по стенке пробирки. Завинтите крышку на пробирке.
2. Поставьте пробирку прямо перед вами в стакан или штатив, и оставьте ее на 5 минут, не трогая.
3. Через 5 минут, снова посмотрите на пробирку. Обратите внимание на границу слоев воды и спирта. Вы видите что-нибудь? Запишите свои наблюдения. Сравните ваш образец с образцами ваших одноклассников.

4. Медленно переверните пробирку 5 раз, чтобы ускорить осаждение ДНК. Обратите внимание на плавающие в пробирке нити, белые или прозрачные. Это ваша ДНК!



Вы можете сохранять свою ДНК в микропробирке или сделать ДНК-кулон (Слайд 15.) (такие кулоны можно приобрести в магазинах). Для этого вы должны одноразовой пипеткой осторожно перенести туда вашу ДНК вместе с 750 мкл-1 мл спиртового раствора.



После окончания опыта не забудьте убрать свое рабочее место, использовавшиеся растворы, оставшиеся после работы, вылить в раковину рабочие растворы, сполоснуть посуду.

Конечно, в результате этой простой процедуры нельзя получить чистый препарат ДНК. В лаборатории в буфер добавляют ферменты, разрушающие молекулы РНК, которые иначе могут выделяться вместе с ДНК. Даже после самой тщательной экстракции часть в наших условиях ДНК останется в растворе, образуя в нем невидимую паутину. При небольших дополнительных усилиях: соответствующих реактивах и оборудовании, этот материал тоже можно увидеть.

Применение ДНК-технологии

Наша лабораторная работа может служить иллюстрацией уроков, посвященных структуре и функции ДНК, и позволила дать вам простой опыт общения со своей собственной ДНК. Но она приобретет еще большее значение, если вам будет понятно, что выделение ДНК является первым шагом многих биотехнологических процессов, таких как (Слайд 16.):

Клонирование

Клонирование – это получение множества копий гена или генома. Поврежденный ген, вызывающий болезнь, может быть клонирован, чтобы в дальнейшем определить его последовательность (секвенировать) и проанализировать с целью найти лекарство. Ген, кодирующий интересующий нас белок, может быть клонирован с целью перенести его в другой организм. Аналогично, весь геном может быть клонирован, путем переноса в ядра клеток, каждая из которых способна развиваться в целый организм.

Перенос генов: генетически модифицированные организмы (ГМО)

Для того, чтобы получать большие количества ценных белков, таких как человеческий тромбин, инсулин и др. гены, кодирующие такой белок, переносят в другие организмы, клетки которых можно быстро вырастить в большом количестве. Это могут быть бактерии, дрожжи, плесневые грибы, растения или животные.

Иногда для производства нужного белка используют млекопитающих. Ген, кодирующий полезный белок, переносят в оплодотворенную яйцеклетку коровы. Молоко генетически модифицированной коровы будет содержать этот белок, и его можно будет оттуда выделить.

Сельскохозяйственные растения сейчас часто содержат гены, происходящие из других организмов. Например, некоторые содержат ген, кодирующий белок, защищающий растения от гусениц. Другие могут содержать ген, дающий устойчивость к гербицидам, так что фермеры могут безбоязненно обработать ими все поле, уничтожив сорняки.

ДНК-профилирование

Используя технологию полимеразной цепной реакции (ПЦР), ученые могут находить отдельные участки ДНК, по которым одни люди отличаются от других, и получать большие количества этих последовательностей для анализа. С помощью гель-электрофореза можно наблюдать различия между двумя индивидами в виде набора полос, напоминающего штрих-код. Это технология помогает раскрывать преступления, определять отцовство и устанавливать эволюционные связи между разными видами.

Закрепление материала.

В заключение нашего урока необходимо выполнить задание для закрепления материала вам предлагается ответить на контрольные вопросы. (Часть вопросов, по усмотрению учителя можно дать и как домашнее задание).

Контрольные вопросы:

1. Представьте, что вы объясняете разницу между хромосомами, генами и ДНК вашему брату или сестре, который (-ая) на два года младше вас. Напишите объяснение простыми словами, которые они могли бы понять.
2. Клетка печени и клетка эпителия содержат одни и те же хромосомы?
3. Если вам надо выделить ген, который кодирует белок, находящийся в желудке, можете ли вы найти этот ген в клетках эпителия? Объясните ваше предположение.
4. После того, как мембраны растворятся, ДНК окажется в растворе, но вместе с ней там окажутся и множество других видов молекул, находившихся в клетке. Напишите, что это могут быть за молекулы.
5. Какие методы или агенты могут быть использованы, чтобы избавиться от этих нежелательных молекул?
6. Протеаза, используемая в нашей работе, лучше всего работает при 50°C. Как вы думаете, ее выделили из *E. coli*? Аргументируйте ваш ответ. Подсказка: где в природе находится *E. coli*?
7. Размягчитель мяса часто используется, чтобы сделать жесткие куски мяса, например стейки, более нежными. Если вы знаете, что стейки сделаны из богатой белком мышечной ткани коров, можете ли вы придумать как работает размягчитель?
8. Соедините правильно экспериментальные процедуры и их результаты.

Результат	Процедуры
1. Собрать клетки	<i>А. Добавить протеазу и инкубировать при 50°C</i>
2. Растворить клеточные мембраны	<i>Б. Добавить холодный спирт</i>
3.Осадить ДНК	<i>В. Добавить раствор детергента</i>
4.Расщепить белки	<i>Г. Пожевать внутренние поверхности ваших щек и тщательно прополоскать водой</i>

Ответы на вопросы – Приложение 2.

Домашняя работа: предложите своим ученикам провести аналогичную работу в дома, выделить аналогичным способом ДНК, например из фруктовых соков.

Рекомендуемая литература и другие источники:

1. Альтер Анна, Кан Аксель. Удивительная генетика /перевод Погорелова М., Гришин А. Издательство: Питер, 2018 г. ISBN: 978-5-00116-034-2
2. Анна Урум. CRISPR/Cas: как и зачем редактировать геномы
https://elementy.ru/video/498/CRISPR_Cas_kak_i_zachem_redaktirovat_genomy
3. ДНК. Молекулярная генетика | Биология
<https://www.youtube.com/watch?v=pj3c3CxIfCc&list=PLxGo9dxQkqWAXHjdo6He3OHUCddwLjHGI>
4. Крейг Вентер. Расшифрованная жизнь. Мой геном, моя жизнь /перевод Образцова Л. Образцов П. Издательство: Лаборатория знаний, 2020 г 978-5-9963-1360-0
5. Михаил Гельфанд против мифов о генетике // Наука против
<https://www.youtube.com/watch?v=Kf-Qu9bNBy4>
6. Михаил Гельфанд. Все, что вы хотели знать про молекулярную биологию, но не удосужились спросить <https://www.youtube.com/watch?v=UJyVLZWhMLI>
7. Панчин Александр. Игра в Бога. Фантастические биотехнологии
https://elementy.ru/video/543/Igra_v_Boga_Fantasticheskie_biotehnologii
8. Панчин Александр. Молекулярные основы долголетия
https://elementy.ru/video/579/Molekulyarnye_osnovy_dolgoletiya
9. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии /
10. ред. К. Уилсон и Дж. Уолкер ; пер. с англ. — 4-е изд. — М. : Лаборатория знаний, 2021.
11. Ричард Докинз. Эгоистичный ген / пер. с англ. Н. Фоминой. — Москва: АСТ:CORPUS, 2013. — 512 с. — 5000 экз. — ISBN 978-5-17-077772-3.
12. Сайт «Биомолекула» <https://biomolecula.ru/>
13. Сайт «Элементы»https://elementy.ru/nauchno-populyarnaya_biblioteka/t/69870/Genetika
14. Северинов Константин Молекулярная биология
<https://www.youtube.com/watch?v=5uZM1psBWZE>
15. Северинов Константин. Введение в молекулярную биологию. Цикл лекций.
<https://www.youtube.com/watch?v=VYr9jTLsqDM&t=1881s>

Приложение 1.

ОСНОВНЫЕ СВЕДЕНИЯ О ДНК

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) это молекула, присутствующая в клетках всех живых организмов, от бактерий до высших растений и животных. ДНК переносит генетическую информацию и определяет ваш цвет волос, глаз, рост, телосложение, черты лица, группу крови и все остальное, что делает вас уникальным. Также ДНК несет информацию, необходимую клеткам для выполнения всех их функций. Ваша ДНК является комбинацией ДНК вашего отца (из его сперматозоида) и вашей матери (из ее яйцеклетки), сформировавшейся после оплодотворения. Все клетки вашего организма несут этот полный набор инструкций.

Каждый день, по мере исследования информации, закодированной в нашей ДНК, совершаются новые открытия. Знания о ДНК таят в себе возможность лечить болезни, дарят надежду миллионам людей, страдающим от различных генетических расстройств, помогают создавать улучшенные сельскохозяйственные продукты и являются ключом к долголетию. Изучая собственные гены, мы начинаем понимать, кем мы являемся и почему.

На молекулярном уровне, ДНК похожа на винтовую лестницу. Две длинных молекулы расположены одна вдоль другой и соединены «ступенями» из оснований. Структура ДНК обычно называют двойной спиралью, так как каждая из цепей закручена по спирали. Основания функционируют как буквы в генетическом коде, поэтому их обычно называют А, Т, Г, Ц (по первым буквам их полных названий – аденин, тимин, гуанин, цитозин). Каждое основание соединено с молекулой сахара и фосфатной группой. Связанные между собой сахара и фосфаты образуют сами цепи, или «остов» молекулы. (элементарная единица, из которой сложена структура ДНК, называется нуклеотидом. Она состоит из основания, сахара и фосфатной группы). Ученые обнаружили, что основания образуют пары друг с другом определенным образом: А всегда образует пару с Т, а Г – с Ц.

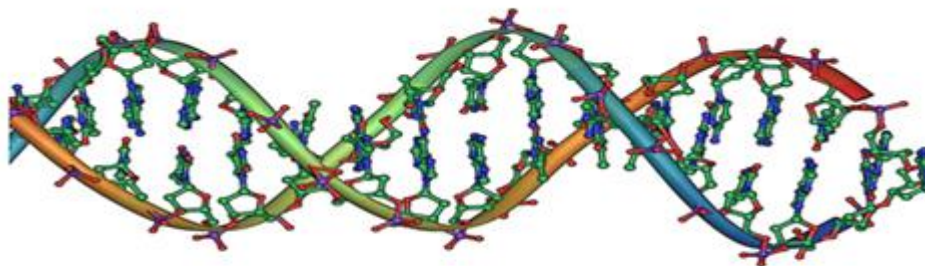


Рис 1. Схематическое изображение ДНК (дезоксирибонуклеиновой кислоты). ДНК это длинная молекула в виде цепи, которая хранит генетическую информацию

Четыре химических «буквы» в составе ДНК, образуют длинные «слова», которые называются генами. Гены содержат информацию о том, как сделать белки, являющиеся структурной и функциональной основой всех клеток. Каждая из ваших клеток содержит несколько миллиардов букв генетического «текста»

Последовательности ДНК у разных людей идентичны на 99.9%, поэтому всего 0.1% последовательности - случайные изменения в некоторых буквах - отвечает за различия между вами и вашим одноклассником.

Геном, хромосомы, гены, ДНК, РНК и белки...как все это связано друг с другом? ДНК находится в ядре каждой клетки вашего тела, за исключением зрелых эритроцитов (красных кровяных клеток). Цепи ДНК, как нитки на катушку, накручены на белки и организованы в сложные структуры, называемые хромосомами. При каждом делении клетки хромосомы копируются в процессе митоза. 46 хромосом, находящихся в клетках человека, можно уподобить 46 томам энциклопедии, которые вместе содержат всю информацию – это ваш геном.

Ген – это участок ДНК, содержащий информацию для изготовления белка. Он является «рецептом», где указан состав и порядок сборки белка. Человеческий геном содержит около 30,000 генов. Геном можно сравнить с гигантской поваренной книгой (помните, что она состоит из 46 томов). Не все рецепты в книге используются сразу в одно время, точно так же и не все гены в геноме работают одновременно в одной и той же клетке. Выборочная экспрессия разных генов отличает разные типы клеток друг от друга. Все ваши клетки содержат одни книги (хромосомы), но разные клетки «читают» оттуда разные рецепты (гены).

Хотя гены и определяют, какие белки будут сделаны клетками, ДНК не является непосредственной матрицей для синтеза белков. Такими матрицами являются молекулы РНК (рибонуклеиновой кислоты), так называемые матричные РНК (мРНК). Каждая мРНК — это копия последовательности ДНК для одного гена. мРНК это посредники, которые передают информацию из ДНК, находящейся в ядре, в цитоплазму, где находятся рибосомы – «фабрики» по производству белка. Рибосомы расшифровывают генетическую информацию и соединяют разные аминокислоты друг с другом в нужной последовательности, чтобы сделать закодированной в данном гене белок. Синтезированные в клетке белки определяют ее характерные признаки.

Приложение 2.

ОТВЕТЫ НА ВОПРОСЫ

- 1. Представьте, что вы объясняете разницу между хромосомами, генами и ДНК вашему брату или сестре, который(ая) на два года младше вас. Напишите объяснение простыми словами, которые они могли бы понять.**

ДНК – это химическое вещество, которое можно найти в любом живом существе, и которое передается от родителей к детям. В нем содержится информация, делающая нас самими собой.

Хромосомы – это длинные цепи ДНК, упакованные с помощью белков. ДНК организована в хромосомы, чтобы компактно храниться в клетке и легче копироваться при делении клеток.

Гены - это участки ДНК, кодирующие белки, которые в свою очередь выполняют большинство задач в живой клетке.

- 2. Клетка печени и клетка эпителия содержат одни и те же хромосомы?**

Да. Геномная ДНК во всех соматических (не половых) клетках одна и та же, независимо от того, что это за ткань.

- 3. Если вам надо выделить ген, который кодирует белок, находящийся в желудке, можете ли вы найти этот ген в клетках эпителия? Объясните ваше предположение.**

Ген, который кодирует белок из желудка, может быть найден в геномной ДНК клетки эпителия. Тем не менее, клетка эпителия не будет синтезировать мРНК (копии гена) белка из желудка. Ген этого белка будет экспрессироваться только в желудке.

4. После того, как мембраны растворятся, ДНК окажется в растворе, но вместе с ней там окажутся и множество других видов молекул, находившихся в клетке. Напишите, что это могут быть за молекулы.

РНК, белки, жиры, сахара, минеральные соли, АТФ и др.

5. Какие методы или агенты могут быть использованы, чтобы избавиться от этих нежелательных молекул?

Существуют ферменты, расщепляющие разные молекулы. Протеазы расщепляют белки, ДНКазы - ДНК, РНКазы – РНК. Жиры могут быть растворены с помощью детергентов. Процессы расщепления ускоряются при повышении температуры и перемешивании. Для того чтобы выделить нужные компоненты из клетки, часто используются разные виды хроматографии (основанной на разных физико-химических свойствах клеточных компонентов).

6. Протеаза, используемая в нашей работе, лучше всего работает при 50°C. Как вы думаете, ее выделили из *E. coli*? Аргументируйте ваш ответ. Подсказка: где в природе находится *E. coli*?

Заселяющая кишечник человека и животных *E. coli* существует при температуре тела – около 37°C – и это оптимальная температура работы для ее ферментов. Фермент, работающий при 50°C, скорее всего был выделен из организма, живущего при такой температуре – например, термофильной бактерии, живущей в горячем источнике.

7. Размягчитель мяса часто используется, чтобы сделать жесткие куски мяса, например стейки, более нежными. Если вы знаете, что стейки сделаны из богатой белком мышечной ткани коров, можете ли вы придумать как работает размягчитель?

Многие размягчители содержат протеазу из плодов папайи – папаин. Эта протеаза частично расщепляет молекулы белков соединительной ткани, делая мясо более мягким и нежным.

8. Соедините правильно экспериментальные процедуры (справа) и их результаты (слева):

Результаты	Процедуры	Ответ
Собрать клетки	Пожевать внутренние поверхности ваших щек и тщательно прополоскать водой	1 Г
Растворить клеточные мембраны	Добавить раствор детергента	2 В
Осадить ДНК	Добавить холодный спирт	3Б
Расщепить белки	Добавить протеазу и инкубировать при 50°C	4А