

**Региональная общественная организация
"Ассоциация победителей олимпиад"**

УТВЕРЖДАЮ

Президент РОО "АССОЦИАЦИЯ
ПОБЕДИТЕЛЕЙ ОЛИМПИАД"

А.А. Шишов

» 2021 г.



ПРОГРАММА
дополнительного профессионального образования
(повышение квалификации)

Новейшие открытия в области биологии.

Раздел молекулярная генетика

Авторы: Шувалова М.Л., магистр биол. наук, аспирант и науч. сотрудник Института биологии гена Российской академии наук, преподаватель Московского физико-технического института, преподаватель Первого медицинского университета имени Сеченова, преподаватель образовательного центра "Сириус"

Молодова М.Н., преподаватель кафедры биологии АПО, выпускница лаборатории структурно-функциональной организации хромосом ИБГ РАН

Москва, 2021

Раздел 1. Характеристика программы

1.1. Цель реализации программы

Совершенствование профессиональных компетенций обучающихся в области новейших открытий в биологии в разделе молекулярной генетики.

Совершенствуемые компетенции

№	Компетенция	Направление подготовки «Педагогическое образование»
		44.03.01
		Бакалавриат
1	Способен осуществлять педагогическую деятельность на основе специальных научных знаний	ОПК-8

1.2. Планируемые результаты обучения

№	Уметь:	Направление подготовки «Педагогическое образование»
		44.03.01
		Бакалавриат
1	<p>Уметь:</p> <ul style="list-style-type: none">● Интегрировать в образовательный процесс современные научные достижения в области биологии в разделе молекулярная генетика;● организовать учебный процесс на основе интереса обучающихся к современным научным достижениям в области биологии в разделе молекулярная генетика;● составлять план урока по темам молекулярной генетики, изученным в курсе. <p>Знать:</p>	ОПК-8

	<ul style="list-style-type: none"> ● Современные научные достижения в области биологии по разделе молекулярная генетика; ● методы организации учебного процесса по темам молекулярной генетики; ● методику составления плана урока по темам молекулярной генетики, изученным в курсе. 	
--	--	--

1.3. Категория обучающихся: слушатели, имеющие высшее образование или получающие высшее образование.

1.4. Форма обучения: заочная с применением ДОТ.

1.5. Режим занятий: 4 часа в неделю.

1.6 Срок освоения (трудоемкость) программы: 22 часа.

Календарный учебный график составляется на каждую группу отдельно.

Раздел 2. Содержание программы

2.1. Учебный (тематический) план

№ п/п	Наименование разделов и тем	Всего час.	Виды учебных занятий, учебных работ		Формы контрол я
			Лекци и/ видео лекци и	Самосто ятельна я работа	
1.	Лекция 1. Введение в генетическую инженерию. Клонирование	5	2	3	Тест, самостоятельная работа
2.	Лекция 2. Генетическая инженерия растений и животных.	2	1	1	Тест
3.	Вебинар по темам 1 и 2	2	2		
4.	Лекция 3. Секвенирование. «Геном человека».	2	1	1	Тест

5.	Лекция 4. Редактирование генома	5	2	3	Самостоятельная работа
6.	Вебинар по темам 3 и 4	2	2		
13.	Итоговое задание	4		4	Итоговое задание
	Итого часов	22			

2.2. Учебная программа

Наименование тем	Виды учебных занятий, учебных работ	Содержание
Тема 1. Введение в генетическую инженерию. Клонирование	Видеолекция 2 часа Самостоятельная работа 3 часа	История молекулярной биологии. Эра геномики. Постгеномная эра. Получение фрагментов ДНК: рестрикция; ПЦР. Схема типичного эксперимента по клонированию.
Тема 2. Генетическая инженерия растений и животных.	Видеолекция 1 час Самостоятельная работа 1 час	Методы генетической инженерии растений. Методы генетической инженерии животных.
Вебинар по темам 1 и 2	Вебинар 2 часа	Вебинар по темам 1 и 2.
Тема 3. Секвенирование . «Геном человека».	Видеолекция 1 часа Самостоятельная работа 1 часа	Секвенирование белков. Секвенирование нуклеиновых кислот. Практическое применение секвенирования. Проект “геном человека”.
Тема 4. Редактирование генома	Видеолекция 2 часа Самостоятельная работа 3 часа	Генная терапия. “Классический” подход. От рестриктаз до дизайнерских нуклеаз. CRISPR-Cas9.
Вебинар по темам 3 и 4	Вебинар 2 часа	Вебинар по темам 3 и 4.
Итоговое задание	Самостоятельная работа 4 часа	Выполнение итогового задания.

Раздел 3. Формы аттестации и оценочные материалы

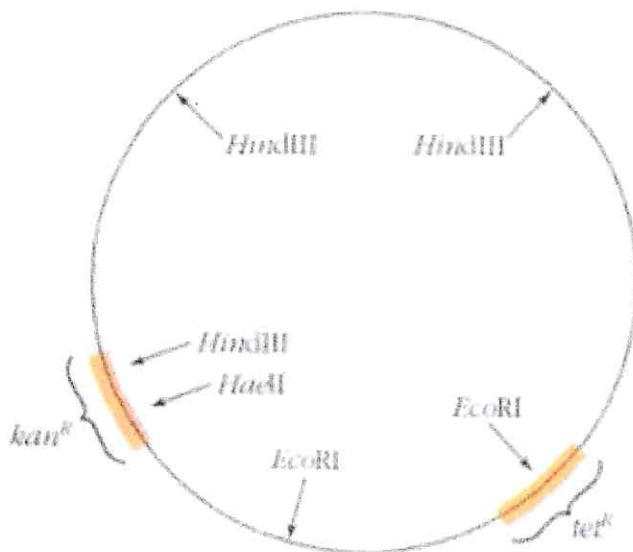
Задачи для самостоятельного решения

Домашнее задание 1.

Домашнее задание (оформляйте ответы на задачи прямо в этом документе и затем подгрузите его на платформу):

Представьте, что вы хотите изучить определенный белок из семейства кристаллинов (белки, входящие в состав хрусталика глаза человека). Для получения большого количества целевого белка вы решили клонировать кодирующий его ген. Предположим, нуклеотидная последовательность гена известна. Опишите последовательность ваших действий.

Задача 1. Ген для белка β -тубулина был получен из гриба Neurospora, вставлен в кольцевую плазмиду и клонирован в бактерии E.coli. Опишите шаг за шагом последовательность действий, необходимых для того, чтобы клонировать этот ген от родственного гриба Podospora, используя в качестве вектора кольцевую плазмиду pBR, представленную на рисунке справа, которая несет два гена устойчивости к антибиотикам канамицину (*kan*^R) и тетрациклину (*tet*^R).



Задача 2.

Во время пожара в помещении погибло 3 молодых человека. Родительская пара хотела бы точно знать, нет ли среди погибших их сына, который накануне не вернулся домой. При молекулярно-генетической дактилоскопии останков 3 погибших генетики выделили ДНК из костей и после

ПЦР-амплификации, используя метод фингерпринта ДНК, проанализировали гены А и Б, которые содержат tandemно повторяющиеся последовательности вариабельной длины. Они также проанализировали эти два гена у родительской пары.

Результаты анализа представлены в таблице, где число показывает количество копий tandemного повтора в каждом аллеле. Например, у погибшего №3 имеется один аллель с 8, а другой аллель с 9 копиями tandemных повторов в гене А. Исходя из полученных данных, можно ли указать, кто из трех погибших может быть сыном этой родительской пары?

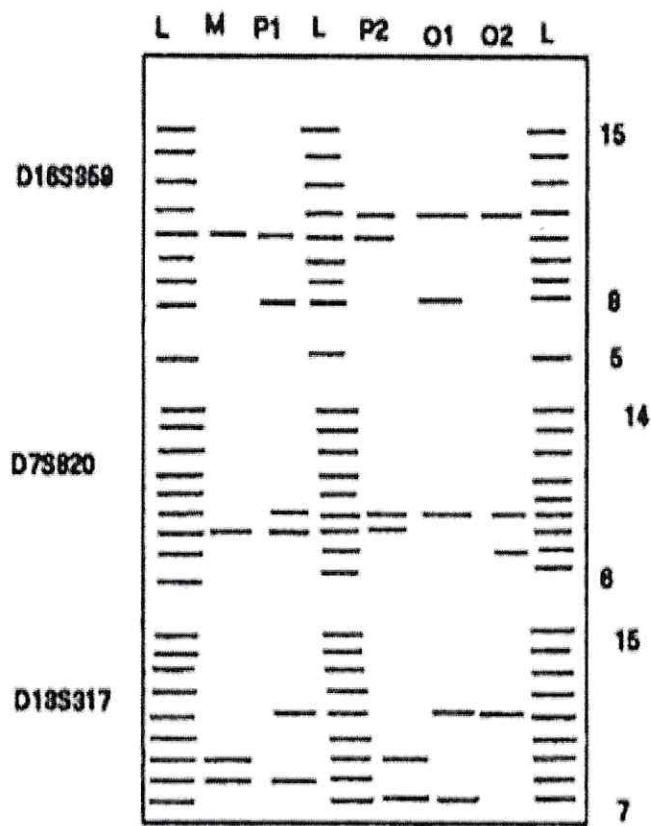
Образцы	Ген А	Ген Б
юноша №1	6/8	5/5
юноша №2	7/8	5/7
юноша №3	8/9	7/7
мать	8/8	3/5
отец	7/10	7/7

Задача 3. Геном *Drosophila melanogaster*, состоящий из четырёх хромосом, содержит около 10^8 нуклеотидных пар ДНК. При создании геномной библиотеки дрозофилы меланогастер также использовали рестрикционный фермент EcoRI (узнает последовательность 5'-GAATTC 3'), а полученные фрагменты были встроены в вектор и клонированы в *E. coli*. Сколько различных клонов, содержащих отличающиеся фрагменты ДНК *Drosophila melanogaster*, составляют геномную библиотеку вида в данном случае?

Задача 4. Рассчитайте среднее расстояние между сайтами рестриктаз *EcoRI* (5'-GAATTC) и *MboI* (5'-GATC) в геномной ДНК.

Задача 5. Представлена электрофорограмма, полученная при окрашивании серебром 4%-го денатурирующего полиакриламидного геля, на который нанесены пробы с продуктами ПЦР-амплификации трех тетрануклеотидных микросателлитных локусов (D16S539, D7S820 и D13S317), применяемых для идентификации личности, в образцах ДНК матери (M), двух ее детей (P1 и P2) и двух предполагаемых отцов (O1 и O2). L — маркер, который состоит из амплифицированных фрагментов изучаемого локуса с различным количеством повторов, цифрами справа обозначено количество повторов.

Установите, какой из предполагаемых отцов не является таковым, и определите генотипы у всех изученных лиц.



Домашнее задание 2.

Домашнее задание (оформляйте ответы на задачи прямо в этом документе и затем подгрузите его на платформу):

Дайте развернутые ответы на вопросы:

1. В чем преимущество использования стволовых клеток для генной терапии или редактирования генов?
2. Оставив в стороне этические соображения, подумайте, как, в случае широкого распространения редактирования генов, технологии могли бы повлиять на ход эволюции, по сравнению с естественными эволюционными механизмами, которые действовали последние 4 млрд лет?
3. Неспособная к разрезанию ДНК форма Cas9 (dCas9) нашла очень широкое применение. Предложите, какие новые исследовательские приёмы могут быть на ней основаны.

Задача 1. Рестрикционный фермент Hind III разрезает ДНК по последовательности AAGCTT. Насколько часто этот фермент будет разрезать двухцепочечную ДНК? (Иными словами, какова средняя длина фрагментов разрезанной ДНК?)

Задача 2. Линейная молекула ДНК величиной 17 кб была разрезана на фрагменты двумя рестриктазами. При разрезании рестриктазой №1 ДНК разрезается на 3 фракции величиной 8, 6 и 3 кб. При разрезании рестриктазой №2 на две фракции: 10 и 7 кб ДНК, разрезанная сразу 2 рестриктазами, состоит из 4 фракций: 8, 6, 2 и 1 кб. В каком порядке полученные рестрикционные фрагменты расположены в исходной молекуле ДНК величиной 17 кб? (Иными словами, необходимо построить рестрикционную карту ДНК величиной 17 кб).

Задача 3.

Лечение генетических заболеваний – активно развивающееся направление в науке. Наибольшие успехи достигнуты в изучении моногенных болезней - заболеваний, развитие которых обусловлено одним-единственным геном. Одним из таких заболеваний является муковисцидоз. Мы предлагаем вам поработать над одним из потенциально возможных способов терапии этого заболевания.

1) Вам предлагается один из существующих вариантов мутантного гена (Данные 1), последовательность без мутации (Данные 2). Напишите последовательность РНК, комплементарной участку, который вы будете вырезать. Длина участка – не более 50 нуклеотидов и не менее 11 нуклеотидов.

Поле	ДНК мутации
ДНК мутантного гена (Данные 1)	TCTGTTCCCTCCTCTCTTATTAGCTGGACC AGACCAATTTGAGGAAAAGATAACAGACAG CGCCTGGAATTGTCA GACATATACCAAATCCCTCTGTT
ДНК без мутации (Данные 2)	TCTGTTCCCTCCTCTCTTATTAGCTGGACC AGACCAATTTGAGGAAAGGATAACAGACAG CGCCTGGAATTGTCA GACATATACCAAATCCCTCTGTT
Последовательность РНК	
Ключевой фрагмент (5н+мутация+5н)	

Ключевой фрагмент зеркально	
-----------------------------	--

2) Создание эффектора

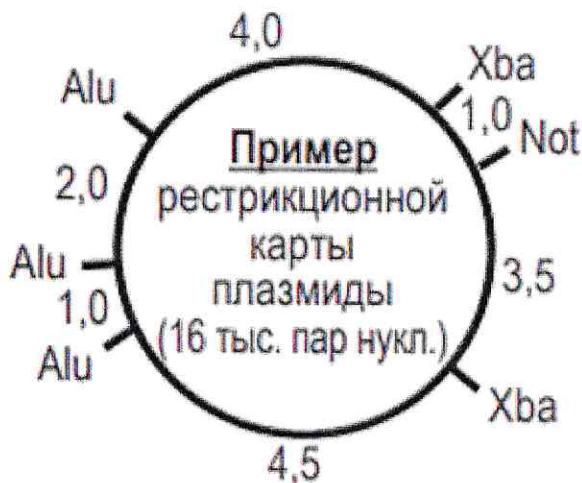
Cas9 – нуклеаза, которая разрезает двуцепочечную ДНК в одном месте.

Чтобы вырезать участок гена, нужно внести 2 разрыва в разных местах, по сторонам от участка, содержащего мутацию. Таким образом, необходимы 2 гидовых РНК для Cas9, комплементарные двум разным участкам.

Вам необходимо написать последовательность РНК-гидов, которые позволяют Cas9 вырезать намеченный вами участок гена. Вам предложено 2 поля. В каждое из них нужно ввести последовательность той части гидовой РНК, комплементарность которой к ДНК будет проверять Cas9. Cas9 вносит двунитевой разрыв после третьего нуклеотида с 3'-конца узнаваемой последовательности ДНК.

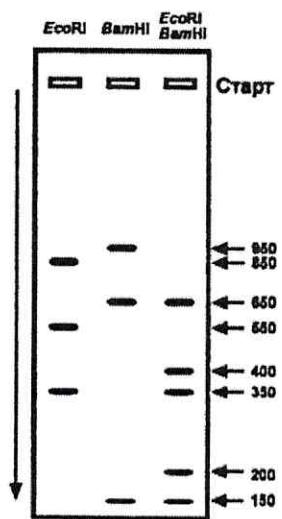
Поле 1. Варианты ответа	Поле 2. Варианты ответа
Последовательность Последовательность 1 в зеркальном виде	Последовательность Последовательность 2 в зеркальном виде

Задача 4. Из клеток бактерий выделили небольшую кольцевую ДНК – плазмиду, несущую ген устойчивости к пенициллину. Расщепление этой плазмиды тремя рестриктазами дало следующие фрагменты (см. таблицу). По этим данным постройте рестрикционную карту плазмиды, расположив на ней все точки расщепления. Ответ обоснуйте и оформите по образцу (как на рисунке).



Рестриктазы	Длины фрагментов в тысячах пар нуклеотидов
Sal	Два по 5
Hind	6 и 4
Ava	6 и 4
Sal + Hind	4; 3; 2 и 1
Sal + Ava	4; 3; 2 и 1
Hind + Ava	4 и три по 2

Задача 5. Линейный фрагмент ДНК обработали рестриктазой *EcoRI*, рестриктазой *BamHI* и их смесью. Продукты реакций разделили в агарозном геле и окрасили бромистым этидием. Результаты электрофореза представлены на рисунке. Цифры справа указывают приблизительные размеры фрагментов в п. н. Постройте рестрикционную карту фрагмента.



Итоговое задание

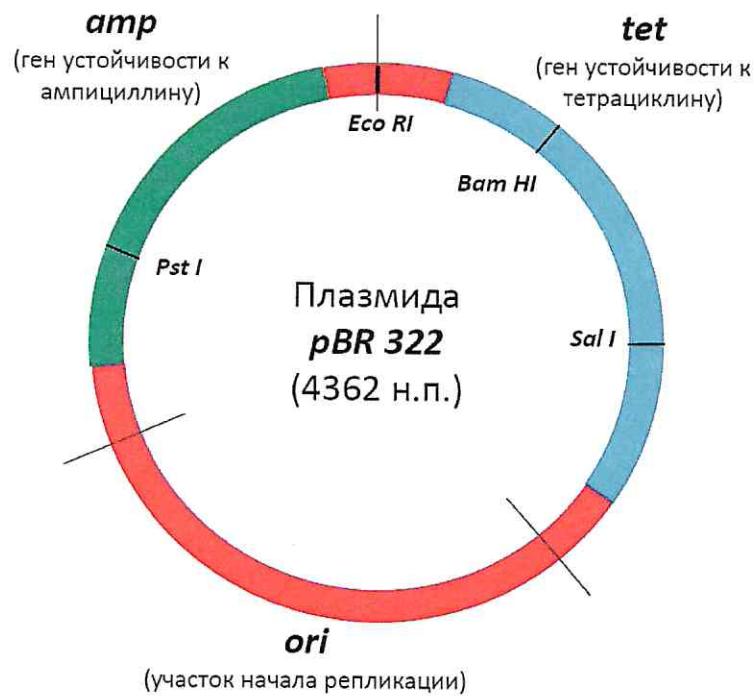
Блок 1. Методическое применение знаний, полученных в ходе изучения материала курса

Ответьте в свободной форме на следующие вопросы:

- 1) Как Вы считаете, в уроки по каким темам можно интегрировать полученные Вами на курсе знания? Ответьте на вопрос, исходя из Вашего методического плана.
- 2) Составьте план урока по “Новым явлениям в биологии”. Используйте темы, которые были затронуты на курсе.
- 3) Выберите одно-два понятия, которые рассматривались на курсе (секвенирование ДНК, вектор, трансформация и т.д.) и приведите примеры, как бы Вы объяснили их ученикам. Приветствуется использование шуток, мемов, и “небиологических” аналогий.
- 4) Существуют системы CRISPR/Cas, распознающие и расщепляющие РНК. Предложите, как можно их использовать для фундаментальных исследований или в медицине.

Блок 2. Закрепление пройденного материала (оформляйте ответы на задания прямо в этом документе и затем подгрузите его на платформу)

- 1) Для внесения чужеродного гена в организм необходим своеобразный “шаттл” - генетическая конструкция, которая обеспечит интеграцию ДНК в организм реципиента и нормальное функционирование вставленного гена. На практике для этих целей часто используют плазмиду под названием pBR 322. Ее карта выглядит вот так:



Эта плазмида несет два гена устойчивости к антибиотикам: к ампициллину и тетрациклину. Также подписаны места, где будут проводить расщепления разные рестриктазы (названия рестриктаз - EcoRI, Bam HI, Sal I, Pst I). *Дайте ответ на следующий вопрос: если мы хотим, чтобы сохранилась устойчивость к ампициллину, но пропала устойчивость к тетрациклину, в*

какое место плазиды мы будем вставлять наш целевой ген и какой рестриктазой мы будем пользоваться?

- 2) **Кишечная палочка** (лат. *Escherichia coli*) — вид грамотрицательных палочковидных бактерий, широко используемых в генетической инженерии для получения рекомбинантного белка.

Дайте ответ на следующий вопрос: если мы хотим получить как можно больше бактериальных клеток, то при какой температуре нам следуют культивировать эту бактерию?

- 3) Представьте, что вы хотите изучить определенный белок из семейства кристаллинов (белки, входящие в состав хрусталика глаза человека). Для получения большого количества целевого белка вы решили клонировать кодирующий его ген. Предположим, нуклеотидная последовательность гена известна. Опишите последовательность ваших действий.

Раздел 4. Организационно-педагогические условия реализации программы

Список литературы:

1. Gene cloning and DNA analysis: an introduction / T.A. Brown. ISBN 978-1-4051-8173-0 (pbk. : alk. paper) – ISBN 978-1-4443-3407-4 (hbk. : alk. paper)
2. Гончаренко Г.Г. Основы генетической инженерии. Методическое пособие/Отв.ред. Л.В. Хотылева.– Гомель: УО «ГГУ им. Ф.Скорины», 2003. – 118 с.
3. <https://biomolecula.ru/articles/12-metodov-v-kartinkakh-gennaia-inzhenerii-chast-i-istoricheskaya>
4. <https://biomolecula.ru/articles/12-metodov-v-kartinkakh-gennaia-inzhenerii-chast-ii-instrumenty-i-tehniki>
5. <https://biomolecula.ru/articles/tri-pokoleniya-lekarstv>
6. <https://biomolecula.ru/articles/gennaia-terapiia-poznayte-s-lekarstvami-budushchego>
7. <https://biomolecula.ru/articles/prosto-o-slozhnom-crispr-cas>
8. <https://biomolecula.ru/articles/chelovek-genomodifitsirovannyi-homo-gene-edited#source-10>
9. <https://biomolecula.ru/articles/mutagennaia-tseplnaia-reaktsiia-redaktirovanie-genomov-na-grani-fantastiki>

5. Материально-технические условия реализации программы

№ п/п	Место проведения занятий	Оборудование учебного кабинета для проведения вебинаров с перечнем основного оборудования
1	Олимпийский пр., 11	Ноутбук Lenovo V580c 59381128 i5 3230M/4/500/DVD-RW/GT740M/WIFI/BT /Win8/15/6". Многофункциональное устройство HP LaserJet Pro M1132 MFP (CE847A)