

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

РАССМОТРЕНО

На заседании Методического совета
АОУ УР «РОЦОД»
Протокол № 3 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.

УТВЕРЖДАЮ

Директор АОУ УР «РОЦОД»
Р.Р. Бякова
Приказ № 19/логот от 31.08. 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 общеразвивающая программа «Генная инженерия» естественнонаучной направленности, имеет продвинутый уровень сложности и ориентирована на развитие одаренности школьников области науки.

Биология – это самая быстро развивающаяся наука XXI века. В первую очередь это связано с появлением такого ее раздела как генная инженерия. Именно благодаря методам генной инженерии были сделаны важнейшие открытия настоящего времени, которые принесли не одну Нобелевскую премию тем, кто их использовал.

Генная инженерия позволяет создать организм с заранее запрограммированными, нужными человеку новыми качествами за счет изменения его генетической информации. Появление трансгенных растений, устойчивых к воздействию низких температур, вирусных инфекций и насекомых-вредителей – всего лишь одни из многих преимуществ, которые открыла для сельского хозяйства генная инженерия.

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

Задачи:

1. сформировать у слушателей 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 слушателей практические навыки по проведению генно-инженерных экспериментов и умение интерпретировать получаемые результаты.

Адресат программы: программа предназначена для обучающихся 14-17 лет.

Объем программы: программа рассчитана на 144 часа.

Сроки освоения программы: 1 год обучения – с сентября 2020 г. по май 2021 г.

Режим и продолжительность занятий: программа предусматривает недельную нагрузку по 2 часа 2 раза в неделю.

Состав группы: группы могут быть одно- и разновозрастными, смешанными или однополыми. Для более успешного усвоения курса желательно количество детей в группе 10-12 человек.

Формы работы: лекция, лабораторная работа, практическая работа, экскурсия, семинар, консультация.

Учебно-познавательная деятельность детей организуется в интерактивном режиме с использованием следующих **методов обучения:** объяснительно-иллюстративных, практических, исследовательских, проблемных.

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

2. Планируемые результаты освоения программы

Обучающийся, освоивший программу, будет:

знать:

- историю становления генетики и ее место в системе естественных наук;
- достижения в области молекулярной генетики и генной инженерии;
- структуру и функции элементарной единицы наследственности – гена;
- молекулярные механизмы генетических процессов, основы генетической инженерии, популяционной и эволюционной генетики;
- методы генетического анализа и сферу их применения;
- строение и состав генома прокариотических и эукариотических организмов;
- возможности использования методов генетики в селекции растений, животных и в медицинской практике.

уметь:

- работать с классическими объектами генетических исследований;
- применять естественнонаучные знания на практике;
- выявлять и анализировать экспрессию генов чужеродных организмов.

владеть:

- основными современными методами и приемами проведения экспериментальных исследований;
- методами генетического, мутационного, цитологического, молекулярно-генетического анализа;
- навыками обработки и представления полученных результатов.

3. Материально-техническое обеспечение дополнительной общеразвивающей программы «Генная инженерия»

Занятия проводятся в специализированной аудитории: в молекулярно-биологической лаборатории. В лаборатории имеется все необходимое учебно-лабораторное оборудование для проведения практических работ по данной дисциплине: амплификатор T100, спектрофотометр, камеры для электрофореза, ПЦР-бокс, центрифуга, термостат для микропробирки и др.; химическая посуда, стерильные расходные материалы и химические реактивы.

4. Учебный план

№ п/п	Наименование разделов и тем	Всего часов	Количество часов		Форма (аттестации) контроля
			Теорет.	Практич.	
1.	Структура и стабильность генома	18	10	8	
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	
2.	Реализация генетической информации	20	12	8	Семинарское занятие
2.1	Транскрипция	4	2	2	
2.2	Регуляция транскрипции	4	2	2	
2.3	Созревание мРНК	2	2		
2.4	Жизненный цикл мРНК эукариот	2	2		
2.5	Трансляция	4	2	2	
2.6	Посттрансляционная судьба белков	4	2	2	
3.	Базовые методы генной инженерии	30	12	18	Семинарское занятие
3.1	Базовые биологические понятия. Задачи генной инженерии	4	2	2	
3.2	Рестрикция. Классы рестриктаз	6	2	4	
3.3	Лигирование	4	2	2	
3.4	Гель-электрофорез	6	2	4	
3.5	Плазмиды и их структурные элементы	6	2	4	
3.6	Бактериальные штаммы, трансформация, компетентность	4	2	2	
4.	Полимеразная цепная реакция, обратная транскрипция	18	8	10	Семинарское занятие
4.1	Полимеразная цепная реакция (ПЦР)	6	2	4	
4.2	ПЦР. Технические подробности	4	2	2	
4.3	Вариации ПЦР	4	2	2	
4.4	Обратная транскрипция	4	2	2	
5.	Высокопроизводительное клонирование	16	12	4	Семинарское занятие
5.1	Высокопроизводительное клонирование	2	2		
5.2	Стандартизация в клонировании рестрикцией-лигированием	2	2		

5.3	Рестриктазы PIS, GoldenGate и GoldenBraid клонирование	2	1	1	
5.4	Клонирование за счет создания одностебельных концов	2	1	1	
5.5	Рекомбинационное клонирование	2	2		
5.6	Сайт-специфический мутагенез	2	2		
5.7	Клонирование при помощи совместной ПЦР вставки и вектора	4	2	2	
6.	Синтез генов	16	8	8	Семинарское занятие
6.1	Химический синтез олигонуклеотидов	4	2	2	
6.2	Основные принципы синтеза генов	4	2	2	
6.3	Коррекция ошибок при синтезе генов	4	2	2	
6.4	Синтез геномов	4	2	2	
7.	Биоинформатика	18	6	12	Семинарское занятие
7.1	Введение в теорию биоинформатики	4	4		
7.2	Программное обеспечение Unipro UGENE	14	2	12	
8	"Геномное редактирование" Олимпиады НТИ	8	2	6	Хакатон с защитой исследовательских работ
	ИТОГО	144	70	74	

5. Содержание программы

1. Структура и стабильность генома

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. Что такое прямая и эксцизионная репарация. 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.

2. Реализация генетической информации

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 регуляторах. Посттрансляционная модификация аминокислот. Деградации белков и роли в этом убиквитина.

3. Базовые методы генной инженерии

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.

4. Полимеразная цепная реакция, обратная транскрипция.

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

5. Высокопроизводительное клонирование

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

6. Синтез генов

Химический синтез олигонуклеотидов. Основные принципы синтеза генов. Коррекция ошибок при синтезе генов. Синтез геномов.

7. Биоинформатика

Введение в теорию биоинформатики. Программное обеспечение Unipro UGENE. 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, тандемных.

8. "Геномное редактирование" Олимпиады НТИ. Ознакомление с олимпиадой., заданиями олимпиады.

6. Календарный учебный график

Сроки реализации по годам освоения программы	I полугодие			II полугодие		Всего учебных недель
	Начало учебного года	16 недель		20 недель		
1 год	1-ый учебный день учебного года	У	А	У	ИА	36

Условные обозначения:

У – учебные занятия по расписанию

А – аттестация (текущая, промежуточная)

ИА – итоговая аттестация

7. Формы аттестации

Контроль результатов реализации программы осуществляется в виде защиты проектных и исследовательских работ.

8. Контрольно-измерительные материалы

Общие критерии оценивания:

Критерии		Максимальный уровень достижений учащихся
A	Планирование и раскрытие плана, развитие темы	
B	Сбор информации	
C	Выбор и использование методов и приемов	
D	Анализ информации	
E	Организация письменной работы	
F	Анализ процесса и результата	
G	Личное участие	
ИТОГО		

Максимально возможное количество баллов – 28 баллов

1. *Планирование и раскрытие плана, развитие темы.* (1-4 балла) Высший балл ставится, если ученик определяет и четко описывает цели своего проекта, дает последовательное и полное описание того, как он собирается достичь этих целей, причем реализация проекта полностью соответствует предложенному им плану.

2. *Сбор информации.* (1-4 балла) Высший балл ставится, если персональный проект содержит достаточное количество относящейся к делу информации и ссылок на различные источники.

3. *Выбор и использование методов и приемов.* (1-4 балла) Высший балл ставится, если проект полностью соответствует целям и задачам, определенным автором, причем выбранные и эффективно использованные средства приводят к созданию итогового продукта высокого качества.

4. *Анализ информации.* (1-4 балла) Высший балл по этому критерию ставится, если проект четко отражает глубину анализа и актуальность собственного видения идей учащимся, при этом содержит по-настоящему личностный подход к теме.

5. *Организация письменной работы.* (1-4 балла) Высший балл ставится, если структура проекта и письменной работы (отчета) отражает логику и последовательность работы, если использованы адекватные способы представления материала (диаграммы, графики, сноски, макеты, модели и т. д.).

6. *Анализ процесса и результата.* (1-4 балла) Высший балл ставится, если учащийся последовательно и полно анализирует проект с точки зрения поставленных целей, демонстрирует понимание общих перспектив, относящихся к выбранному пути.

7. *Личное участие.* (1-4 балла) Считается в большей степени успешной такая работа, в которой наличествует собственный интерес автора, энтузиазм, активное взаимодействие с участниками и потенциальными потребителями конечного продукта и, наконец, если ребенок обнаружил собственное мнение в ходе выполнения проекта.

9. Список учебно-методической литературы и ресурсов для педагога и учащегося:

Базы и банки данных, базовых пакетов, программных средств для полного анализа макромолекул в биоинформатике с их адресами в Интернете:

1. **GenBank** // [Электронный ресурс]: банк данных по нуклеотидным последовательностям (3400000000 пар оснований в 461000 последовательностей URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank> (Дата обращения: 10.08.2020).
2. **SWISS-PROT** // [Электронный ресурс]: аннотированный банк данных по аминокислотным последовательностям белков. URL: <http://www.expasy.ch/sprot/sprot-top.htm> (Дата обращения: 10.08.2020)
3. **PIR** // [Электронный ресурс]: аннотированный банк данных по аминокислотным последовательностям белков, организованных в соответствии с гомологией и таксономией. URL: <http://www.nbrf.georgetown.edu/pir/searchdb.html> (Дата обращения: 10.08.2020)
4. **PDB** // [Электронный ресурс]: банк данных по 3D структуре биологических макромолекул. URL: <http://www.rcsb.org/pdb/> (Дата обращения: 10.08.2020)
5. **NDB** // [Электронный ресурс]: банк данных по нуклеиновым кислотам. Включает структуры ДНК и РНК вместе с их 3-хмерными изображениями. Структуры хранятся в формате «pdb» и могут быть визуализированы программой RasMol (www.rasmol.org) URL: <http://ndbserver.rutgers.edu> (Дата обращения: 10.08.2020)
6. **ProDom** // [Электронный ресурс]: банк данных по доменам белков. URL: <http://protein.toulouse.inra.fr/prodom.html> (Дата обращения: 10.08.2020)
7. **NCBI** // [Электронный ресурс]: крупнейший биоинформатический веб-сайт, предоставляющий доступ к базам данных белковых и нуклеотидных последовательностей, экспрессии генов, мутаций, эволюции генных семейств. URL: www.ncbi.nlm.nih.gov (Дата обращения: 10.08.2020)
Выбор конкретной базы осуществляется в поле «Search».
8. **EMBL-EBI** // [Электронный ресурс]: веб-сайт Европейского биоинформатического института, содержащий широкий круг баз данных аналогичный **NCBI**. URL: www.ebi.ac.uk (Дата обращения: 10.08.2020)
Помимо баз данных сайт предоставляет доступ к наиболее популярным биоинформатическим программам для анализа данных (**BLAST, ClustalW, Muscle, GeneWise**).
9. **PubMed** // [Электронный ресурс]: крупнейшая база данных научных публикаций по биологии и медицине. Для всех статей доступны открытые аннотации. URL: www.pubmed.org (Дата обращения: 10.08.2020)
10. **GeneCards** // [Электронный ресурс]: 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. URL: www.genecards.org (Дата обращения: 10.08.2020)
11. **International Hap Map Project** // [Электронный ресурс]: база данных международного проекта по обнаружению распространённых мутаций (полиморфизмов) в человеческом геноме. URL: www.hapmap.org (Дата обращения: 10.08.2020)

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.

Перечень ПО и ресурсов для педагога и учащегося:

Программа 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://rasmol.org/RasWin_Latest_Instalier.exe

Ряд оригинальных компьютерных программ, баз и банков данных, созданных российскими учеными, можно также найти по разным поисковикам на других многочисленных сайтах по биоинформатике.

***ГОСТ Р 7.0.5 2008 БИБЛИОГРАФИЧЕСКАЯ ССЫЛКА Общие требования и правила составления