

Документ подписан простой электронной подписью

Информация о владельце:

ФИО: Лизунова Лариса Рейновна

Должность: Проректор по образовательной деятельности и информатизации

Дата подписания: 08.12.2025 13:57:13

Уникальный программный ключ:

2df9c6861881908afc45bec7d5c59521a758d4b5451a3be46a642db74e588d11

Министерство просвещения Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Пермский государственный гуманитарно-педагогический университет»

Центр дополнительного образования "Дом научной коллаборации им. А.А.Фридмана"

«СОГЛАСОВАНО»



Директор института дополнительного образования
Н.А.КРАСНОБОРОВА

« 13 » января 2025 г.

«УТВЕРЖДАЮ»



ректор К.Б. ЕГОРОВ

« 13 » января 2025 г.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ОБЩЕОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ (ОБЩЕРАЗВИВАЮЩАЯ)
ПРОГРАММА

«Биотехнология и молекулярная биология»

Направление программы - естественнонаучное

Возраст обучающихся - 16-18 лет

Объем - 36 часов

г.Пермь

2025

Дополнительная общеобразовательная (общеразвивающая) программа разработана в Центре дополнительного образования "Дом научной коллаборации им. А.А.Фридмана" в соответствии с приложением 1.2 к лицензии на ведение образовательной деятельности от 01.07.2016 г. № 2239 "Дополнительное образование детей и взрослых"

Разработчики:

Лаврский А.Ю., кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии и географии естественнонаучного факультета ПГГПУ.

Лаврская Е.А., аспирант ПГНИУ, ассистент кафедры биологии и географии естественнонаучного факультета ПГГПУ.

Рецензент: Ганщук С.В., кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии и географии естественнонаучного факультета ПГГПУ.

Аннотация

Программа имеет практикоориентированный характер, позволяет активизировать познавательную деятельность учащихся в области биохимии и наук о структуре живой клетки, получить и в дальнейшем совершенствовать навыки самостоятельной исследовательской работы с применением классических и современных методов и оборудования. Основной формой работы учащихся является решение кейсов, практическая, экспериментальная деятельность под руководством опытных наставников. Результатом работы учащихся является самостоятельно спланированный и реализованный проект по клеточной биологии или микробиологии с последующей групповой защитой.

Актуальность Программы В XXI веке генетика занимает центральное место в системе биологических и медицинских наук. Достижения современной генетики способствуют решению многих теоретических и практических проблем, касающихся сущности жизни. Эта наука сыграла ведущую роль в разработке современной теории эволюции, стала основой для возникновения и развития молекулярной биологии. Велико практическое значение генетики, так как она представляет собой теоретическую основу селекции полезных для человека микроорганизмов, сортов культурных растений и пород домашних животных, способствует успехам практической медицины. Помимо этого, генетические знания имеют важное мировоззренческое значение, поскольку позволяют человеку правильно понимать сущность природных процессов и явлений.

Новизна Программы заключается в том, что впервые в ее основу положено системное, поэтапное ознакомление с вопросами по молекулярной биологии, медицинской генетике, цитогенетике, генетике человека и другим аспектам. Реализация данной программы содействует конкретизации законов генетики, способствует пропаганде генетических знаний, обучающиеся начинают с большей ответственностью относиться к себе, к окружающим людям, к окружающей среде.

Программа «**Биотехнология и молекулярная биология**» разработана в соответствии со следующими нормативно-правовыми документами:

- Федеральный закон от 29 декабря 2012 г. № 273-ФЗ «Об образовании в Российской Федерации».
- Концепция развития дополнительного образования детей до 2030 года, утвержденная Распоряжением Правительства Российской Федерации от 31.03.2022 г. №678-р.
- Распоряжение Правительства Российской Федерации от 29.05.2015 № 996-р «Об утверждении Стратегии развития воспитания в Российской Федерации до 2025 года».
- Приказ Министерства просвещения Российской Федерации от 27.07.2022 № 629 «Об утверждении Порядка организации и осуществления образовательной деятельности по дополнительным общеобразовательным программам».
- Постановление Главного государственного санитарного врача от 28.09.2020 г. № 28 «Об утверждении санитарных правил СП 2.4.3648-20 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям воспитания и обучения, отдыха и оздоровления детей и молодежи».
- Письмо Министерства образования и науки Российской Федерации «О направлении информации» от 18.11.2015 г. № 09-3242 «Методические рекомендации по проектированию дополнительных общеразвивающих программ (включая разноуровневые программы)».
- Приказ Министерства образования и науки Российской Федерации от 23.08.2017 № 816 «Об утверждении Порядка применения организациями, осуществляющими образовательную деятельность, электронного обучения, дистанционных образовательных технологий при реализации образовательных программ».
- «Методические рекомендации Министерства просвещения Российской Федерации от 20.03.2020 по реализации образовательных программ начального общего,

основного общего, среднего общего образования, образовательных программ среднего профессионального образования и дополнительных общеобразовательных программ с применением электронного обучения и дистанционных образовательных технологий».

• Письмо Министерства образования и науки Российской Федерации от 28.08.2015 года № АК – 2563/05 «О методических рекомендациях» (Методические рекомендации по организации образовательной деятельности с использованием сетевых форм реализации образовательных программ).

• Приказ Министерства науки и высшего образования Российской Федерации и Министерства просвещения Российской Федерации от 05.08.2020 № 882/391 «Об организации и осуществлении образовательной деятельности при сетевой форме реализации образовательных программ».

• Устав ПГГПУ.

• Локальные нормативные акты ПГГПУ.

Категория обучающихся – обучающиеся 10-11 классов, любознательные и целеустремленные,

Наполняемость групп: 12 человек.

Режим занятий: 3 академических часа в неделю.

Форма обучения - очная

1. Цель и задачи образовательной программы

Цель программы: вовлечение учащихся в проектно-исследовательскую деятельность, формирование у них компетенций в области современных клеточных и молекулярных биотехнологий.

Задачи программы:

Обучающие:

- Формирование у учащихся необходимой базы теоретических знаний, о живых организмах начиная с клеточного и молекулярного уровня, изучение базовых понятий, общей терминологии;
- Ознакомление с основными принципами работы в лаборатории, техникой безопасности при работе с живыми объектами и их культурами как *ex vitro* так и *in vitro*, приемами поддержания асептики;
- Обучение приемам работы с современным исследовательским оборудованием;
- Приобретение навыков самостоятельного поиска научных сведений в печатных и цифровых литературных источниках и их последующего анализа;
- Формирование навыков самостоятельного получения и обработки биологических данных с помощью математических приемов, современного программного обеспечения и открытых ресурсов сети Internet;
- Приобретение навыков планирования и реализации проектно-исследовательской деятельности, формирование и развитие творческих способностей учащихся;
- Формирование навыков обобщений полученных сведений и представления научных данных в виде презентаций и докладов;

Развивающие:

- Формирование критического мышления, креативного мышления;
- Получение навыков эффективной коммуникации, кооперации;
- Расширение словарного запаса;
- Способствование развитию памяти, внимания, мышления, изобретательности;
- Развитие алгоритмического мышления при выполнении сложных задач;
- Формирование интереса к биологическим и общим естественнонаучным знаниям;
- Формирование умения практического применения полученных знаний;
- Формирование представлений об ответственности за последствия применения тех или иных методов, понимания причинно-следственных связей в функционировании биосистем различного уровня сложности;

- Приобретения навыков знаково-символьного представления научной информации, визуализации, подбора иллюстративных материалов;
- Формирование навыков публичных выступлений с докладами, презентациями и т. п.;
- Формирование умения формулировать, аргументировать и отстаивать своё мнение, вести научный спор;
- Приобретение навыков планирования собственной проектно - исследовательской деятельности.

Воспитательные:

- Воспитание аккуратности и дисциплинированности при выполнении работ различного назначения;
- Формирование положительной мотивации к трудовой деятельности, подкрепление положительного опыта;
- Способствование формированию опыта совместного и индивидуального интеллектуального творчества при выполнении командных заданий, культуры командной работы;
- Воспитание трудолюбия, уважения к труду;
- Формирование чувства коллективизма и взаимопомощи;
- Воспитывать чувство патриотизма, гражданственности, гордости за отечественные достижения в области биологической науки.

Формы занятий:

- мастер-классы
- лабораторно-практические работы, в т.ч. эксперименты
- беседы
- решение кейсов
- проектирование

Методы, используемые на занятиях:

- проблемные (методы проблемного изложения)
- исследовательские - обучающиеся сами получают новые знания различными способами, в т.ч. эксперимент;
- практические (упражнения, задачи, с использованием профильного программного обеспечения);
- словесные (рассказ, беседа, инструктаж, чтение справочной литературы, цифровых источников);
- наглядные (демонстрация мультимедийных материалов, презентаций, схем и т.д.);
- эвристические (частично-поисковые) — обучающимся предоставляется большая возможность выбора вариантов;
- иллюстративно-объяснительные;

2. Прогнозируемые результаты и способы их проверки

Личностные результаты:

- Развитие самостоятельности суждений, независимости и нестандартности мышления;
- Умение критического восприятия информации и избирательности её восприятия;
- Осмысление мотивов своих действий;
- Развитие любознательности, сообразительности при выполнении разнообразных заданий проблемного и эвристического характера;
- Формирование коммуникативной компетентности в общении и сотрудничестве с другими обучающимися

Метапредметные результаты:

Регулятивные универсальные учебные действия:

- Умение ставить задачу и формировать ее приоритет;
- Умение планировать последовательность шагов алгоритма для достижения цели;
- Умение ставить цель (создание творческой работы), планировать достижение этой цели;
- Умение осуществлять итоговый и пошаговый контроль по результату;
- Умение вносить коррективы в действия в случае расхождения результата решения задачи на основе её оценки и учёта характера сделанных ошибок;
- Способность проявлять познавательную инициативу в сотрудничестве;
- Умение решать проблемы творческого характера в различных ситуациях;
- Умение оценивать получающийся творческий продукт и соотносить его с изначальным замыслом, выполнять по необходимости коррекции либо продукта, либо замысла.

Познавательные универсальные учебные действия:

- Умение осуществлять поиск информации в индивидуальных информационных архивах обучающегося, информационной среде образовательного учреждения, федеральных хранилищах информационных образовательных ресурсов;
- Умение использовать средства информационных и коммуникационных технологий для решения коммуникативных, познавательных и творческих задач;
- Умение ориентироваться в разнообразии способов решения задач;
- Умение осуществлять анализ объектов с выделением существенных и несущественных признаков;
- Умение проводить сравнение, классификацию по заданным критериям;
- Умение строить логические рассуждения в форме связи простых суждений об объекте;
- Умение устанавливать аналогии, причинно-следственные связи;
- Умение моделировать, преобразовывать объект из чувственной формы в модель, где выделены существенные характеристики объекта (пространственно-графическая или знаково-символическая);
- Умение синтезировать, составлять целое из частей, в том числе самостоятельно достраивать с восполнением недостающих компонентов.

Коммуникативные универсальные учебные действия:

- Умение аргументировать свою точку зрения на выбор оснований и критериев при выделении признаков, сравнении и классификации объектов;
- Умение выслушивать собеседника и вести диалог;
- Признавать возможность существования различных точек зрения и право каждого иметь свою;
- Умение планировать учебное сотрудничество с наставником и другими обучающимися: определять цели, функции участников, способы взаимодействия;
- Умение осуществлять постановку вопросов: инициативное сотрудничество в поиске и сборе информации;
- Умение с достаточной полнотой и точностью выражать свои мысли в соответствии с задачами и условиями коммуникации;
- Владение монологической и диалогической формами речи.

Предметные результаты

В результате освоения программы обучающиеся должны:

- Иметь необходимую базу теоретических знаний, о живых организмах начиная с клеточного и молекулярного уровня;
- Владеть биологической терминологией;
- Уметь манипулировать базовыми биологическими понятиями;
- Иметь представление об организации исследовательской работы в лаборатории;
- Владеть техникой безопасности при работе с живыми объектами и их культурами как *ex vitro* так и *in vitro*;
- Владеть приемами поддержания асептики сред, культур и оборудования;

- Иметь опыт работы с современным исследовательским оборудованием биологического профиля, знать области применения, характеристики исследовательских методов;
- Иметь навыки самостоятельного поиска научных сведений в печатных и цифровых литературных источниках и их последующего анализа, классификации, составления личного и коллективного архива тематической литературы;
- Иметь навыки самостоятельного получения и обработки биологических данных с помощью математических приемов;
- Иметь навыки работы с современным программным обеспечением биологического профиля;
- Уметь пользоваться открытыми информационными ресурсами сети Internet, базами данных;
- Уметь организовывать проектно-исследовательскую деятельность;
- Владеть приемами представления научных данных в виде знаково-символьных конструкций, визуализаций, информативных и удобных для восприятия;
- Уметь грамотно подбирать и обрабатывать иллюстративный материал для представления результатов исследований;
- Иметь опыт публичных выступлений, докладов, обсуждений результатов работы, презентаций проектов.

Формы подведения итогов реализации программы

Представление результатов образовательной деятельности пройдет в форме публичной презентации командами реализованных итоговых проектов и последующей рефлексии.

3. Учебно-тематический план

№ п/п	Название раздела, темы	Количество часов			Формы работы и оценки результата
		Всего	Теория	Практика	
1	Введение. Знакомство с лабораторией. Техника безопасности при работе в лаборатории микробиологии, биотехнологии и молекулярной биологии. Знакомство с устройством светового микроскопа. Документирование изображений.	3	1	2	<i>Работа в группах. Выбор темы проектов. Решение кейса 1.</i>
2	Изучение пигментов фотосинтетического аппарата растений и их физико-химических свойств.	3	1	2	<i>Работа в группах. Решение кейса 2.</i>
3	Изучение резистентности бактерий к препаратам фагов методом "Спот-тест".	3	1	2	<i>Работа в группах. Решение кейса 3.</i>
4	Разделение пигментов зеленых растений методом бумажной хроматографии. Основы	3	1	2	<i>Работа в группах. Решение кейса 4.</i>

	спектрального анализа сложных смесей.				
5	Биотехнология растительных клеток и тканей. Среды для клонального микроразмножения.	3	1	2	<i>Работа в группах. Решение кейса 5.</i>
6	Основы биоинформатики. Работа с геномным браузером, базами данных, ПЦР, подбор праймеров.	3	1	2	<i>Работа в группах. Решение кейса 6.</i>
7	Клональное микроразмножение растений.	3	1	2	<i>Работа в группах. Решение кейса 7.</i>
8	Командная проектная работа. Работа с научной литературой и электронными источниками сети Интернет, электронными библиотечными системами. Основы статистических вычислений на персональном компьютере. Подготовка шаблона исследовательского проекта.	3	1	2	<i>Работа в группах. Решение кейса 8.</i>
9	Трансформация <i>E.coli</i> плазмидным вектором.	3	1	2	<i>Работа в группах. Решение кейса 9.</i>
10	Основы молекулярно-генетического анализа. Полимеразная цепная реакция.	3	1	2	<i>Работа в группах. Решение кейса 10.</i>
11	Гель-электрофорез ДНК, визуализация результатов и их анализ.	3	1	2	<i>Работа в группах. Решение кейса 11. Завершение работы над проектами</i>
12	Заключительная конференция, защита проектов.	3	1	2	Защита проектов, обсуждение результатов
Всего		36	12	24	

4. Содержание тем программы

Занятие 1. Введение. Работа в лаборатории. Техника безопасности.

Кейс-задача и проблематика:

Как работать с потенциально – опасными средами, биологическими объектами и лабораторными приборами? Можно – ли увидеть живую клетку под микроскопом и понаблюдать за ней? Как настроить световой микроскоп, чтобы реализовать его максимальную разрешающую способность? Можно – ли получить цифровые изображения

микрообъектов и обработать их?

Содержание работы:

Учащиеся знакомятся с организацией лаборатории микробиологии и биотехнологии, с основными видами работ, проводимых в ней и основным оснащением. Осваивают технику безопасности при работе с аппаратурой, реактивами, многоклеточными и одноклеточными живыми организмами и их культурами. Учатся приемам сохранения асептических условий при изготовлении сред и пересеве чистых культур микроорганизмов.

Обучающиеся знакомятся с настройкой светового микроскопа по Кёлеру.

Изучают способы документирования микроизображений, в том числе цифрового документирования, и возможности их дальнейшей обработки. Знакомятся со свободным программным обеспечением, применимым для биологических микроизображений.

Участвуют в обсуждении структуры групповых исследовательских проектов и вероятных тем.

Занятие 2. Изучение пигментов фотосинтетического аппарата растений и их физико-химических свойств.

Кейс-задача и проблематика:

Как осуществляется процесс фотосинтеза, какие структуры и молекулы в растительной клетке за это отвечают? Можно ли извлечь фотоактивные молекулы из хлоропластов, изучить их физико-химические свойства, и заставить работать *in vitro* (в пробирке)? Если из молекулы хлорофилла удалить ион магния, или заменить его на другой, будет ли молекула способна к переносу электронов за счет энергии поглощаемого света?

Содержание работы:

В рамках занятия учащиеся знакомятся со структурной организацией фотосинтетического аппарата сосудистых растений, основных этапах процесса фотосинтеза и их особенностях. Получают цельную спиртовую вытяжку пигментов зеленого листа, изучают физико-химические особенности хлорофилла, изучают способность к переносу электронов за счет энергии света.

Занятие 3. Изучение резистентности бактерий к препаратам фагов методом "Спот-тест".

Кейс-задача и проблематика:

Как известно, бактериофаги паразитируют на бактериях, но им свойственна высокая видоспецифичность. Как узнать, какие фаговые препараты эффективны против нескольких имеющихся культур бактерий, и теряют ли они эффективность при длительном хранении?

Содержание работы:

Учащиеся знакомятся со строением и жизненным циклом бактериофагов. Осуществляют посев бактериальных суспензий сплошным газоном на агар в чашках Петри. Учатся приемам точного дозирования жидких сред методом пипетирования, правилам использования автоматических дозаторов и сохранения асептики. Закладывают опыт по изучению влияния препаратов бактериофагов на рост культур бактерий на агаризованной среде.

Занятие 4. Разделение пигментов зеленых растений методом бумажной хроматографии. Основы спектрального анализа сложных смесей.

Кейс-задача и проблематика:

Можно ли каким-то образом разделить истинный раствор нескольких сложных молекул? По каким причинам молекулы по-разному взаимодействуют с сорбентами?

Можно ли установить наличие и концентрацию тех или иных веществ в смеси

вообще не разделяя ее, и не производя химических превращений?

Содержание работы:

Учащиеся получают представление об основах хроматографических методов анализа. Изучают спектр поглощения и флуоресценции хлорофилла с помощью спектрофотометра прямого зрения. Осуществляют разделение цельной вытяжки пигментов методом бумажной хроматографии. Элюируют разные фракции хроматограммы, с помощью спектрофотометра получают их спектры поглощения. Анализируют спектры, сравнивая с эталонными, формулируют выводы. Снимают опыт по влиянию факторов на культуры бактерий.

Занятие 5. Биотехнология растительных клеток и тканей. Среды для клонального микроразмножения.

Кейс-задача и проблематика:

Как заставить растительную клетку расти вне организма? Можно ли вырастить целое растение из нескольких клеток? Каким образом можно управлять морфогенезом клеточных культур растений *in vitro*. Какие вещества нужны для поддержания

Содержание работы:

Учащиеся знакомятся с основами биотехнологии растений, основными фитогормонами, принципами клонального микроразмножения. Осуществляют расчет концентраций фитогормонов, необходимых для стимуляции укоренения микрочеренков картофеля в питательной среде. Готовят агаризованную среду Мурасиге - Скюга. Упаковывают для стерилизации среду, а также необходимые инструменты и принадлежности.

Осуществляют планирование опыта по влиянию гормонального состава питательной среды на морфогенез картофеля *in vitro*.

Занятие 6. Основы биоинформатики. Работа с геномным браузером, базами данных, ПЦР, подбор праймеров.

Кейс-задача и проблематика:

Как читать генетический код и аннотировать гены? Где взять готовые генетические последовательности? Что такое праймеры, как их подбирать, и провести виртуальную полимеразную цепную реакцию? Можно ли искать и сравнивать генетические последовательности организмов, никогда не имея дела с их живыми клетками и ДНК?

Содержание работы:

В ходе занятия учащиеся знакомятся с общими методами биоинформатики. Осваивают интерфейс специализированных программ, знакомятся с открытыми ресурсами по молекулярной генетике, геномике, протеомике, представленными в сети Интернет. Знакомятся с основами полимеразной цепной реакции. Осуществляют аннотирование генетической последовательности, подбор нескольких пар праймеров к целевому гену и моделирование их отжига и продукта ПЦР.

Занятие 7. Клональное микроразмножение растений.

Кейс-задача и проблематика:

Как в стерильных условиях из одного растения в короткие сроки (2-3 недели) получить 10-15 сформированных клонов, генетически идентичных исходному экземпляру? Какие условия необходимы, чтобы из экспланта получилось полноценное растение?

Содержание работы:

В рамках занятия учащиеся осуществляют клональное микроразмножение картофеля методом микрочеренкования. Маркируют и запаковывают пробирки, помещают в штативы и светоустановку. Знакомятся с условиями выращивания картофеля *in vitro* температурным режимом и фоторежимом. Вносят сведения о произведенных посадках в базу данных.

Занятие 8. Командная проектная работа. Работа с научной литературой и электронными источниками сети Интернет, электронными библиотечными системами. Основы статистических вычислений на ПК. Подготовка шаблона исследовательского проекта.

Кейс-задача и проблематика:

1. **Что такое проект.** Какие бывают проекты. Структура проекта, его жизненный цикл. Потребность и проблема, как источник идеи проекта. Способы генерации идей проекта. Целеполагание по SMART. Поиск решения. Планирование. Реализация замысла. Финализация.
2. **Команда проекта.** Роли участников проекта, их зона ответственности за общий результат. Компетенции членов команды, способы коммуникации в команде. Мягкие и жесткие навыки (soft & hard skills), как их развить. Правила работы в команде.
3. **Результат проекта.** Как представлять. Что такое презентация и групповая защита проекта. Кто и по каким критериям будет оценивать результат проекта. Дальнейшая судьба проекта. Защита авторских прав на проект. Самооценка результата проекта. Рефлексия как обязательный элемент подведения итогов проекта.

Содержание работы:

Учащиеся осваивают навыки командной проектной работы. Осваивают методы поиска, сохранения и систематизации материалов сети Интернет по интересующей научной тематике. Осваивают основы статистической обработки данных эксперимента в стандартных программах на персональном компьютере. Заполняют шаблон своего исследовательского проекта, учатся делать библиографические ссылки, формируют список литературных источников к работе.

Анализируют полученные данные, обобщают и делают выводы.

Занятие 9. Трансформация *Escherichia coli* плазмидным вектором.

Кейс-задача и проблематика:

Как известно, любая живая клетка – настоящая микролаборатория, способная производить самые разные органические вещества. Можно ли заставить клетку кишечной палочки (*Escherichia coli*) производить чужеродный для нее белок совершенно другого организма, внедрив в неё новый ген? Как из миллионов клеток выбрать именно те, которые несут этот ген?

Содержание работы:

Учащиеся получают представление о путях переноса генетической информации у бактерий (рекомбинации).

Знакомятся с генетической структурой бактериальных плазмид и векторов на их основе.

Осуществляют трансформацию компетентных клеток *Escherichia coli* модельного непатогенного штамма плазмидным вектором с модельным геном. Высевают трансформантов на агаризованную среду с селективирующим фактором сплошным газоном. Помещают чашки Петри с культурами в термостат.

Занятие 10. Основы молекулярно-генетического анализа. Полимеразная цепная реакция.

Кейс-задача и проблематика:

Можно ли в пробе содержащей различные молекулы ДНК найти интересующую генетическую последовательность и многократно приумножить её?

Можно ли установить концентрацию амплифицируемой ДНК (ампликонов) прямо в реакционной смеси, не вмешиваясь в ход реакций? Как работают интеркалирующие красители, и что такое ПЦР реального времени?

Содержание работы:

Учащиеся участвуют в подготовке протокола и внесении его с программное обеспечение амплификатора, рассчитывают и готовят реакционные смеси. Ставят полимеразную цепную реакцию реального времени с пробами ДНК извлеченными из трансформантов, несущих модельный ген (автофлюоресцентного белка, AFP). Полученные ампликоны в пробирках маркируют, и помещают в низкотемпературных холодильник на хранение.

Анализируют графики полученные прибором, делают заключение о протекании реакции, присутствии, или же отсутствии целевой последовательности в пробах ДНК.

Занятие 11. Гель-электрофорез ДНК, визуализация результатов и их анализ.

Кейс-задача и проблематика:

Можно ли множество различных по длине фрагментов ДНК разделить, согласно их размеру? Как заряженные молекулы взаимодействуют с электрическим полем и агарозным гелем различной концентрации? Как визуализировать и расшифровать результаты гель-электрофореза?

Содержание работы:

Учащиеся знакомятся принципами гель - электрофореза биополимеров, подготавливают агарозный гель соответствующей концентрации, содержащий интеркалирующий краситель. Заливают гель в форму с формователем лунок. Рассчитывают объемы загрузочного буфера и проб ДНК (ампликонов из предыдущей работы). Смешивают пробы с буфером с помощью автоматического дозатора малого объема и помещают в лунки агарозного геля. Осуществляют фракционирование полинуклеотидов с помощью гель - электрофореза. Визуализируют разделенные фракции ДНК с помощью системы гель – документирования, анализируют снимки на персональном компьютере.

Занятие 12. Заключительная конференция, защита проектов.

Кейс-задача и проблематика:

Учащимся необходимо защитить свой исследовательский проект и его результаты в ходе настоящей конференции.

В течение доклада, который делает одна группа, остальная аудитория анализирует и оценивает их работу, задает вопросы по методике, содержанию и результатам.

Кроме того присутствуют эксперты (руководители групп, а также преподаватели).

Эксперты оценивают доклад, презентацию, вопросы данной команды по 10 бальной шкале. Суммарный балл формирует рейтинг, который озвучивают в конце конференции.

Оrientировочные критерии оценки, и тематика вопросов к докладчикам:

- Практическая значимость исследований;
- Дальнейшие перспективы ваших исследований, и собираетесь ли вы в дальнейшем уделять внимание данной теме;
- Общее качество инфографики и иллюстративного материала;
- Точность методов исследований;
- Качество расчетов и математической обработки первичных данных;

Содержание работы:

Группы учащихся делают доклады, сопровождаемые презентациями по результатам своих исследовательских проектов. Учащиеся и комиссия участвуют в обсуждениях, задают вопросы. Докладчики отвечают на вопросы, защищают свой проект.

Заключительные слова руководителей групп и членов комиссии по работе проектных групп и программы.

5. Условия реализации программы

Кадровые условия реализации программы

Программа реализуется силами кафедр и подразделений университета, обладающими необходимыми и достаточными кадровыми ресурсами

Требования к кадровым ресурсам:

- знание возрастной педагогики и психологии;
- опыт работы с детьми;
- опыт реализации и управления проектами;
- знание современных средств оценивания;
- непрерывность профессионального развития педагога.

Компетенции педагогического работника, реализующего дополнительную образовательную программу:

- обеспечивать условия для успешной деятельности, позитивной мотивации, а также самомотивирования обучающихся;
- осуществлять самостоятельный поиск и анализ информации с помощью современных информационно-поисковых технологий;
- организовывать и сопровождать учебно-исследовательскую и проектную деятельность обучающихся, выполнение ими индивидуального /группового проекта;
- уметь интерпретировать результаты достижений обучающихся;
- ориентироваться в современных биологических методах исследования;
- иметь навыки работы с современным лабораторным оборудованием;
- владеть общими навыками лабораторных исследований;
- уметь работать с типовым программным обеспечением для биологических исследований и математических расчетов.
- иметь навыки работы с культурами микроорганизмов;
- иметь представление о технике безопасности при работе в лабораториях микробиологии, молекулярной биологии, молекулярной генетики.
- иметь навыки работы с инфографикой;

Материально-технические условия реализации программы

Аппаратное и техническое обеспечение:

1. Real-time ПЦР-амплификатор и комплект программного обеспечения, 6 каналов детекции, 96- лунок;
2. Источник питания для электрофореза, 10-800 В, 4-400 мА, не менее 75 Вт, 2 выхода;
3. Набор вертикальных и горизонтальных кювет для электрофореза белков и нуклеиновых кислот 10*10см или более. Гребенки для заливки лунок, спейсеры, электроды и набор кабелей;
4. Центрифуга настольная, с электронным управлением, сменными роторами, 15000 оборотов / мин, для микропробирок 1,5/2,0 мл;
5. Ламинар-бокс на 2 рабочих места;
6. Автоклав;
7. Аквадистиллятор;
8. Трансиллюминатор или система гель-документирования;
9. Вытяжной шкаф;
10. Спектрофотометр;
11. Аналитические весы электронные;
12. рН-метр электронный;
13. Персональный компьютер с ОС Windows и доступом в Internet;

14. Вортекс (до 4000 об/мин, амплитуда 2 мм) под пробирки 0,5–50 мл;
15. 1-канальные автоматические дозаторы переменного объема, 1000-5000 мкл ;
16. 1-канальные автоматические дозаторы переменного объема, 100-1000 мкл ;
17. 1-канальные автоматические дозаторы переменного объема, 10-100 мкл;
18. 1-канальные автоматические дозаторы переменного объема, 0,5-10 мкл;
19. Система очистки для получения деионизированной воды 1,5 - 2 л/мин, 18.2 мОм;
20. Холодильник для хранения реактивов (-24 °С, или ниже);
21. Термостат (до 50°C);
22. Сушилка для лабораторной посуды настенная,
23. Камера цифровая от 9 мегапикселей, USB, гж45 или FireWire;
24. Штативы с крышкой под стрипы ПЦР 0,2мл;
25. Охлаждающее штативы для стрипов ПЦР;

Программное обеспечение:

№	Наименование	Назначение	Особенности распространения
1.	ImageLab	Программа для анализа изображений агарозных или полиакриламидных гелей	Свободно распространяемая с оборудованием
2.	ImageJ	Программа для автоматического анализа различных изображений. Многофункциональна.	Свободно распространяемая
3.	JpegView	Программа для обработки изображений.	Свободно распространяемая
4.	MiCam	Программа для получения микроизображений	Свободно распространяемая
5.	SnapGene	Программа для работы с нуклеотидными последовательностями	Платная. Есть пробный период 30 дней.

Расходные материалы:

1. Одноразовые стерильные наконечники для дозаторов с фильтрами, в штативах;
2. Наборы реактивов для выделения и очистки ДНК. Для дальнейшего анализа методом ПЦР (KIT).
3. Наборы реактивов для гель- электрофореза и визуализации НК;
4. Наборы реактивов для работы с плазмидной ДНК, образцы плазмид;
5. Референсные штаммы непатогенных бактерий и грибов АТСС и других коллекций (биолюминесцентные штаммы E.Coli, AFP – штаммы и др.);
6. Микробиологические петли;
7. Агаризованные и жидкие питательные среды для культур микроорганизмов;
8. Пробирки типа «Эппендорф» различных объемов;
9. Полипропиленовые пробирки с завинчивающейся крышкой 15 и 50 мл;
10. ИФА – планшеты 96 лунок;
11. Пробирки с ватно-марлевыми пробками;
12. Чашки Петри;
13. Наборы для калибровки аппаратуры;
14. Препараты бактериофагов;
15. Шпатели Дригальского, стеклянные, металлические или одноразовые;

7. Оценочные материалы

Оценочные материалы в виде проектных кейсов направленные на освоение разделов программы.

Кейс 7. Клональное микроразмножение растений *in-vitro*. Влияние фитогормонов.

Цель кейса: Освоить метод клонального микроразмножения растений *in – vitro* методом черенкования, оценить влияние фитогормонов на морфогенез регенерантов.

Материалы и оборудование:

- | | |
|--|---|
| 1) Стерильная культура растений на агаризованной среде; | 3) Спиртовка + спички; |
| 2) Запакованные в оберточную бумагу и стерильные (автоклав 1атм, 120°С, 30мин.) : | 4) Спирты : 96% и 75%; |
| инструменты: пинцет и скальпель; | 5) Халат и тканый головной убор; |
| чашки Петри; | 6) Хозяйственное мыло; |
| марлевые салфетки по 2 шт в упаковке; | 7) Целлофан, фольга или калька, нарезанная 60*60 см + черные резинки. |
| пробирки и колбы со средой Мурасиге-Скуга с заданными концентрациями ИУК и 2,4-Д, закрытые ватно-марлевыми пробками; | 8) Ламинар –бокс; |
| | 9) CD – маркер. |

Ход работы:

- 1) Включить за 30 мин до начала работ У.Ф. лампы и вентиляторы в ламинар – боксе; Пока осуществляется стерилизация, ознакомится с методикой.
(Ламинар-бокс – устройство представляющее собой стол, закрытый защитным прозрачным коробом, и обеспечивающий нисходящий ток стерильного воздуха, препятствующий попаданию микроорганизмов и спор грибов внутрь со стороны оператора. Имеет бактерицидные лампы, лампы подсветки, вентилятор.)

===== Подготовка рабочего места =====
Протереть столешницу ламинар – бокса салфеткой, смоченной 75-% спиртом, поставить емкости с 75% и 96% спиртом и спиртовку, как показано на рис.1. Зажечь спиртовку.

Работа



Рис.1 Рабочее место в ламинар - боксе (правое)

осуществляется в парах оператор – ассистент. Перед началом работ необходимо всем закатать рукава одежды по локоть, вымыть руки с хозяйственным мылом 2 раза, и сушить, НЕ КАСАЯСЬ НИКАКИХ ПРЕДМЕТОВ И НЕ ВЫТИРАЯ;

- 3) Когда руки высохнут распаковать стерильные салфетки, положить на руку, налить 1 мл.

спирта 75%, и протереть обе руки.

4) Оператор садится за рабочее место, ассистент распаковывает и подает ему чашку Петри, не касаясь ее, оператор своей рукой открывает и ставит дно и крышку как показано на рис.1. Оператор открывает спирты, ставя пробки справа, после чего протирает перед собой столешницу 40*40см 70% спиртом.

5) Ассистент распаковывает стерильные инструменты, не касаясь подает оператору, который берет их и кладет на дно чашки Петри в соответствии с рис.1.

6) Ассистент подает оператору стерильные салфетки, одну следует положить справа вместе с оберткой (№2 для стола), другую - на емкость со спиртом 75% (№1 для рук)

7) Ассистент берет пробирку с маточным растением, протирает 75% спиртом, снимает целлофан и подает оператору, который кладет ее слева от рабочего места.

8) Ассистент подает оператору 10-15 пробирок со стерильной средой, предварительно распаковывая, оператор кладет их слева, выше маточного растения.

===== микрочеренкование (выполняет оператор) =====

9) Открыть пробирку с маточным растением в пламени спиртовки, пробку зажать и удерживать мизинцем, макнув пинцет в 96% спирт простерилизовать - пожечь от спиртовки, и дать спирту сгореть, держа пинцет почти горизонтально, концами от себя. Затем взять пинцетом маточное растение за верх стебля, и вытащить из пробирки, оставив среду в горлышке, в крышку чашки Петри.

10) Простерилизовать скальпель так же как и пинцет, накатывая лезвие скальпеля на стебель отрезать корневую систему, положив затем пробирку из под маточного растения с корнем и средой, а также пробку слева от рабочего места.

11) Снова простерилизовать скальпель и пинцет, держа пинцет в левой руке, а скальпель в правой, держа пинцетом маточное растение за низ стебля черенковать на фрагменты содержащие 1-2 междоузлия. Часть стебля ниже боковой почки должна быть около 1 см, часть выше – короче 3-5 мм.

12) Стерилизуя пинцет через каждые 2-3 шт., высадить все черенки в пробирки со свежей средой.

Пробирку следует держать в левой руке, открывать в пламени спиртовки, зажимая ватно-марлевую пробку мизинцем правой, и удерживая, не касаясь предметов, и не кладя на стол. Затем правой рукой пинцетом следует брать черенки за верхнюю часть, вставляя нижней в агаризованную среду, чтобы почка оставалась как раз на поверхности. Затем, пробирку следует закрыть в пламени спиртовки, и положить слева.

13) После посадки всех черенков, следует закрыть ватно-марлевые пробки сверху кусочками целлофана, кальки или фольги, зафиксировав их черными резинками. Подписать CD – маркером число высадки, инициалы оператора и наименование культуры.

14) Поставить пробирки в штативы, в шахматном порядке, чтобы хорошо попадал свет, и перенести в светустановку, с фотопериодом 14-16 часов и освещенностью около 5 клк. Выбраковку проводить через 1,5-2 недели.

Кейс 11. Гель-электрофорез ДНК, визуализация результатов и их анализ.

Цель кейса: Освоить методику фракционирования фрагментов ДНК с применением гель – электрофореза, определить ориентировочные размеры зафиксированных фрагментов;

Материалы и оборудование:

- | | |
|---|---|
| 1) Агароза для проведения фореа; | 10) Трансиллюминатор с камерой; |
| 2) ТАЕ-буфер однократный; | 11) Компьютеры с установленной программой Image-J. |
| 3) Интеркалирующий краситель «SYBR Green»; 4) Буфер для нанесения проб на гель; | 12) Аналитические весы; |
| 5) ДНК-маркер размера; | 13) Ламинар – бокс для работ по молекулярной биологии; |
| 6) Столик для заливки агарозного геля; | 14) Полистирольные планшеты с лунками для приготовления проб ампликонов перед внесением в лунки геля. |
| 7) Рамка и гребенки для заливки агарозного геля; | 15) Автоматические дозаторы на 10-20мкл со стерильными наконечниками в штативах. |
| 8) СВЧ-печь; | 16) Штатив для ПЦР – стрипов; |
| 9) Камера и источник питания для проведения электрофореза; | 17) Стрипы с ампликонами после проведения ПЦР. |

Ход работы:

Внимание! Все манипуляции с агарозным гелем проводятся исключительно в перчатках.

1. Опираясь на длину разделяемых / визуализированных фрагментов, определить процентное содержание агарозы в геле.
 2. Рассчитать необходимое количество компонентов для приготовления 150 мл агарозного геля выбранной концентрации (концентрация агарозы определяет размер «ячеек» в структуре геля, и, соответственно, скорость прохождения через них фрагментов нуклеиновых кислот различной длины):
- Рассчитанные величины обсудить с преподавателем и занести в таблицу 1.

Таблица 1.

Компоненты для получения 150мл. агарозного геля для разделения ДНК с помощью электрофореза

Компонент	Количество (г или мл)
ТАЕ-буфер	
Агароза	

3. Приготовить навеску агарозы, перенести в чистую коническую колбу и добавить необходимый объем ТАЕ-буфера.
4. Расплавить агарозу в СВЧ-печи.
5. Остудить гель в течение 5 минут. В это время собрать конструкцию для заливки геля из заливочного столика, ограничителей и гребенки.
6. Тщательно перемешать.
7. Включить У.Ф. лампу в ламинар – боксе на 20-30 мин.
7. Залить гель и подождать 20-30 мин до его полного застывания, извлечь гребенку, залить буфер в форезную камеру так, чтобы гель был на 1,5-4 мм погружен в буфер (под контролем преподавателя).
8. Провести расчет необходимого объема красителя, добавляемого к пробе, исходя из объема пробы. Результаты обсудить с преподавателем и занести в таблицу 2.

Таблица 2.

**Компоненты смеси на 1 лунку при гель – электрофорезе
ампликонов**

Величина	Объем (мкл)
Объем пробы	
Объем красителя	
Суммарный объем	

9. Выключить У.Ф. лампу в ламинар – боксе, включить подсветку видимого света.

10. Работать в перчатках, аккуратно распаковать стерильные наконечники (штатив открывать только при необходимости)

11. Держа дозатор строго вертикально открыть штатив и аккуратно вставить нижнюю часть дозатора в чистый наконечник.

При этом последний надежно фиксируется, и его нужно достать из штатива, который затем закрыть.

12. Внести в используемые лунки планшеты интеркалирующий краситель согласно объему из табл. 2. Можно во все лунки внести одним наконечником, который затем сбросить в сосуд для отработанных расходных материалов.

13. Внести в лунки планшет соответствующие пробы, при этом ассистент из пары заносит в таблицу 3 название пробы и цифро-буквенный код соответствующей лунки планшеты, а затем номер лунки в геле.

(Это позволяет избежать путаницы).

Таблица 3.

Названия проб и их расположение на планшете и геле

№ пробы	Название пробы	«Адрес» лунки на планшете (напр А1 или С4)	Номер лунки в геле (справа налево, лунки сверху как на рис.1)
1	E.coli - LUC/1		
2	S.lutea - LUC/1		
3	<i>(названия приведены для примера!)</i>		

Следует подходить к работе с максимальной ответственностью и аккуратностью! При потере соответствия проб лункам значительная часть работы и траты реактивов будут напрасными!

После внесения каждой пробы набрать содержимое в наконечник и выдавить обратно 3-5 раз (для перемешивания). После работы с каждой лункой отработанный наконечник сбросить в сосуд для отработанных расходных материалов и взять новый из штатива. Объем смеси, как правило составляет 10-20 мкл.

14. Держа дозатор строго вертикально, перенести пробы из лунок планшеты в лунки агара в соответствии с табл. 3, аккуратно опуская носик наконечника чуть ниже края лунки, и плавно выдавливая смесь, чтобы она не попадала мимо. Смесь, пробы и красителя, как правило, тяжелее буфера, и погружается на дно лунок.

15. Под контролем преподавателя подключить провода от источника напряжения к камере в соответствии с полярностью и запустить электрофорез.

16. После завершения электрофореза, пластиковой лопаткой из комплекта извлечь гель из камеры, и переместить на столик трансиллюминатора. Буфер следует слить в колбу.

17. Используя подсветку видимого спектра в трансиллюминаторе позиционировать гель по – возможности в центре поля зрения камеры, установив зум так, чтобы гель занимал большую часть поля зрения, а стороны геля были параллельными краям кадра. Это повысит точность анализа.

18. Переключить трансиллюминатор в У.Ф. – режим, и наблюдать флюоресценцию полос разделенных фрагментов нуклеиновых кислот.
19. Сделать снимок камерой системы документирования, дав файлу соответствующее название.
- При этом должно получиться изображение аналогичное рисунку 1.

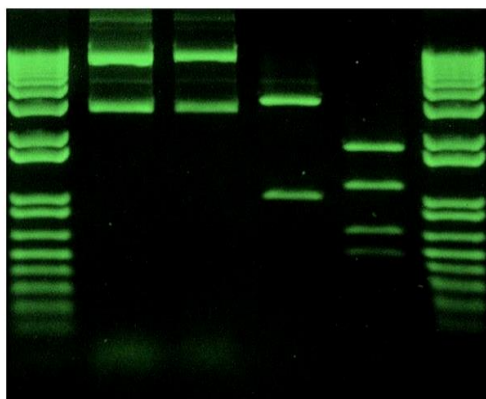


Рис. 1 Флюоресценция интеркалирующего красителя *SYBR Green* при взаимодействии с фрагментами ДНК, разделенными методом электрофореза

20. Загрузить полученный файл в локальную сеть лаборатории, и анализировать параллельно на нескольких ПК, пользуясь программой Image-J под руководством преподавателя.
21. Сделать выводы, о присутствии или отсутствии искомой генетической последовательности в пробе, или о степени соответствия рестрикционных карт. Проанализировать расчетную длину фрагментов ДНК в П.Н.

8. Методические материалы

Процесс обучения по дополнительной общеразвивающей программе предусматривает следующие формы диагностики и аттестации:

- Входная диагностика, проводится перед началом обучения и предназначена для выявления уровня подготовленности обучающихся к усвоению программы.

Формы контроля: устный опрос, наблюдение, практическая работа, творческий проект.

- Итоговая диагностика проводится после завершения всей учебной программы. Для отслеживания результативности реализации образовательной программы возможно использование систем мониторингового сопровождения образовательного процесса, определяющие основные формируемые у обучающихся посредством реализации программы компетентностей.

9. Перечень рекомендуемой литературы

Основная литература:

Авторы, составители	Заглавие	Издательство, год
Альбертс Б. и др.	Молекулярная биология клетки	Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований, 2022.
Глик Б., Пастернак Дж.	Молекулярная биотехнология. Принципы и применение	М.: Мир, 2022

Жимулёв И. Ф.	Общая и молекулярная генетика: учебное пособие	Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2017
Клунова С. М., Егорова Т. А., Живухина Е. А.	Биотехнология: учебник	М.: Академия, 2020
Коничев А. С., Севастьянова Г. А.	Молекулярная биология: учеб. для студентов вузов	Москва: Академия, 2019
Медведев С. С.	Физиология растений: учебник.	— СПб.: БХВ-Петербург, 2022.
Нетрусов А. И., Котова И. Б.	Микробиология. Университетский курс: учеб. для студентов учр. высш. проф.	М.: Академия, 2022
Скворцова Н. Н.	Основы молекулярной биологии: учебное пособие	Санкт-Петербург: Университет ИТМО, 2020
Тихонов Г. П., Минаева И. А.	Основы биотехнологии: учебно-методическое пособие	Москва: Московская государственная академия водного транспорта, 2020
Тюменцева Е. Ю.	Основы микробиологии: учебное пособие	Омск: Омский государственный институт сервиса, 2023
Шилов И. А.	Экология: Учебник	Москва: Издательство Юрайт, 2020
Шуваева Г. П., Свиридова Т. В.	Микробиология с основами биотехнологии (теория и практика): учебное пособие	Воронеж: Воронежский государственный университет инженерных технологий, 2021

Дополнительная литература:

Авторы, составители	Заглавие	Издательство, год
Верещагина В. А.	Основы общей цитологии: учеб. пособие для студентов вузов	Пермь: ПГУ, 2022
Вернадский В. И.	Химическое строение биосферы земли и её окружения	Москва: Наука, 2021
Гусев М. В., Минеева Л. А.	Микробиология: учеб. для студентов вузов	М.: Академия, 2022
Ерёмченко О. З.	Учение о биосфере: [учеб. пособие для студентов высш. учеб. заведений]	Москва: Академия, 2024
Зиматкин С.М.	Гистология, цитология и эмбриология: учебное пособие	Минск: Высшая школа, 2021
Марфенин Н. Н.	Экология: [учеб. для студентов учр. высш. проф. образования]	Москва: Академия, 2022
Неверова О. А., Гореликова Г. А.	Пищевая биотехнология продуктов из сырья	Саратов: Вузовское образование, 2019
Тейлор Д. Грин Н. Стаут У.	Биология в 3-х т., 3-е изд.	М.: Мир, 2004

Шведова В.Н.	Биохимия.: Учебник : в 2 ч.	Москва: Издательство Юрайт, 2021
Юшков А.Н.	Учебные проекты на материале естественнонаучных дисциплин. Из методического опыта программы «Школьная Лига РОСНАНО».	СПб.: Школьная лига, 2020.8—106 стр.
Якушкина Н. И., Бахтенко Е. Ю.	Физиология растений: учеб. для студентов вузов	Москва: ВЛАДОС, 2023