

## Методическая разработка занятия по биологии для обучающихся 10-11 класса по теме «Методы исследования ДНК»

*Автор - Елтышева Ирина Валерьевна,  
кандидат биологических наук,  
учитель биологии высшей категории*

- Уровень обучения: профильный
- Место занятия в рабочей программе:  
Тема: Учение о клетке  
Раздел: Методы цитологии
- Тип занятия: Урок открытия нового знания
- Цель содержательная: расширение знаний о методах исследования в биологии  
Цель деятельностная: формирование у учащихся умений анализировать и усваивать информацию из различных источников (тексты, монологические высказывания, реальный или видеоопыт, инструкция для проведения исследования).  
Задачи: знать сущность и области применения методов изучения ДНК; ознакомиться с методами работы в лаборатории молекулярной биологии.
- Планируемые результаты занятия:  
Предметные: знание методов цитологии (молекулярной биологии)  
Метапредметные:  
познавательные: формирование умений обобщать, интегрировать информацию из различных источников  
коммуникативные: координация позиций в сотрудничестве, построение монологических высказываний  
регулятивные: планировать действия в соответствии с поставленной задачей, понимать границы своего знания и формировать запрос на недостающую информацию  
Личностные: безопасное поведение в лаборатории, профессиональное самоопределение

## Ход занятия

1) Приветствие учащихся, этап мотивации к учебной деятельности (1 мин.)

*Учитель: Профессия биолога становится все более востребованной. Методы изучения ДНК используются как для фундаментальных исследований, так и в практической деятельности археологов, судебных медиков, в диагностической медицине. Поэтому тема занятия для вас, учащихся профильной группы по биологии, очень актуальна.*

2) Этап актуализации и фиксирования индивидуального затруднения в пробном действии, выявления места и причины затруднения (2 мин.).

*Учитель: Можете ли вы объяснить, как связано изучение ДНК с археологией, судебной медициной и медицинской диагностикой?*

*Ответы учеников (возможные): установление отцовства, постановка диагнозов на основе вирусных РНК и др.*

*Учитель: Известны ли вам другие цели изучения ДНК?*

*Как именно изучается строение ДНК?*

*Ответы учеников отсутствуют.*

3) Этап построение проекта выхода из затруднения (2 мин.)

Учащиеся в ходе беседы с учителем формулируют цель урока,

*Изучить 1) области применения методов изучения ДНК и 2) сущность методов изучения ДНК (цель фиксируют на доске)*

находят средства овладения новыми знаниями: *научные статьи, рассказ учителя*

**Деятельность учащихся на этапах 1-3 – участие в беседе.**

4) Этап реализации построенного проекта (25 мин.):

**Часть 1.** учащиеся делятся на группы: биологи-криминалисты, биологи-диагносты, эволюционные биологи, биологи-палеонтологи. Учитель выдает группам заранее подготовленные тексты об использовании методов исследования ДНК в разных областях. После изучения материалов группы делятся друг с другом информацией о применении методов изучения ДНК (альтернатива – учащиеся в сети Интернет сами находят информацию об использовании методов исследования ДНК в разных областях). Индивидуально каждый учащийся заполняет схему **Применение изучения ДНК** (10 мин.)

### **Текст для биологов-криминалистов**

В криминалистике широко используется полимеразная цепная реакция (ПЦР). ПЦР используют для сравнения так называемых «генетических отпечатков пальцев». Необходим образец генетического материала с места преступления — кровь, слюна, сперма, волосы и т. п. Его сравнивают с генетическим материалом подозреваемого. Достаточно совсем малого количества ДНК, теоретически — одной копии. ДНК расщепляют на фрагменты, затем увеличивают их количество с помощью ПЦР. Фрагменты разделяют с помощью электрофореза ДНК. Полученную картину расположения полос ДНК и называют *генетическим отпечатком пальцев*. В судебной медицине ПЦР используется для установления родственных связей. Хотя «генетические отпечатки пальцев» уникальны, родственные связи всё же можно установить, сделав несколько таких отпечатков.

### **Текст для биологов-диагностов**

Широко используется полимеразная цепная реакция (ПЦР) в диагностике. Инфекционисты активно используют ПЦР для диагностики туберкулеза, ВИЧ, вирусных гепатитов, герпеса. А с помощью ПЦР в реальном времени, оценивая вирусную нагрузку, врачи могут составить мнение о динамике заболевания, отклике на лечение, что особенно актуально для пациентов с ВИЧ, принимающих терапию. Также благодаря ПЦР врачи могут в течение нескольких дней выявить возбудителей эпидемии ОРВИ. Уточняются типы вируса гриппа, циркулирующие на определенной территории, на основании чего появляется возможность разработать эффективную вакцину для каждого сезона гриппа.

В течение суток или быстрее можно установить вид возбудителя кишечной инфекции, а значит – назначить адекватное лечение и обнаружить вероятный источник заражения. Так что в медицине, ПЦР применяется везде, где нужна высокая точность и быстрота получения результатов.

### **Текст для биологов-эволюционистов (филогенетиков)**

Сравнения последовательностей ДНК разных генов у разных организмов могут сказать учёному много нового об эволюционных взаимоотношениях организмов, которые не могут быть обнаружены на основе морфологии или анатомии. Поскольку геномы эволюционируют через постепенное накопление мутаций, количество отличий в последовательностях нуклеотидов между парой геномов разных организмов должно дать информацию о том времени, когда данные организмы имели общего предка. Два генома организмов, чьи эволюционные линии разошлись в недавнем прошлом, должны иметь меньшие отличий, чем у организмов, чей общий предок существовал очень давно. Сравнивая разные

геномы друг с другом, возможно получить сведения об эволюционном взаимоотношении соответствующих организмов. Это и является главной задачей молекулярной филогенетики. Молекулярная филогенетика пытается определить скорость и отличия изменений в ДНК и белках, чтобы восстановить эволюционную историю. Чтобы получить эту информацию, учёные используют ДНК, чтобы изучать эволюцию организма или используют разные организмы, чтобы изучать эволюцию ДНК. В любом подходе общая цель — сделать вывод относительно процесса эволюции организма по изменениям ДНК и процесса молекулярной эволюции по картине изменений ДНК.

### **Текст для биологов-палеонтологов (палеогенетиков, археогенетиков)**

Сохранение ДНК вымерших организмов затруднено, потому что ДНК химически модифицируется, обычно бактериями и грибами в почве. Температура места палеонтологической находки также влияет на количество получаемой ДНК, о чем свидетельствует уменьшение успешности амплификации ДНК, если ископаемые находят в более теплых регионах. Резкое изменение окружающей среды ископаемых также влияет на сохранение ДНК. Поскольку раскопки вызывают резкие изменения в окружающей среде ископаемых, это может привести к физико-химическим изменениям в молекуле ДНК. Кроме того, на сохранение ДНК также влияют другие факторы, такие как обработка не загрязненных окаменелостей (например, мытье, чистка щеткой и высушивание на солнце). Использование метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) позволяет многократно увеличить количества копий найденного фрагмента ДНК. Располагая большим количеством наследственного материала, ученые с использованием методов филогенетики устанавливают эволюционную историю видов, изучают эволюцию человека и генетического наследия взаимодействия человека с биосферой.

Деятельность учащихся на этапе 4.1 – работа с текстовой информацией (бумажные носители, Интернет, изложение и краткое конспектирование информации).

### **ФИЗКУЛЬТМИНУТКА, ГИМНАСТИКА ДЛЯ ГЛАЗ – (3 мин)**

**Часть 2.** *Учитель: О каких методах изучения ДНК вы узнали?*

*Ответы учеников: полимеразная цепная реакция, электрофорез ДНК*

Учитель рассказывает сущность методов ПЦР и электрофорез в геле (альтернатива – просмотр видеорепортажа из лаборатории по изучению ДНК).

По ходу рассказа учащиеся заполняют таблицу **Методы исследования ДНК** (15 мин.)

### **Полимеразная цепная реакция**

Метод основан на многократном избирательном копировании определённого участка нуклеиновой кислоты при помощи ферментов в искусственных условиях (in vitro). В отличие от репликации ДНК в живых организмах, с помощью ПЦР амплифицируются относительно короткие участки ДНК. В обычном ПЦР-процессе длина копируемых ДНК-участков составляет не более 3000 пар оснований.

Для реакции необходимы:

- участок ДНК, который требуется амплифицировать.
- два праймера (затравки), комплементарные противоположным концам разных цепей требуемого фрагмента ДНК;
- ДНК-полимераза, ионы  $Mg^{2+}$ , необходимые для работы полимеразы
- дезоксирибонуклеотиды.

Обычно при проведении ПЦР выполняется 20—35 циклов, каждый из которых состоит из трёх стадий.

**Денатурация:** Двухцепочечную ДНК-матрицу нагревают до 94—96 °С, чтобы цепи ДНК разошлись. В ходе денатурации разрушаются водородные связи между двумя цепями ДНК.

**Отжиг:** Когда цепи разошлись, температуру понижают, чтобы праймеры могли связаться с одноцепочечной матрицей.

#### **Элонгация**

ДНК-полимераза реплицирует матричную цепь, используя праймер в качестве затравки. Полимераза начинает синтез второй цепи от 3'-конца праймера, который связался с матрицей, и движется вдоль матрицы, синтезируя новую цепь в направлении от 5'- к 3'-концу.

Далее циклы повторяются.

## Полимеразная цепная реакция - ПЦР

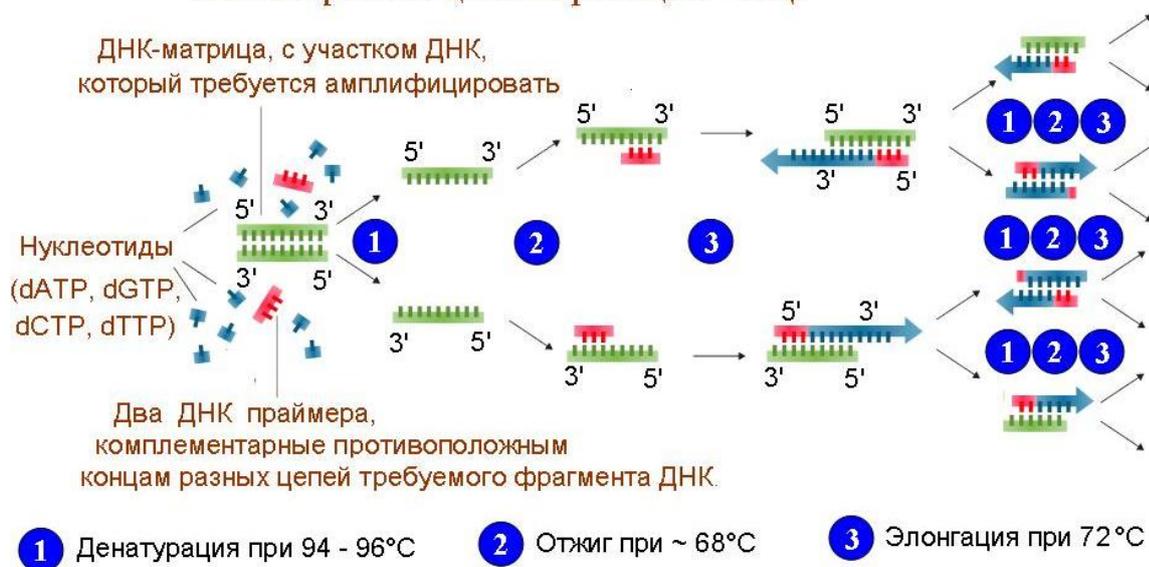


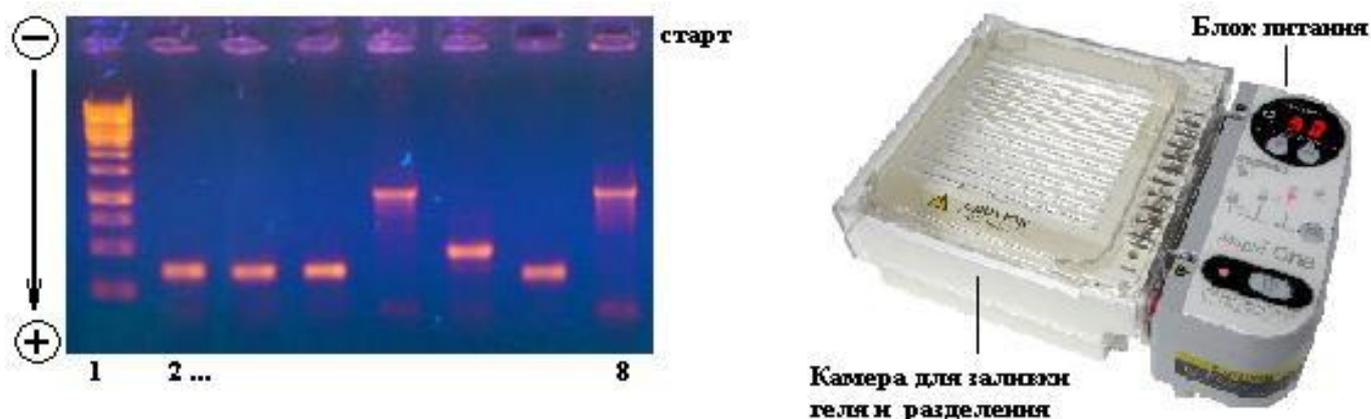
Рис.1. Схема полимеразной цепной реакции

**Электрофорез ДНК** – это распространенный лабораторный метод разделения фрагментов ДНК и один из основных инструментов в молекулярной биологии. Образцы ДНК помещаются в специальный гель и подвергаются воздействию электрического поля.

Разделение фрагментов ДНК происходит из-за наличия у них заряда. Гидроксильные группы на остатках фосфорной кислоты диссоциируют, придавая молекуле общий отрицательный заряд. Отрицательный заряд на молекуле позволяет ей двигаться под действием тока к положительному электроду (аноду). Чтобы ДНК двигалась медленнее, ее помещают в вязкую среду, в агарозный гель. Увеличение концентрации агарозы в геле уменьшает скорость миграции ДНК вследствие трения и позволяет разделять малые ее фрагменты. Самые короткие фрагменты ДНК пройдут дальше всего, а самые длинные фрагменты останутся ближе всего к источнику. ДНК обладает флуоресцентной активностью, но для увеличения интенсивности свечения ДНК связывают с красителем, самым популярным из которых является бромистый этидий. ДНК, связанная с бромистым этидием, испускает свет с длиной волны 600 нм на пике при облучении ультрафиолетом – обычно с длиной волны 300 нм. Таким образом становится возможным визуализировать расположение исследуемых молекул ДНК в геле.

Метод электрофореза ДНК используется для:

- разделения молекул ДНК и РНК по их размеру и определение размера по маркеру;
- определения примерного количества ДНК по яркости свечения;
- анализа результатов проведения ПЦР, а также для других целей.



*Рис.2. Результат исследования ДНК методом электрофореза и камера для проведения электрофореза*

При возможности учитель демонстрирует оборудование и результат исследования ДНК методом электрофореза. (Идеально, если занятие будет проводиться в оборудованной лаборатории)

Деятельность учащихся на этапе 4.2 – слушают учителя или смотрят видеорепортаж, заполняют таблицу.

5) Этап первичного закрепления с проговариванием во внешней речи, самопроверкой по эталону (5 мин)

Учащиеся обсуждают и проверяют заполнение схемы и таблицы:

**Применение изучения ДНК:**

- Судебная медицина
- Криминалистика
- Филогенетика
- Палеогенетика
- Медицинская диагностика

**Методы исследования ДНК**

Метод	Что используется?	Как происходит?	Зачем применяют?
ПЦР	участок ДНК, праймеры, ДНК-полимераза и ионы $Mg^{2+}$ дезоксирибонуклеотиды.	Этапы: денатурация отжиг элонгация	Для увеличения количества исследуемой ДНК
Электрофорез	Молекулы ДНК	перемещение ДНК в геле под действием	Для разделения ДНК по длине и

		тока, визуализация ДНК с помощью бромистого этидия и УФ-излучения	определения длины фрагментов (в сравнении с маркером)
--	--	---	--

Деятельность учащихся на этапе 5 – самопроверка, прослушивание и проговаривание информации.

- 6) Этап включения в систему знаний и повторения – **решение практико-ориентированного задания:** (10-12 мин).
- 7) Этап рефлексии учебной деятельности на уроке и завершения урока (2 мин)  
Учащиеся отвечают на вопрос:  
Урок был для меня: интересным? понятным? полезным?  
(варианты – да, нет, затрудняюсь)  
Комментарии (по желанию)  
**Длительность занятия 45-50 минут**

### **Практико-ориентированное задание:**

#### 1. Прочитайте текст

Генная инженерия широко вошла в нашу повседневную жизнь, однако до сих пор не утихают споры относительно безопасности и этичности использования в пищу генетически модифицированных организмов. Поэтому важно надежно детектировать наличие генно-модифицированных компонентов в продуктах питания. Наиболее надежным, быстрым и простым способом является проведение ПЦР. Гены, вводимые в модифицируемый организм, могут быть разнообразны, поэтому не всегда удобно определять наличие встройки именно целевого компонента. Гораздо более простым вариантом является определение наличия в исследуемом организме универсальных генетических последовательностей – промотора вируса мозаики цветной капусты или терминатора из агробактерий. Промотор вируса табачной мозаики CaMV 35S хорошо известен своим использованием в трансформации растений, он вызывает высокий уровень экспрессии генов у двудольных растений. Терминатор NOS из агробактерий присутствует в 66% всех зарегистрированных в мире ГМ-растений. Генетические последовательности CaMV 35S и NOS являются разрешенными для применения в пищевых продуктах и кормах на территории РФ.

**Регуляторные последовательности и гены трансгенных вставок линий,  
разрешенных для применения в пищевых продуктах  
и кормах на территории Российской Федерации**

Растение	Линия	Производитель	Промотор	Ген	Терминатор
Соя	GTS4032	Monsanto, США	CaMV E35S	CP4 EPSPS	NOS
	A2704-12	Bayer CropScience, Германия	CaMV 35S	Pat	CaMV 35S
	A5547-127	Bayer CropScience, Германия	CaMV 35S	Pat	CaMV 35S
	MON89788	Monsanto, США	P-FMV/ TSF1	CP4 EPEPS	T-E9
Кукуруза	MON810	Monsanto, США	CaMV E35S	Cry1Ab	—
	MON863	Monsanto, США	4AS1, CaMV E35S	Cry3Bb1, nptII	tahsp17, NOS
	NK603	Monsanto, США	CaMV35S, ract	CP4 EPEPS	NOS
	MON88017	Monsanto, США	CaMV35S, ract	CP4 EPEPS, Cry3Bb1	NOS, tahsp 17
	GA21	Monsanto, США	ract	mEPSPS	NOS
	BT11	Syngenta Crop Protection AG, Швейцария	CaMV35S	Cry1Ab, pat	NOS
	MIR604	Syngenta Crop Protection AG, Швейцария	MTL ZmUbiInt	mCry3A, mpi	NOS
	T25	Bayer CropScience, Германия	CaMV 35S	pat	CaMV 35S
	3272	Syngenta Seeds Inc, США	GZein ZmUbiInt	taa, mpi	CaMV 35S, NOS
Картофель	Луговской 1210 amk	Центр Биотехнологии РАН	P-FMV	Cry3A	E9, NOS
	Елизавета 2904/1 kgs	Центр Биотехнологии РАН	P-FMV	Cry3A	E9, NOS
Рис	LLRICE62	Bayer CropScience, Германия	CaMV 35S	bar	CaMV 35S
Сахарная свекла	H7-1	Monsanto, США	P-FMV	CP4 EPSPS	rbcS E9

**Задание 1.** Изучите таблицу и ответьте на вопросы:

А) Какие сорта генно-модифицированных растений сои содержат терминатор NOS?

Б) Являются ли эти сорта безопасными для употребления в пищу на территории РФ?

Ответы:

А) Соя GTS 4032 – 1 балл

Б) является безопасной - 1 балл

**Задание 2.** Какие методы можно применить для обнаружения в генетическом материале растений терминатора CaMV 35S? С какой целью?

Ответы:

А) метод ПЦР, для увеличения количества последовательностей CaMV 35S в исследуемом генетическом материале растений (если там эти последовательности есть) – 2 балла

Б) метод электрофореза – для сравнения последовательностей ДНК с маркером CaMV 35S и обнаружения их - 2 балла

Ответы А) Б) оцениваются 2 баллами, если названы метод и значение  
1 баллом, если названы только методы

### **Задание 3.**

А) Почему в электрическом поле камеры для электрофореза фрагменты ДНК двигаются от «минуса» к «плюсу»?

Б) Зачем в камеру вносится агарозный гель?

Ответы:

А) фрагменты ДНК заряжены отрицательно вследствие диссоциации гидроксильных групп остатков фосфорной кислоты – 2 балла

Б) агароза снижает скорость движения длинных фрагментов, поэтому происходит разделение ДНК на фрагменты – 2 балла.

Итого: - максимальный балл за задание – 10.

9-10 баллов – отметка «5»

7-8 баллов – отметка «4»

5-6 баллов – отметка «3»