

УДК 378 + 57.087

DOI: 10.34670/AR.2023.34.20.020

Использование учебного оборудования «Генетика» для активного изучения методики электрофореза ДНК в агарозном геле в школьном курсе биологии

Зими́на Елена Викторовна

Кандидат сельскохозяйственных наук,
доцент кафедры безопасности жизнедеятельности и естественных наук,
Амурский гуманитарно-педагогический государственный университет,
681000, Российская Федерация, Комсомольск-на-Амуре, ул. Кирова, 7к2;
e-mail: elena_dvkoms@mail.ru

Аннотация

В статье описана методика применения набора «Генетика» при изучении основ генетики в курсе биологии, дается полный ход работы с объяснением использования оборудования, этапов работы, анализом возможных результатов. Даны рекомендации проведения электрофореза ДНК на новом оборудовании, которые предназначены для школьников 10-11 классов, студентов – биологов, географов, химиков, учителей биологии и химии. Использование набора «Генетика» позволяет обучающимся не только освоить технику электрофореза ДНК и РНК, но и визуализировать их, сравнить их фрагменты, определить их размер. Электрофорез нуклеиновых кислот – это метод, который используется для разделения фрагментов ДНК, можно с успехом провести в условиях школы. Данную технологию с успехом можно применить при внедрении активных методов обучения в биологии (частично поискового демонстрационного, метода проблемного изложения, решения расчетных и логических задач и др) как школьниками, так и студентами среднего профессионального и высшего образования. Студенты среднего профессионального образования имеют возможность познакомиться с данной методикой при изучении программы «Биология» на первом курсе обучения, студенты – будущие биологи и географы – при изучении дисциплины «Молекулярная биология». Данная технология способствует формированию и развитию у обучающихся научного мышления, умения активно участвовать в творческой дискуссии, делать правильные выводы, аргументировано излагать и отстаивать свое мнение, углублению теоретических знаний.

Для цитирования в научных исследованиях

Зими́на Е.В. Использование учебного оборудования «Генетика» для активного изучения методики электрофореза ДНК в агарозном геле в школьном курсе биологии // Педагогический журнал. 2023. Т. 13. № 6А. С. 137-144. DOI: 10.34670/AR.2023.34.20.020

Ключевые слова

Генетика, молекулярная биология, геном, дезоксирибонуклеиновая кислота, метод электрофореза в агарозном геле, набор «Генетика», установление отцовства.

Введение

Цель использования учебного оборудования «Генетика» и освоения методики электрофореза ДНК в агарозном геле – актуализировать знания по строению нуклеиновых кислот, познакомить учащихся с методами молекулярной биологии, методом электрофореза в агарозном геле, анализом ДНК на отцовство. Возраст обучающихся, участвующих в освоении методики и программы: учащиеся 10-11 класса, студенты, учителя. Работу можно проводить в демонстрационной форме, при этом оптимальное количество человек в группе 8-10, каждый участник может заполнить свою лунку образцом ДНК, так и в групповой форме при выполнении самостоятельной, исследовательской работы, закреплении нового материала. Задачи освоения методики: сформировать интерес к изучению генетики и цитологии; изучение молекулярных основ наследственности, изменчивости организмов, совершенствовать знания методах молекулярной биологии, строении ДНК; способствовать закреплению понятийного аппарата и терминологии в генетике; изучить метод электрофореза нуклеиновых кислот в агарозном геле.

Проведение электрофореза на новом оборудовании «Генетика» характеризуется многими качествами, характерными для активного обучения, когда не только преподаватель, но и учащиеся деятельно участвуют в образовательном процессе, практически получают и закрепляют новые знания, при этом они могут самостоятельно выполнять большую часть работы [Курбатова, www; Зими́на, 2021]. Методика проведения электрофореза интерактивна – учащиеся могут активно участвовать в сборке, применении учебного оборудования, визуализировать ДНК, использовать смартфоны для наблюдения за процессом электрофореза, анализа и интерпретации полученных результатов, продемонстрировать биологические процессы с участием ДНК, способствует осознанному решению задач по молекулярной биологии. Данная методика характеризуется наглядностью, демонстративностью, эмоциональностью благодаря, например, удобному простому заливочному столику, использованию универсальных таблеток агарозы 3 в 1, яркой электрофорезной камере, визуализации результатов, все это в итоге способствует повышению внимательности, активности, заинтересованности, повышает уровень понимания и усвоения учащимися теоретического материала. Эта методика может использоваться как демонстрационная, при изучении основ генетики и молекулярной биологии в курсе общей биологии; а также при закреплении материала, при решении биологических задач, в ходе самостоятельных групповых работ, при решении олимпиадных задач, при работе с одаренными детьми.

Литературный обзор

Известно, что ДНК является биополимером и состоит из двух полинуклеотидных цепей, закрученных в форме двойной спирали, при этом каждая цепь представляет собой первичную структуру - оследовательное соединение нуклеотидов. Вторичная структура – это двойная спираль. Важнейший принцип, в соответствии с которым определяется структура макромолекулы – принцип комплементарности ДНК, который состоит в том, что ее цепи комплементарны друг другу вследствие того, что напротив А одной цепи всегда находится Т другой цепи, а напротив G всегда находится С [Заяц, 2015]. Модель двойной спирали ДНК появилась еще в 1953 г, за которую ее создатели Джеймс Уотсон, Френсис Крик и Морис Уилкинс были удостоены Нобелевской премии. Это событие, также как открытие принципа комплементарности, открытие матричных синтезов (процессов репликации, транскрипции,

трансляции), открытие генетического кода М. Ниренберг, С. Очоа и Х.-Г. Корана, открытие ферментов матричных синтезов, секвенирование генома микроорганизмов, растений, животных, программа «Геном человека» – стали важнейшими событиями в истории естественных наук. Еще в 1975-1977 – Ф. Сангер, а также А. Максам и У. Гилберт разработали методы быстрого определения первичной структуры ДНК, с тех пор методы молекулярной биологии непрерывно совершенствуются [Коницев, Севостьянова, 2005]. Гель-электрофорез – это техника, используемая для разделения макромолекул, нуклеиновых кислот и белков, в электрическом поле фрагменты ДНК двигаются в направлении к положительному полюсу геля (на приборе – от вершины к низу) [Методика проведения электрофореза в агарозном геле, www]. Новое оборудование – набор «Генетика» включает новейшую электрофорезную камеру, удобную, легкую, понятную в использовании школьниками и студентами, а также многие другие несложные компоненты, которые необходимы для проведения электрофореза, разделения и визуализации ДНК.

Материалы и методы исследования

При подготовке данной работы были использованы данные различных литературных источников, научных периодических изданий, в работе были использованы исследовательский, практический методы, использованы электронные образовательные ресурсы, проанализированы данные практической работы автора работы.

Используемая материально-техническая база. Обеспечение технологии предусматривает использование:

- электрофорезной камеры,
- заливочного столика с рамкой (камера для заливки геля с гребенками), складываемая затемняющая камера,
- источника питания,
- электрической плитки,
- автоматического дозатора объемом 5–10 мкл, 20 мкл
- колбы Эрленмейера,
- мерного цилиндра объемом 50 мл,
- мензурки, пипетки, дистиллированной воды (100мл),
- защитных очков, шпателя,
- таблеток агарозы 3 в 1 (агароза, трис-боратный буфер (ТВЕ), флюоресцентный краситель) (1 таблетка),
- набора для проведения экспериментов по генетике №4 «ДНК типирование и установление отцовства по ДНК». При этом в учебном наборе «Генетика» есть оборудование, перечисленное под номерами 1-3, 5-10, остальную перечисленную часть можно приобрести дополнительно, или использовать оборудование лаборатории.

Ход работы и результаты

Проведение электрофореза осуществлялось на учебном оборудовании «Генетика» Технопарка универсальных педагогических компетенций ФГБОУ ВО «АмГПУ». В нашей работе приводим поэтапное описание методики электрофореза ДНК на новом оборудовании, рекомендации еетиспользования в учебном процессе, оборудование для исследований, возможное время и результаты исследования.

Первый этап: приготовление агарозного геля.

1) Для приготовления агарозного геля используем 3 в 1 таблетку агарозы набора «Генетика», для этого достаем из упаковки одну таблетку агарозы, помещаем ее в колбу Эрленмейера.

2) Далее набираем в мерный цилиндр 40 мл дистиллированной воды, заливаем таблетку агарозы в колбе, встряхиваем.

3) Ставим колбу на электроплитку, доводим раствор до кипения (при этом раствор должен быть прозрачным, мелких частиц остаться не должно). В среднем, на приготовление раствора может потребоваться не больше 10 минут.

В итоге таблетка агарозы должна полностью раствориться, а готовый раствор агарозы должен быть прозрачным.

4) Оставляем гель остыть, но ненадолго, так как если сильно остудить, гель быстро застынет. Если раствору совсем не дать остыть и залить в камеру для заливки геля горячим, то трудно будет вынимать поддон с гелем из заливочной камеры

Второй этап: заливка агарозного геля.

1) Берем систему для электрофореза. На обратной стороне крепятся две двусторонние гребенки: одна сторона для больших лунок, другая – для маленьких. Их можно использовать в одном поддоне одновременно, так получится 26 лунок. (Однако лучше избегать вставлять две гребенки в один поддон, тк более легкие разделяющиеся фрагменты ДНК могут быстрее доходить до + полюса камеры). Приготовление лунок зависит от того, какие нам необходимы лунки по размеру, какое имеется количество ДНК. Можно приготовить и два геля одновременно, но по одному раствору из 1 таблетки агарозы, в каждый поддон с 1 гребенкой. Для начала лучше тренироваться на больших лунках.

2) Вставляем поддон. Вставляем гребенку. Далее в подготовленный поддон с гребенкой заливаем готовый раствор агарозы, делаем это медленно, аккуратно и так, чтобы гребенка была закрыта.

3) Даем гелю в лотке остыть и застыть. На это необходимо в среднем минут 30.

Когда гель застыл и по консистенции напоминает «желе», он готов к использованию. Чтобы ускорить процесс затвердевания геля, его можно убрать в холодильник.

4) Пока гель застывает, можно приготовить буфер ТВЕ (трисборатный буфер) для электрофореза.

Третий этап: постановка электрофореза.

1) Возвращаемся к застывшему гелю, удаляем гребенку, аккуратно раскачивая ее. Можно дозатором аккуратно смочить лунки водой (по каплям), чтобы извлечь гребенки, не повредив лунки. Одной рукой держим лоток, другой убираем гребенки (рисунок 1).

2) Готовим электрофорезную камеру, подключаем ее к источнику питания (в наборе есть разные разъемы для розеток), не включая пока сам прибор (рис.2).

3) Лоток с гелем нужно положить в прозрачный лоток электрофорезной камеры. Получится, что лунки будут на «-» полюсе (рис.2).

4) Залейте подготовленный 1x буфер поверх застывшего геля до отметки на стенке лотка.

5) Начинаем заполнять лунки геля. Нам нужен дозатор 20 мкл, наконечники для него. Отбираем необходимое количество ДНК из набора (по 5 мкл, можно меньше). При этом наконечник держите под углом 80-90 градусов (или меньше). Замена наконечника обязательна для каждого образца, чтобы пробы не загрязнялись.

6) Запишите, в какую лунку вносите какой образец, или схему составьте заранее.

7) Когда Вы загрузите необходимое количество лунок, закройте крышку. Проверьте

совпадение полюсов на крышке и приборе. ДНК заряжена, поэтому движется к + полюсу, и мы видим разделение ее фрагментов. 8) После того, как зарыли крышку, включаем камеру. Нужно нажать кнопку «Включение». Начался процесс электрофореза.



Рисунок 1 - Застывший гель



Рисунок 2 - Электрофорезная камера, готовая к работе



Рисунок 3 - Электрофорез ДНК. Визуализация результатов

Четвертый этап: визуализация и интерпретация результатов электрофореза.

Разложите затемняющую камеру из набора, ее можно поставить на прибор с начала электрофореза. Через 10-15 минут уже можно наблюдать электрофорез ДНК (рис. 3), включите ультрафиолетовый свет. Учащихся предупреждаем, что в темную камеру смотрим только в защитных очках.

Учащимся можно разрешить приложить камеру смартфона к отверстию в затемняющей камере, так процесс лучше визуализируется, его можно наблюдать и снимать в реальном времени. Можно рассмотреть разные светящиеся фракции ДНК, сравнить пробы друг с другом, сравнить расположение в них фрагментов ДНК. После завершения процесса результаты можно занести в таблицу.

Таблица 1 – Таблица для фиксации результатов

Номер образца ДНК	Количество фрагментов ДНК	Длины фрагментов (по линиям маркеров)
1		

Определение размеров производят путем сравнения наборов коммерческих фрагментов ДНК известной длины («DNA ladder», «линейка», «маркеры ДНК») и ДНК в проверяемых образцах [Электрофорез ДНК, www].

В процессе выполнения работы можно познакомиться с ДНК-анализом на отцовство, который направлен на выявление генетического материала предполагаемого отца в геноме ребенка. Необходимо обнаружить идентичные участки генов в образцах родителя и ребенка, по количеству совпадений сделать вывод о генетическом родстве. Если во всех исследуемых локусах ДНК ребенка и его предполагаемого отца находят совпадения, можно сделать вывод о том, что родство не исключено [Подольских, www]. В ходе выполнения этой части работы можно познакомить учащихся с правилами для определения генотипов родственников [Молекулярно-генетические методы установления родства, www]. На основе сходства количества, длины фрагментов можно сделать вывод об отрицательном или положительном родстве, правильно ли провели электрофорез, достигли ли цели работы.

Заключение

В результате освоения курса у обучающихся формируются следующие компетенции: знают методы молекулярной биологии; знают суть метода электрофореза ДНК в агарозном геле, его этапы; понимают сложность и биологическое значение процессов матричного синтеза для организмов; умеют провести электрофорез ДНК в агарозном геле, используя учебное оборудование; формируется более глубокое понимание и усвоение учащимися теоретического материала.

Использование набора «Генетика» позволяет обучающимся закрепить знания по разделу генетики «Механизмы поддержания постоянства генотипа в ряду поколений», темам «Генный уровень организации генетического аппарата», «Клеточный цикл», «Состав генома на разных этапах клеточного цикла, гаметогенеза», темам общей биологии «Методы биологии», «Строение и функции клеток. Деление клеток». Через использования данной технологии возможно исследование и визуализация ДНК, для получения новых знаний и закрепления изученных тем по разделу «Механизмы поддержания постоянства генотипа в ряду поколений организмов». Использование данного оборудования в образовательном процессе способствует

более глубокому пониманию и усвоению учащимися теоретического материала, формированию у них научной картины мира, стимулированию интереса к комплексу биологических наук, что полностью соответствует требованиям ФГОС.

Библиография

1. Буферные растворы: приготовление и использование. URL: <http://fb.ru/article/44036/bufernyie-rastvoryi-prigotovlenie-i-ispolzovanie>
2. Великов В.А. Молекулярная биология. Практическое руководство. Саратов, 2013. 84 с.
3. Заяц Р.Г. и др. Биология: для поступающих в вузы. Минск: Вышэйшая школа, 2015. 640 с.
4. Зимина Е.В. О популярных методах активного обучения в вузе // Вестник научного общества студентов, аспирантов и молодых ученых. 2021. № 1. С. 19-25.
5. Коничев А.С., Севостьянова Г.А. Молекулярная биология. М.: Академия, 2005. 400 с.
6. Курбатова О.В. и др. Активные методы обучения: рекомендации по разработке и применению. URL: <https://katkem.ru/wp-content/uploads/2018/11/MRAktivMetodi.pdf>
7. Методика проведения электрофореза в агарозном геле. URL: <https://www.laboratorii.com/stati/elektroforez-v-agaroznom-gele.html>
8. Молекулярно-генетические методы установления родства. URL: <http://www.dnalab.ru/kinship-testing/methods>
9. Подольских А.П. Анализ на отцовство: как делают, методы, достоверность и стоимость. URL: <https://www.kp.ru/guide/analiz-na-ottovstvo.html>
10. Электрофорез ДНК. URL: https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%AD%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%82%D1%80%D0%BE%D1%84%D0%BE%D1%80%D0%B5%D0%B7_%D0%94%D0%9D%D0%9A

The use of educational equipment "Genetics" for the active study of the technique of dna electrophoresis in agarose gel in the school course of biology

Elena V. Zimina

PhD in Agricultural Science,
Associate Professor of the Department of Life Safety and Natural Sciences,
Amur State Humanitarian and Pedagogical University,
681000, 2, 17, Kirova str., Komsomolsk-on-Amur, Russian Federation;
e-mail: elena_dvkoms@mail.ru

Abstract

The article describes the methodology of using the set "Genetics" in the study of the basics of genetics in the course of biology, gives the full course of work with an explanation of the use of equipment, stages of work, analysis of possible results. Recommendations for conducting DNA electrophoresis on new equipment are given, which are intended for schoolchildren of grades 10-11, biology students, geographers, chemists, biology and chemistry teachers. The use of the "Genetics" kit allows students not only to master the technique of DNA and RNA electrophoresis, but also to visualize them, compare their fragments, determine their size. Nucleic acid electrophoresis is a method that is used to separate DNA fragments, can be successfully carried out in a school setting. This technology can be successfully applied in the implementation of active teaching methods in biology (partially search demonstration, problem presentation method, solving computational and logical problems, etc.) both schoolchildren and students of secondary vocational and higher education. Students of secondary vocational education have the opportunity to get acquainted with

this technique when studying the Biology program in the first year of study, students – future biologists and geographers - when studying the discipline "Molecular Biology". This technology contributes to the formation and development of students' scientific thinking, the ability to actively participate in creative discussion, draw the right conclusions, present and defend their opinions in a reasoned manner, and deepen theoretical knowledge.

For citation

Zimina E.V. (2023) Ispol'zovanie uchebnogo oborudovaniya «Genetika» dlya aktivnogo izucheniya metodiki elektroforeza DNK v agaroznom gele v shkol'nom kurse biologii [The use of educational equipment "Genetics" for the active study of the technique of dna electrophoresis in agarose gel in the school course of biology]. *Pedagogicheskii zhurnal* [Pedagogical Journal], 13 (6A), pp. 137-144. DOI: 10.34670/AR.2023.34.20.020

Keywords

Genetics, molecular biology, genome, deoxyribonucleic acid, method of electrophoresis in agarose gel, set "Genetics", establishment of paternity

References

1. *Bufernye rastvory: prigotovlenie i ispol'zovanie* [Buffer solutions: preparation and use]. Available at: <http://fb.ru/article/44036/bufernyie-rastvoryi-prigotovlenie-i-ispolzovanie> [Accessed 06/06/2023]
2. *Elektroforez DNK* [DNA electrophoresis]. Available at: https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%AD%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%82%D1%80%D0%BE%D1%84%D0%BE%D1%80%D0%B5%D0%B7_%D0%94%D0%9D%D0%9A [Accessed 06/06/2023]
3. Konichev A.S., Sevost'yanova G.A. (2005) *Molekulyarnaya biologiya* [Molecular biology]. Moscow: Akademiya Publ.
4. Kurbatova O.V. et al. *Aktivnye metody obucheniya: rekomendatsii po razrabotke i primeneniyu* [Active teaching methods: recommendations for development and application]. Available at: <https://kat-kem.ru/wp-content/uploads/2018/11/MRAktivMetodi.pdf> [Accessed 06/06/2023]
5. *Metodika provedeniya elektroforeza v agaroznom gele* [Agarose gel electrophoresis technique]. Available at: <https://www.laboratorii.com/stati/elektroforez-v-agaroznom-gele.html> [Accessed 06/06/2023]
6. *Molekulyarno-geneticheskie metody ustanovleniya rodstva* [Molecular genetic methods for establishing kinship]. Available at: <http://www.dnalab.ru/kinship-testing/methods> [Accessed 06/06/2023]
7. Podol'skikh A.P. *Analiz na ottsovstvo: kak delayut, metody, dostovernost' i stoimost'* [Paternity testing: how it is done, methods, reliability and cost]. Available at: <https://www.kp.ru/guide/analiz-na-ottsovstvo.html> [Accessed 06/06/2023]
8. Velikov V.A. (2013) *Molekulyarnaya biologiya. Prakticheskoe rukovodstvo* [Molecular biology. Practical guide]. Saratov.
9. Zayats R.G. et al. (2015) *Biologiya: dlya postupayushchikh v vuzy* [Biology: for entering universities]. Minsk: Vysheishaya shkola Publ.
10. Zimina E.V. (2021) O populyarnykh metodakh aktivnogo obucheniya v vuze [On popular methods of active learning at the university]. *Vestnik nauchnogo obshchestva studentov, aspirantov i molodykh uchenykh* [Bulletin of the Scientific Society of Students, Postgraduates and Young Scientists], 1, pp. 19-25.