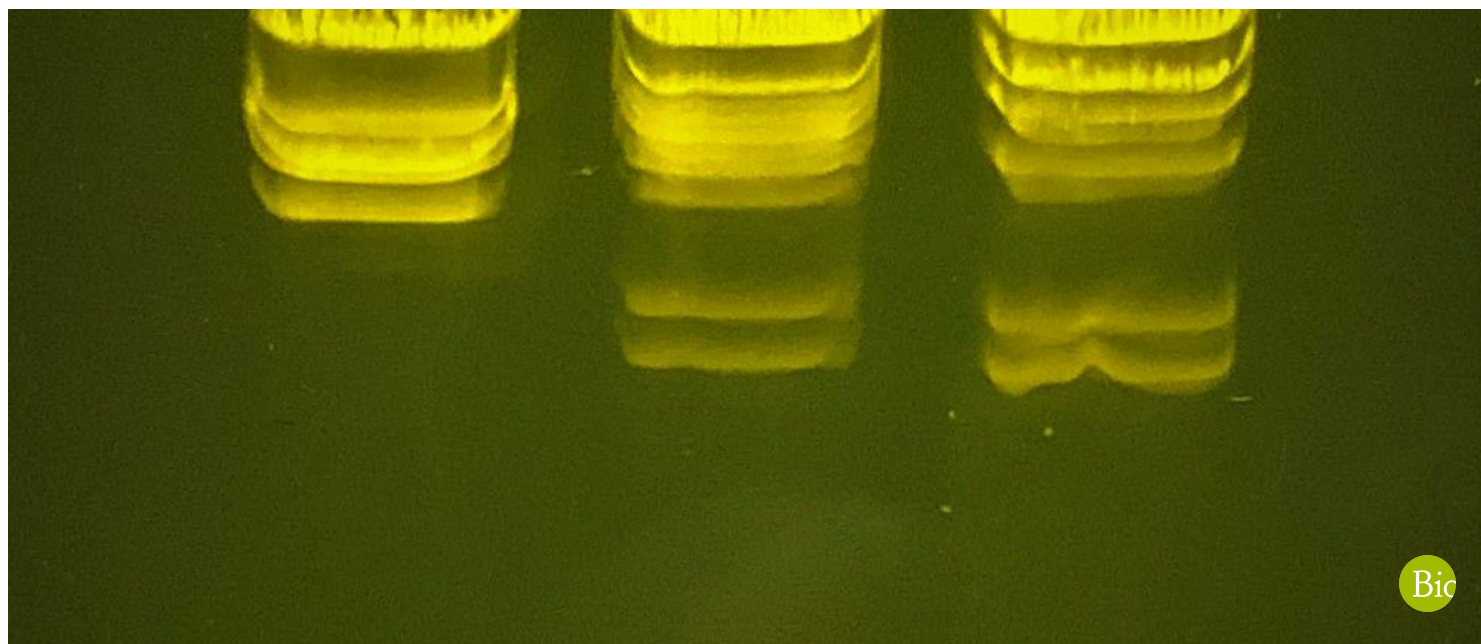


Тест на отцовство



Биология

Микробиология и генетика

Молекулярная генетика



Уровень сложности

средний



Размер группы

2



Время подготовки

10 Минут



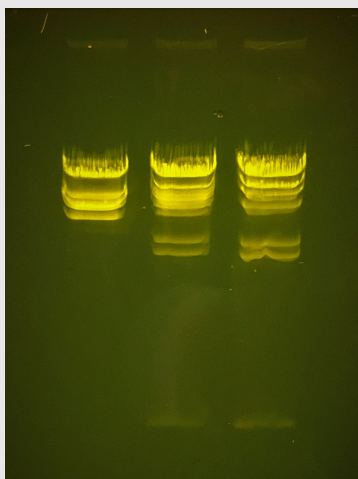
Время выполнения

30 Минут

PHYWE
excellence in science

Информация для учителей

Описание

PHYWE
excellence in science

Тест на отцовство с помощью системы BlueGel

Обычно каждый человек имеет 46 хромосом и, за исключением половых хромосом (гоносом), каждая пара хромосом несет в себе одну и ту же генетическую информацию. Однако часто встречаются небольшие вариации генов, что приводит к гетерозиготным аллелям. На этих вариациях основана индивидуальность генетического строения каждого человека (исключение: однояйцевые близнецы). Эта уникальность используется для тестов на отцовство. Для того, чтобы иметь возможность анализировать фрагменты ДНК и РНК, их обычно разделяют по размеру и делают видимыми путем окрашивания. Для этого используется гель-электрофорез. Нуклеиновые кислоты заряжены отрицательно и поэтому движутся в электрическом поле в направлении к положительному полюсу (аноду). Сравнивая образцы полос можно установить отцовство.

Набор содержит только образцы нечеловеческого происхождения и предназначен только для моделирования.

Дополнительная информация для учителей (1/4)

предварительные знания



Студенты уже должны быть знакомы с хромосомами, геномом, структурой генов (интроны, экзоны), а также свойствами ДНК. Кроме того, студенты уже должны знать, как работает полимеразная цепная реакция (ПЦР) и знать принцип гель-электрофореза. Студентам также следует заранее практиковаться в пипетировании.

Принцип



Образцы ДНК от "матери", "отца" и "ребенка" наносят на агарозный гель и разделяют гель-электрофорезом. Шаблоны полос сравниваются друг с другом, чтобы определить, является ли ребенок носителем ДНК обоих родителей. При использовании таблеток агарозы GelGreen® 3-в-1 флуоресцентный краситель SYBR-Green, содержащийся в таблетках, интеркалируется с ДНК. Краситель освещается специальным светом гелевой камеры blueGel™ и, таким образом, заставляет ДНК светиться.

Дополнительная информация для учителей (2/4)

Цель



В ходе этого эксперимента студенты должны узнать и понять, как работает гель-электрофорез. С помощью этого метода ДНК разделяется по размеру и становится видимой.

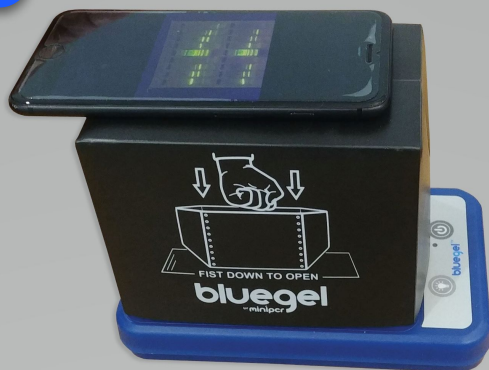
Задачи



Студенты готовят агарозный гель заданной концентрации и применяют различные образцы ДНК. Разделение можно наблюдать в реальном времени, самостоятельно задокументировав его с помощью смартфона или планшета и передав эти данные на компьютер. Затем они могут определить, является ли ребенок генетическим наследником обоих родителей.

Дополнительная информация для учителей (3/4)

PHYWE
excellence in science



Введение в систему BlueGel

Инструкции по подготовке и выполнению работы

- На видео слева показаны производство геля, сборка системы и пример разделения ДНК.
- При использовании таблеток GelGreen обратите внимание, что таблетка уже содержит TBE соль. Добавлять соль больше нельзя. В таблетку необходимо добавить только то количество деионизированной воды, которое указано на вкладыше упаковки.
- Рабочий буфер также должен быть буфером TBE и иметь концентрацию 1x. Преподаватель должен заранее разбавить буфер и распределить между студентами.

Дополнительная информация для учителей (4/4)

PHYWE
excellence in science

Варианты эксперимента и примечания



- Для кипячения геля рекомендуется использовать микроволновую печь (или электроплитку).
- Эксперимент также можно проводить на гелях, состоящих из отдельных компонентов (агароза, TBE или TAE), и полосах ДНК, окрашенных раствором метиленового синего. Однако здесь невозможно наблюдать разделение в реальном времени.
- Поскольку пипетирование - непростая задача, рекомендуется заранее отработать эту процедуру со студентами с помощью специальных карт, входящих в состав набора.

Инструкции по технике безопасности

PHYWE
excellence in science

- К этому эксперименту применяются общие инструкции по безопасному проведению экспериментов при преподавании естественных наук.
- Правила работы с опасными веществами приведены в соответствующих паспортах безопасности.
- SYBR-Green, используемый в таблетках GelGreen, является безопасной альтернативой обычному бромистому этидию. Он не проникает через кожу, но может проникать в ткани через открытые раны. Поэтому рекомендуется использовать перчатки.
- Агарозный гель, изготовленный из GelGreen таблетки может быть утилизирован с обычным бытовым мусором.

PHYWE
excellence in science

Информация для студентов

Мотивация (1/3)

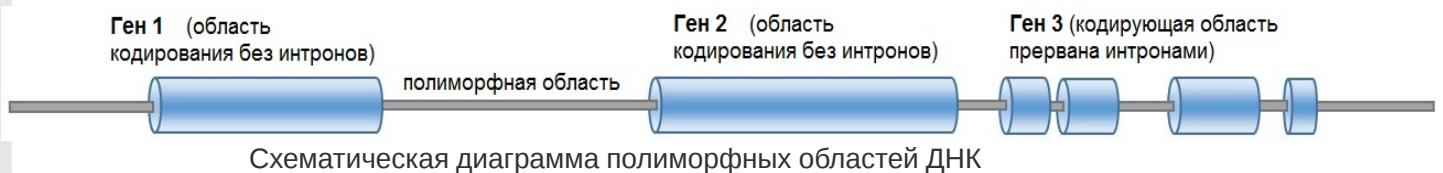


Отец с дочерью

Ребенок действительно мой? Меня усыновили? Методы молекулярной биологии, такие как полимеразная цепная реакция (ПЦР) и электрофорез в агарозном геле, могут дать четкий ответ на эти вопросы.

Обычно у каждого человека 46 хромосом. По 23 от матери и отца. За исключением половых хромосом (X- и Y-хромосомы), пары хромосом несут практически одинаковую генетическую информацию. Однако часто существуют небольшие вариации, и поэтому оба гена присутствуют в разных аллелях. Эти небольшие различия в кодировании и особенно в некодирующих областях генома приводят к индивидуальности генетического материала каждого человека (исключение: однояйцевые близнецы).

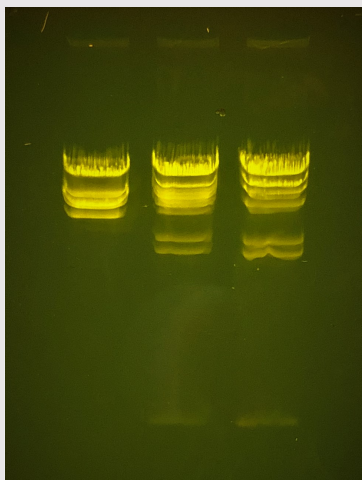
Мотивация (2/3)



Геном человека состоит из кодирующих (экзонов) и некодирующих участков (интронов). Некодирующие области часто состоят из коротких повторяющихся последовательностей и поэтому называются "повторами". Различают VNTRs: "Тандемные повторы с переменным числом" (от 10 до 150 нуклеотидов) и STRs: "Короткие тандемные повторы" (от 2 до 7 нуклеотидов). Эти повторы сильно различаются у разных людей и идеально подходят для создания генетического отпечатка пальца, который также может использоваться для выяснения семейных соотношений, например, для анализа отцовства. Изменяющиеся области воспроизводятся с помощью ПЦР, и теперь их можно сделать видимыми и оценить с помощью гель-электрофореза.

Мотивация (3/3)

PHYWE
excellence in science



ДНК-группы в агарозном геле

Гель-электрофорез позволяет разделить ДНК и РНК и сделать их видимыми. Он использует отрицательный заряд нуклеиновых кислот, которые мигрируют в электрическом поле к положительному полюсу (аноду). Агарозный гель, служит в качестве стационарной (неподвижной) фазы: чем выше концентрация агарозы в геле, тем плотнее сетка. Маленьким фрагментам ДНК легче, чем большим, перемещаться через эту сеть к аноду и, следовательно, со временем мигрировать дальше в геле.

Сами по себе нуклеиновые кислоты в геле не видны. Их можно либо окрашивать раствором метиленового синего после окончания цикла, либо использовать вещества, которые интеркалируются между основаниями генетического материала (накапливаются там). В этом эксперименте используется флуоресцентный краситель, который интеркалирует с фрагментами лямбда ДНК. Синий свет камеры для электрофореза заставляет краситель светиться, и таким образом ДНК становится видимой (зелено-желтые полосы, как на фото слева).

Задачи

PHYWE
excellence in science



1. Приготовьте 1% агарозный гель: обратите внимание, что таблетка агарозы уже содержит агарозу, флуоресцентный краситель и соль TBE, поэтому нужно добавлять только деионизированную воду.
2. Загрузите образцы ДНК в ячейки и начните электрофорез.
3. Сравните образцы и попытайтесь определить, действительно ли испытуемый является отцом ребенка.

Материал

Позиция	Материал	Количество
1	Трис-боратный буфер (ТВЕ) для электрофореза	1
2	Тест на отцовство (ДНК)	1
3	Наконечники для микролитровых пипеток, 2-200 мкл, желт., 1000 шт.	1
4	Микролитровая пипетка, 2-20 мкл	1
5	Колба Эрленмейера, широкогорлая, 100 мл	1
6	Резиновые перчатки, размер 8	1
7	Защитные очки, прозрачные	1
8	Мерный цилиндр, 250 мл,	1
9	Мерный цилиндр, 100 мл	1
10	Градуированная пипетка, 25 мл	1
11	Шаровая пипетка	1

Подготовка (1/2)



Видео 1: Подготовка геля

- Разбавьте 10x концентрированный концентрат буфера ТВЕ до 1x деионизированной водой (на один гель требуется около 30 мл буфера).
 - Приготовьте 1% агарозный гель (см. также видео 1). **Внимание: одной таблетки достаточно для приготовления двух 1% гелей!**
1. Выньте из упаковки таблетку с агарозой GelGreen и поместите ее в колбу Эрленмейера.
 2. Добавьте в таблетку 40 мл деионизированной воды и закипятите (в микроволновой печи или на электроплитке).
 3. Поместите стеклянную емкость для геля в платформу для разлива, а гребень - в емкость для геля (гребень находится под платформой для разлива). Используйте сторону гребня с большими зубцами.

Подготовка (2/2)

PHYWE
excellence in science

Готовый гель, готовый к загрузке

4. Теперь налейте в чашу 20 мл жидкого геля и дайте гелю застыть (около 10 минут).

- После остывания геля осторожно вытащите гребень из геля вертикально.
- Теперь поместите емкость с гелем в буферную камеру базового блока.
- Заполните буферную камеру 1x TBE, чтобы гель заполнил поверхность камеры.

Выполнение работы (1/2)

PHYWE
excellence in science

Загрузка и запуск геля

Загрузка и запуск геля (см. также видео 2):

- Возьмите пипетку объемом 2 мкл–20 мкл на 9 мкл и наденьте на нее желтый наконечник.
- Загрузите три образца ДНК в гель в следующем порядке.
 1. Лямбда-ДНК матери
 2. Лямбда-ДНК, ребенка
 3. Лямбда-ДНК, потенциального отца
- Теперь аспирируйте (наберите) 9 мкл в наконечник с помощью пипетки и осторожно переносите содержимое в ячейку.

Выполнение работы (2/2)

PHYWE
excellence in science

Гель-камера с "черной камерой" и смартфоном

- Повторите процесс и меняйте после каждого образца наконечник, чтобы не допустить загрязнения образцов друг другом.

Запуск геля

- Закройте базовый блок крышкой и включите нажав кнопку "Вкл / Выкл".
- Разверните "черную камеру" и аккуратно наденьте ее на крышку (см. также фото слева).
- Нажав кнопку "Свет", активируете синий свет и следите за разделением образцов. С помощью смартфона или планшета задокументируйте разделение на пленке или сделайте фотографии и видео.
- Разделение завершается примерно через 20 минут.

PHYWE
excellence in science

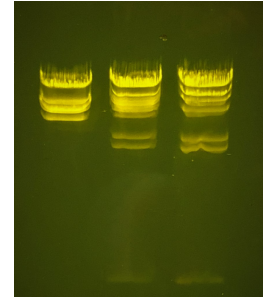
Протокол

Задача 1

Сравните Ваши результаты с таблицей и изображенной фотографией

Размеры фрагментов с оптимальным окрашиванием и разделением
 (задаются в парах оснований, bp)

ДНК матери	ДНК ребёнка	ДНК потенц. отца
21.200	23.100	23.100
7.400	21.200	9.400
5.800	9.400	6.500
4.800	7.400	4.300
3.500	6.500	2.300
	5.800	2.000
	5.600	
	4.800	



Разделение анализа отцовства

Задача 2

Что происходит во время гель-электрофореза?

- Фрагменты лямбды ДНК становятся видимыми без использования красителя.
- Разделение фрагментов ДНК в соответствии с их размерами.
- Разделение фрагментов ДНК в соответствии с их зарядом.
- Чем выше концентрация агарозы, тем хуже поток через камеру.



Задача 3

Заполните пробелы в тексте

ДНК заряжена и мигрирует в электрическом поле к . ДНК представляет собой двойную спираль. и тимин, а также цитозин и связаны водородными связями.

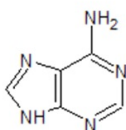
Область кодирования ДНК называется , некодирующая область - . Области с наибольшей изменчивостью называются .

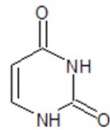
Процедура, сокращенно обозначаемая , позволяет реплицировать срезы ДНК.

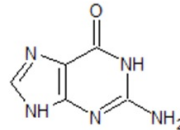
Проверить

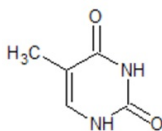
Задача 4

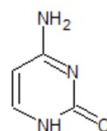
Внесите правильные названия под формулы оснований











 Гуанин

 Аденин

 Цитозин

 Урацил

 Тимин

Проверить

Слайд	Оценка/Всего
Слайд 20: Принцип гель-электрофореза	0/1
Слайд 21: Свойства ДНК	0/8
Слайд 22: Назначьте базам их имена	1/1

Общая сумма

 Решения Повторить