



Krewny daleki czy bliski?

- [Wprowadzenie](#)
- [Przeczytaj](#)
- [Gra edukacyjna](#)
- [Sprawdź się](#)
- [Dla nauczyciela](#)

Bibliografia:

- Źródło: Od odczytów do wariantów, czyli jak wygląda poszukiwanie zmian w DNA - Paweł Sztromwasser, tekst dostępny online: genetyka.bio.
- Źródło: BARKODING DNA – NOWOCZESNE PODEJŚCIE DO IDENTYFIKACJI ORGANIZMÓW - Zuzanna Kowalska, Filip Pniewski, Adam Latała, tekst dostępny online: researchgate.net.



Krewny daleki czy bliski?

Jedną z metod wykorzystywaną do ustalania sekwencji materiału genetycznego jest elektroforeza, czyli rozdział białek lub łańcuchów DNA i RNA w polu elektrycznym. Użycie elektroforezy pozwala na obserwację długości łańcuchów DNA powstających podczas sekwencjonowania z tzw. terminacją łańcucha.

Źródło: N/A, National Cancer Institute, Unsplash, domena publiczna.

Badania DNA są istotnym elementem poznawania przebiegu ewolucji i powstawania poszczególnych gatunków oraz ustalania ich wzajemnego pokrewieństwa. Na tej podstawie konstruuje się drzewa rodowe rozmaitych grup organizmów. Filogenetyka odnosi się najczęściej do gatunków, choć możliwe jest także badanie pokrewieństwa podgatunków, szczepów czy innych niższych (lub wyższych) od gatunku jednostek taksonomicznych. Dzięki analizie pokrewieństwa można np. ustalić, które z obecnie żyjących zwierząt są najbliższej spokrewnione z wymarłymi dinozaurami.

Twoje cele

- Wykażesz przewagę metod z zakresu biochemii i genetyki w ustalaniu pokrewieństwa między organizmami nad pozostałymi metodami.
- Wymienisz metody stosowane podczas ustalania pokrewieństwa między organizmami.
- Opisziesz sposoby analizy pokrewieństwa między gatunkami.

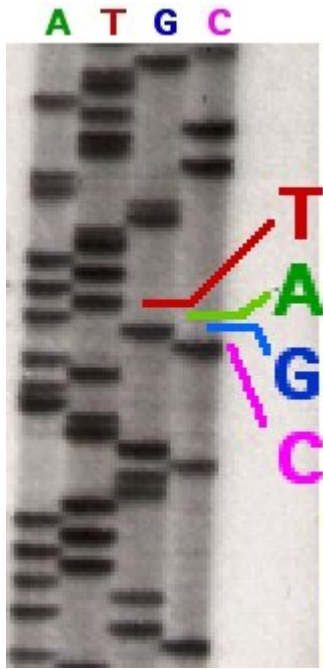
Przeczytaj

Aby prześledzić ewolucję gatunków, można przyglądać się np. skamieniałym szkieletom, jakie po nich pozostały. W ten sposób ustalono, że współczesne ptaki pochodzą od dinozaurów. Co więcej, można je zaklasyfikować do jednej z grup tych wielkich gadów i uznać za ich jedynych żyjących dziś przedstawicieli. Więcej informacji na ten temat znajdziesz w e-materiale: [Czy ptaki są dinozaurami?](#) Obecnie tworzone drzewa pokrewieństw między organizmami opierają się na analizie genomów organizmów. Rozwój technik pozwalających na badania DNA zrewolucjonizował nauki biologiczne, a systematyka organizmów uległa znacznej zmianie.

Identyfikacja materiału genetycznego

Analizy fenotypowe są niedostatecznym źródłem wiedzy w przypadku ustalania pokrewieństwa. Cechy, na których opiera się analiza, mogły się wykształcić w sposób niezależny u różnych organizmów. Duży wpływ na fenotyp organizmu mają także warunki środowiska. Wiąże się z tym zjawisko plastyczności fenotypu - na podstawie danego genotypu mogą powstać różne cechy fenotypowe, w zależności od działających na organizm czynników środowiskowych. Trudne jest także ustalenie pokrewieństwa na wczesnych etapach rozwoju, ze względu na słabo wykształcone cechy specyficzne dla gatunku. Dlatego w przypadku analiz pokrewieństwa niezmiernie ważne są analizy genomów organizmów. Analizy porównawcze sekwencji genomów dostarczają wielu informacji i często podważają wyniki uzyskane na podstawie obserwacji fenotypowej. Uzyskane sekwencje są archiwizowane w bazach danych, a programy komputerowe pozwalają na ich szybkie porównywanie oraz wyszukiwanie podobieństw. Specjalistyczne narzędzia służą także do tworzenia drzew pokrewieństw oraz ustalania tempa zmian materiału genetycznego na przestrzeni lat. Problemem, który znacząco ogranicza zakres wykorzystania analiz DNA, jest brak możliwości uzyskania próbek materiału genetycznego od dawno wymarłych organizmów roślin i zwierząt.

Aby móc przeanalizować pokrewieństwo organizmów na podstawie DNA oraz wyciągnąć wnioski o pokrewieństwie gatunków, należy **zsekwencjonować** materiał genetyczny. Po pozyskaniu próbki od danego organizmu należy wyizolować jego materiał genetyczny. DNA organizmu może zostać



Wynik sekwencjonowania DNA metodą Sangera. Kolorowe litery z prawej strony przedstawiają kolejność czterech przykładowych nukleotydów we wskazanym fragmencie sekwencji DNA badanych organizmów.

Źródło: John Schmidt, Wikimedia Commons, licencja: CC BY-SA 3.0.

Sangera, opierająca się na **znakowanych** formach nukleotydów, które powodowały zakończenie syntezy nici. Dzięki analizie **elektroforetycznej** możliwy jest rozdział cząsteczek na podstawie wielkości fragmentu DNA. Podczas elektroforezy najkrótsze fragmenty migrują najszybciej, a wyznakowanie nukleotydów pozwala na określenie, który nukleotyd kończy nić. Odczyt sekwencji polegał na prześledzeniu rozdziału prążków. Obecnie cały proces został zautomatyzowany, co pozwala na analizę większych fragmentów DNA w krótszym czasie. Szczegółowe informacje na temat elektroforezy DNA znajdują się w materiale: *Sekwencjonowanie DNA*.

powielony w reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR, ang. *polymerase chain reaction*), w wyniku czego w próbce będzie się znajdować wiele kopii DNA.

Więcej na temat PCR w e-materiale: *Łańcuchowa reakcja polimerazy*.

Taki materiał, o odpowiednim stężeniu oraz czystości, można wykorzystać do sekwencjonowania. Poznaną sekwencję można porównać z analogiczną obecną u innych organizmów i na tej podstawie określić, gdzie występują różnice. Im mniej różnic, tym bardziej podobne są dwa organizmy. Naukowcy wybrali kilka genów, które szczególnie dobrze poznali, i to właśnie one są najczęściej ze sobą porównywane

Jedną z pierwszych technik pozwalających na sekwencjonowanie DNA była **metoda**

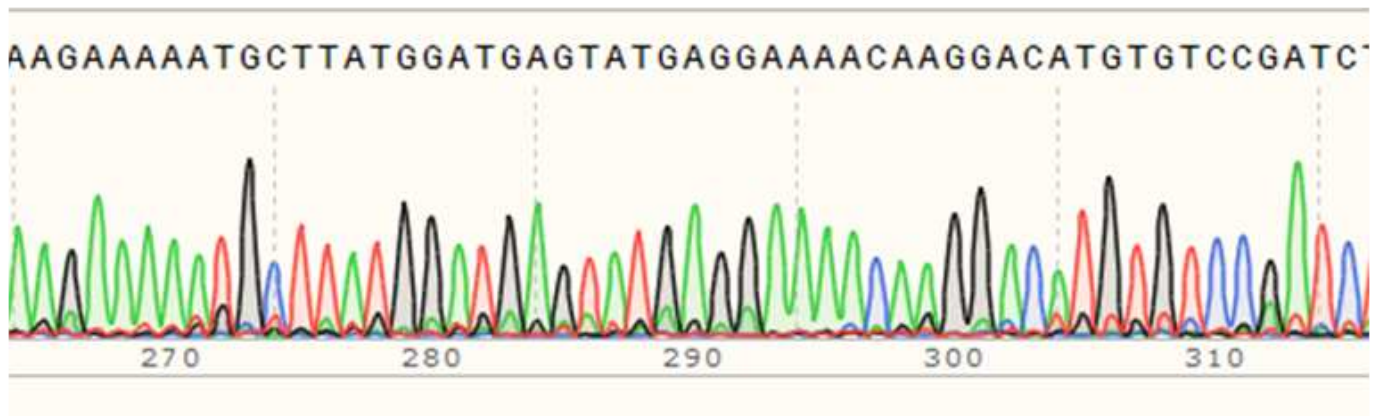
Nowoczesne metody sekwencjonowania DNA

Znakowanie fluorescencyjne nukleotydów hamujących wydłużanie DNA

Dla rozwoju metod sekwencjonowania DNA niezmiernie ważne było opracowanie techniki w oparciu o znakowanie fluorescencyjne. Pozwoliło znacznie przyspieszyć sam proces i go zautomatyzować. Ponieważ różne **fluorochromy** mają odmienne długości fal emisji po wzbudzeniu, możliwa jest obserwacja różnych kolorów fluorescencji. Ta cecha została

wykorzystana w metodzie automatycznego sekwencjonowania. [Dideoksynukleotydy](#) (ddNTP) wyznakowano bowiem różnymi fluorochromami, co pozwoliło na sekwencjonowanie z użyciem wszystkich czterech ddNTP w jednej probówce. W związku z tym wykorzystuje się jedną mieszaninę substratów reakcji, a nie jak w metodzie Sangera cztery probówki, gdzie każda miała inny rodzaj ddNTP. W technice tej wykorzystuje się detektor, mający zdolność do zbierania i odróżniania sygnałów płynących z fluorochromów.

Znakowanie fluorescencyjne opiera się na elektroforezie kapilarnej w automatycznym sekwenatorze. Wykonywana jest ona w kwarcowych kapilarach o średnicy 25–100 mikrometrów. Na ich końcu znajduje się wspomniany detektor. Sekwencja dzięki różnym sygnałom fluorochromów może być odczytywana przez komputer „na bieżąco”, co chroni przed pomyleniem kolejności prążków na żelu, zdarzającym się w tradycyjnej metodzie Sangera. Wynik takiego sekwencjonowania to [chromatogram](#), na którym widoczne są piki dla poszczególnych nukleotydów, wyznakowanych różnymi fluorochromami.



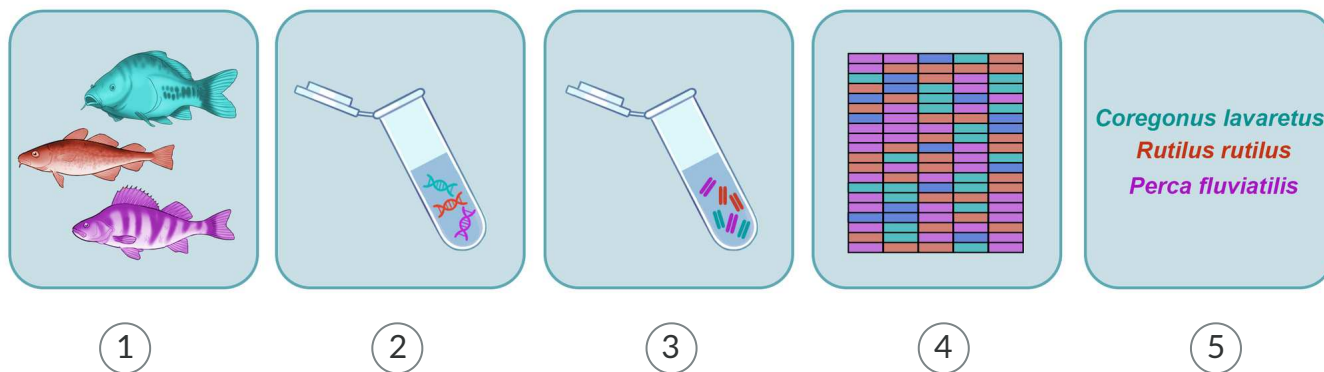
Fragment chromatogramu po sekwencjonowaniu genu drożdżowego odczytany w programie SnapGene. Piki dla poszczególnych nukleotydów oznaczone są różnymi kolorami: dla adeniny – zielonym, guaniny – czarnym, cytozyny – niebieskim, a dla tyminy – czerwonym.

Źródło: Mateusz Szczepańczyk, Englishsquare.pl Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Sekwencjonowanie nowej generacji (NGS, ang. *new generation sequencing*)

Sekwencjonowanie NGS pozwala na sekwencjonowanie DNA pobranego np. z próbki gleby czy wody. Wiąże się to z ogromną ilością różnych sekwencji DNA, które są odczytywane w tym samym czasie. W wielu przypadkach poznajemy nieznane wcześniej nauce gatunki.

Sekwencjonowanie nie odbywa się w probówce, ale na płytce, na powierzchni której znajdują się dołki. DNA w dołku jest powielane przy użyciu reakcji PCR, tworząc zbiór fragmentów. W technice tej stosuje się wyznakowane fluorescencyjnie nukleotydy. Każdy z nukleotydów wyznakowany jest innym kolorem, co umożliwi ustalenie, jaki nukleotyd został przyłączony. Cykl taki powtarza się do 200 razy, aby otrzymać całkowitą sekwencję fragmentu. W tym samym czasie analizowana jest ogromna liczba próbek, która daje od 1 mln do 43 mld sekwencji na analizę. Wyniki odczytów są później analizowane przez programy komputerowe.



1

Pobranie próbki środowiskowej

2

Izolacja DNA z próbki środowiskowej

3

Powielenie fragmentów DNA za pomocą PCR

4

Porównanie otrzymanych sekwencji DNA z sekwencjami referencyjnymi w bazach danych

5

Identyfikacja gatunków z tej samej próbki

Metabarkoding DNA to szybka metoda umożliwiająca ocenę różnorodności biologicznej. Za jej pomocą można np. scharakteryzować skupisko gatunków w próbce środowiskowej. Ogromne zbiory danych wymagają kompleksowych analiz laboratoryjnych i bioinformatycznych.

Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Głównymi zaletami najnowszych metod sekwencjonowania są:

- wysoka przepustowość;
- niski koszt analizy jednej próbki;
- możliwość analizy ogromnej ilości danych w stosunkowo krótkim czasie (technologie NGS generują dużą liczbę wyników, które następnie należy przetwarzać, wykorzystując

innowacyjne narzędzie bioinformatyczne oraz komputery charakteryzujące się dużą mocą obliczeniową);

- odstępnie od radioaktywnych izotopów i zastąpienie ich nukleotydami znakowanymi fluorescencyjnie;
- skrócenie czasu całego procesu, dzięki czemu większa ilość materiału może zostać przeanalizowana i wprowadzona do ogólnodostępnych baz danych, a na ich podstawie można następnie próbować ustalić stopień pokrewieństwa badanych organizmów z już znanymi gatunkami, lub stwierdzić, iż próbka materiału genetycznego pochodzi z jeszcze nieznanego gatunku.

Ustalanie pokrewieństwa

Poznany za pomocą sekwencjonowania ciąg nukleotydów w badanym DNA jest wprowadzany do bazy danych. Współcześnie istnieje wiele takich baz. Gromadzą one informacje o genomach wielu gatunków lub wybranych grup organizmów, np. drożdży, bakterii czy roślin. Bazy danych pozwalają nie tylko na sprawdzenie, czy w genomie danego organizmu występuje dana sekwencja, ale także na poznanie białka, które jest przez nią kodowane.

Ustalanie pokrewieństwa między organizmami opiera się na analizie porównawczej sekwencji genomów organizmów. W toku ewolucji w DNA organizmów pojawiają się mutacje, ale w jednych jego fragmentach występują częściej, a w innych rzadziej. Sekwencje, w których rzadko dochodzi do mutacji, określane są mianem konserwatywnych i to ich używa się najczęściej do tego rodzaju porównań. Zazwyczaj sekwencje konserwatywne kodują bardzo ważne dla przeżycia komórki białka. Do analiz porównawczych wykorzystywane są także sekwencje aminokwasowe białek. Część zmian w genach nie skutkuje bowiem zmianą kodowanych przez nie aminokwasów, przez co białka utrzymują wysoki stopień podobieństwa.

| | | |
|----------|---|-----|
| Hsa_TM66 | ALTLHYDRYTTSTRRLDPIPQLKCVGGTAGCDSYTPKVIQCQNKGWDGYDVQWECKTDLDI | 103 |
| Ptr_TM66 | ALTLHYDRYTTSTRRLDPIPQLKCVGGTAGCDSYTPKVIQCQNKGWDGYDVQWECKTDLDI | 103 |
| Ppy_TM66 | ALTLHYDRYTTSTRRLDPIPQLKCVGGTAGCDSYTPKVIQCQNKGWDGYDVQWECKTDLDI | 103 |
| Mml_TM66 | ALTLHYDRYTTSTRRLDPIPQLKCVGGTAGCDSYTPKVIQCQNKGWDGYDVQWECKTDLDI | 103 |
| Mfa_TM66 | ALTLHYDRYTTSTRRLDPIPQLKCVGGTAGCDSYTPKVIQCQNKGWDGYDVQWECKTDLDI | 103 |
| Mne_TM66 | ALTLHYDRYTTSTRRLDPIPQLKCVGGTAGCDSYTPKVIQCQNKGWDGYDVQWECKTDLDI | 103 |
| Ssc_TM66 | ALTLHYDRYTTSTRRLDPIPQLKCVGGTAGCDSYTPKVIQCQNKGWDGYDVQWECKTDLDV | 103 |
| Bta_TM66 | ALTLHYDRYTTSTRRLDPIPQLKCVGGTAGCDSYTPKVIQCQNRGWDGYDVQWECKTDLDV | 103 |
| Cfa_TM66 | ALTLHHDYTTSTRRLDPIPQLKCVGGTAGCDSYTPKVIQCQNKGWDGYDVQWECKTDLDI | 103 |
| Mmu_TM66 | ALTLYSDRYTTSTRRLDPIPQLKCVGGTAGCEAYTPRVIQCQNKGWDGYDVQWECKTDLDI | 104 |
| Rno_TM66 | ALTLYSDRYTTSTRRLDPIPQLKCVGGTAGCDAYTPKVVQCQNKGWDGYDVQWECKTDLDI | 104 |
| Ocu_TM66 | ALTLHYDRYTTSTRRLDPIPQLKCVGGTAGCDAYTPKVIQCQNKGWDGYDVQWECKTDLDV | 97 |
| Laf_TM66 | ALTLHYNRYTTSTRRLDVPVQLKCVGGTAGCNSYTPKVIQCQNKGWDGYDVQWECKTDLDI | 89 |
| Mdo_TM66 | ALTLHRDRFTTARRTAPIQLQCLGGSAGCPAHIPVIVQCRNKGWDGFDVQWECKAELDT | 119 |
| Gga_TM66 | VLTLHRGRYTTARRTAAVPQLQICGGSAGCS-DIPEVVQCYNRGWDGYDVQWQCKADLEN | 94 |
| Xla_TM66 | TITLYADRYTNARRSAPVPLKCVGGTAGCNSYTPKVIQCQNKGWDGYDVQWECKTDMDN | 93 |
| Xlr_TM66 | AITLYADRYTNARRSAPVPLKCVGGTAGCNSYTPKVIQCQNKGWDGYDVQWECKTDMDN | 93 |
| Dre_TM66 | VLTLYRGRYTTARRSSPVPQLQICGGSAGCGSFPEVVQCYNRGSDGIDAQWECKADMDN | 93 |
| Ssa_TM66 | VLTLYKGYTTARRSSAVPQLQCVGGSAGCGSFPEVVQCYNKGWDGVDVQWECKTDMDN | 93 |
| Tru_TM66 | VLTLYRGLYTTARRSSPVPQLQCVGGSAGCHAFVPEVVQCQNKGWDGMDIQWECKTDMDN | 99 |
| Tni_TM66 | TLTLYRGRYTTARRSSPVPQLKCVGGSAGCQAFVPEVVQCQNRGWDGVDVQWECKTDMDN | 89 |
| Gac_TM66 | ALTLYKNRYTTARRSAPVPLQCVGGSAGCQAFVPEVVQCQNKGWDGVDVQWECKTDMDN | 92 |
| Ppr_TM66 | VLTLYKGRYTTARRSSPVLQCVGGSAGCGSFVPEVVQCYNRGSDGIDTQWECKADMDN | 93 |
| Cel_TM66 | AITLHKGMTTGRRVSPVPLKCVGG-SAKGAFTPKVVQCANQGFDSVQWRCDADLPH | 96 |
| Cre_TM66 | AITLHKGMTTGRRVAPVPLKCVGG-SAKGAFTPKVVQCANQGFDSVQWRCDADLPH | 96 |
| Cbr_TM66 | AITLHKGMTTGRRVAPVPLKCVGG-SAKGQFSPKVVQCANQGFDSVQWRCDADLPH | 96 |

.:** . *..** . **:*** :. *.:** *:* ** * ** * .: :

Fragment analizy porównawczej sekwencji białkowej między wieloma organizmami. Analizę wykonano w programie ClustalW.

Źródło: Wikid25, Wikimedia Commons, licencja: CC 0 1.0.

Wyniki analizy porównawczej pozwalają na określenie stopnia podobieństwa porównywanych sekwencji, a na tej podstawie można wykonać [drzewo filogenetyczne](#). Im większy stopień [homologii](#), tym bliżej spokrewnione powinny być organizmy. W celu dokładnego określenia stopnia pokrewieństwa należy porównać długie sekwencje. Porównanie krótkich fragmentów może dać błędny wynik.

Analiza pokrewieństwa w obrębie taksonów (blisko spokrewnionych organizmów) może się opierać na krótkich fragmentach. W takim przypadku wykorzystywany jest tzw. [barkoding](#). Więcej o metodzie barkodingu w materiale: [Barkoding DNA - analiza tekstu naukowego](#).

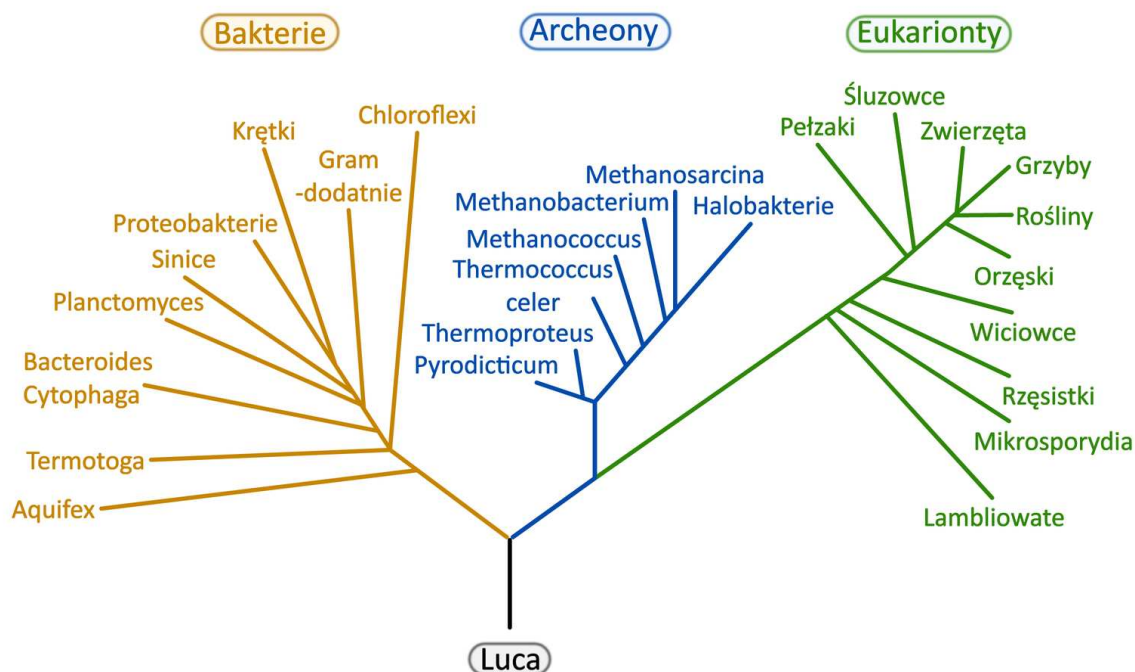
Konstruowanie drzew filogenetycznych

Do tworzenia drzew filogenetycznych wykorzystywane są programy komputerowe oraz narzędzia dostępne bezpośrednio w bazach danych, gromadzących informacje o sekwencjach DNA. Jedną z najczęściej używanych baz danych jest NCBI (ang. National Center for Biotechnology Information). Na stronie internetowej NCBI znajduje się specjalna zakładka poświęcona taksonomii oraz ustalaniu homologii. Do analizy można użyć danych zawartych w bazie, jak również własnych wyników. Drzewa filogenetyczne wykonane w różnych programach mogą się jednak różnić, ze względu na różne modele

wykorzystywane do analiz. Więcej na ten temat znajdziesz w e-materiale: [Kontruowanie drzew filogenetycznych](#).

Do analizy pokrewieństwa często wykorzystywany jest rRNA – rybosomalny RNA, który wchodzi w skład podjednostek rybosomalnych. Szczególnie często stosowany jest fragment 16S podjednostki rybosomalnej, który jest wysoce konserwatywny. Jest to jedynie jedna z wielu cząsteczek, służących ustalaniu pokrewieństwa. Różne grupy organizmów mogą wykazywać większą zmienność w obrębie innych cząsteczek. Przykładem porównywanej sekwencji konserwatywnej jest mitochondrialny gen kodujący **cytochrom c**, który mają rośliny, zwierzęta i wiele mikroorganizmów. U blisko spokrewnionych organizmów jest on bardzo podobny lub nawet identyczny, np. u ludzi i szympanów. Między dalszymi krewnymi różni się proporcjonalnie do stopnia pokrewieństwa. Jeżeli w wyizolowanym materiale genetycznym znajdzie się ten właśnie gen, to można z bardzo dużym prawdopodobieństwem ustalić taksonomiczną pozycję badanego organizmu.

Początków drzewa filogenetycznego upatruje się w hipotetycznym organizmie nazwanym z jęz. ang. *last universal common ancestor* (LUCA), co oznacza 'ostatni uniwersalny wspólny przodek'. Nie był to pierwszy żywy organizm na Ziemi, ale ostatni, od którego pochodzą wszystkie pozostałe. Jeśli wyobrazimy sobie pierwsze organizmy jako pień drzewa życia, LUCA będzie ostatnim z nich przed pierwszym rozgałęzieniem pnia. Zdaniem naukowców był to jednokomórkowiec podobny do dzisiejszych archeonów.



Drzewo filogenetyczne ukazujące podział na trzy domeny: bakterie, archeony i eukarionty.

Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o.o., Na podstawie: Eric Gaba (Sting, fr:Sting), Cherkash - NASA Astrobiology Institute., licencja: CC BY-SA 3.0.

Słownik

analizy fenotypowe

badania biorące pod uwagę jedynie widoczne cechy organizmu, jak liczba kończyn, kształt kości czy kolor sierści

chromatogram

graficzne przedstawienie procesu rozdziału cząsteczek

cytochrom c

białko obecne u wielu organizmów, będące jednym z przenośników tlenu w łańcuchu oddechowym; wykorzystywane jest w badaniach filogenetycznych do określania stopnia pokrewieństwa między organizmami

dideoksynukleotyd

nukleotyd hamujący wydłużanie nici DNA; nie posiada grupy -OH w pozycji 3' pentozy

drzewo filogenetyczne

graficzne przedstawienie filogenezy – ewolucyjnych zależności, stosunków pokrewieństwa między różnymi grupami systematycznymi (taksonami)

elektroforeza

rozdziół białek lub łańcuchów DNA i RNA w specjalnym żelu; umieszcza się go wraz z próbkami w polu elektrycznym, pod którego wpływem przesuwiają się naprzód i rozdzielają pod względem wielkości

fluorochrom

cząsteczka posiadająca zdolność do fluorescencji; w wyniku wzbudzenia promieniowaniem o danej długości fali emituje falę o innej długości

homologia

(gr. *homólogos* – zgodny) podobieństwo genów i białek wynikające z odziedziczenia po wspólnym przodku

sekwencjonowanie DNA

metoda pozwalająca na określenie kolejności nukleotydów w DNA; wykorzystuje m.in. mechanizm syntezy nici z wyznakowanymi nukleotydami

znakowany nukleotyd

nukleotydu, do którego dołączony został związek barwny lub izotop radioaktywny (inny do każdego nukleotydu) w taki sposób, aby można go potem było zidentyfikować w gotowej nici DNA

Gra edukacyjna

Polecenie 1

Sprawdź, co wiesz o różnych metodach badania pokrewieństwa między organizmami.
Procentowy punkt zaliczenia testu wynosi 80%.



Test

**Sprawdź swoją
wiedzę na temat
metod badania
pokrewieństwa
między
organizmami.**

Poziom
trudności:

łatwy

Limit czasu:

4 min

Twój ostatni
wynik:

-

Uruchom

Polecenie 2

Sprawdź się

Pokaż ćwiczenia:   

Ćwiczenie 1



Ćwiczenie 2



Ćwiczenie 3



Ćwiczenie 4



Ćwiczenie 5



Ćwiczenie 6



Ćwiczenie 7



„W latach 80. ubiegłego wieku Alan Wilson i jego współpracownicy (Cann i współaut. 1987) przebadali DNA kilkudziesięciu osób z różnych stron świata. Wówczas nie sekwencjonowano jeszcze zazwyczaj całych genomów mitochondrialnych, praca ta opiera się na analizie polimorfizmów miejsc restrykcyjnych w genomie mitochondrialnym. Największą różnorodność mitochondrialnego DNA znaleziono w Afryce; drzewa sporządzone na podstawie tych wyników (i potwierdzone wielokrotnie przez późniejsze badania) wskazały na wspólnego przodka (a raczej może na wspólną pramatkę) żyjącą w Afryce około 180 000 lat temu (Cann i współaut. 1987; Wallace 1995, 2005). Oczywiście nie była to jedyna wówczas żyjąca kobieta (stąd nazwa »Ewa« może nie jest do końca uzasadniona), ale tylko jej mitochondria były przekazywane z córki na córkę przez wiele pokoleń aż do czasów współczesnych; inne mitochondrialne DNA pochodzące od kobiet żyjących w czasach »Ewy« nie dotrwały do dzisiaj.”

Źródło: Ewa Bartnik, *Ludzki genom mitochondrialny*, „KOSMOS” 2009, nr 58, s. 555-558.

Ćwiczenie 8



„Metoda Sangera pozwoliła między innymi po raz pierwszy odczytać genom człowieka (2001 rok). Trwało to ponad 10 lat, wymagało pracy 20 laboratoriów na całym świecie i kosztowało 3 miliardy dolarów. Od ponad dekady istnieje jednak technologia dużo szybszego i tańszego sekwencjonowania. Dla odróżnienia od sekwencjonowania metodą Sangera, nowa technologia została nazwana sekwencjonowaniem nowej generacji (ang. next-generation sequencing, NGS). Spotyka się też nazwy sekwencjonowanie drugiej generacji lub sekwencjonowanie wysokoprzepustowe (ang. high-throughput sequencing). Wraz z nadejściem NGS, metoda Sangera nie stała się jednak zbędna. Służy obecnie do sekwencjonowania DNA na małą skalę, oraz weryfikacji wyników pochodzących z NGS. Ze względu na rosnące zaufanie i jakość sekwencjonowania wysokoprzepustowego, odchodzi się jednak od weryfikacji w niektórych przypadkach.”

Źródło: Paweł Sztromwasser, *Od odczytów do wariantów, czyli jak wygląda poszukiwanie zmian w DNA*, artykuł dostępny na stronie: www.genetyka.bio

Dla nauczyciela

Autor: Anna Juwan

Przedmiot: Biologia

Temat: Krewny daleki czy bliski?

Grupa docelowa: uczniowie III etapu edukacyjnego – kształcenie w zakresie rozszerzonym

Podstawa programowa:

Zakres rozszerzony

Treści nauczania – wymagania szczegółowe

XV. Biotechnologia. Podstawy inżynierii genetycznej. Uczeń:

9) przedstawia zastosowania biotechnologii molekularnej w badaniach ewolucyjnych i systematyce organizmów;

Kształtowane kompetencje kluczowe:

- kompetencje cyfrowe;
- kompetencje osobiste, społeczne i w zakresie umiejętności uczenia się;
- kompetencje matematyczne oraz kompetencje w zakresie nauk przyrodniczych, technologii i inżynierii.

Cele operacyjne (językiem ucznia):

- Wykażesz przewagę metod z zakresu biochemii i genetyki w ustalaniu pokrewieństwa między organizmami nad pozostałymi metodami.
- Wymienisz metody stosowane podczas ustalania pokrewieństwa między organizmami.
- Opisziesz sposoby analizy pokrewieństwa między gatunkami.

Strategie nauczania:

- konstruktywizm;
- konektywizm.

Metody i techniki nauczania:

- z użyciem komputera;
- ćwiczenia interaktywne;
- gra dydaktyczna;
- mapa myśli;
- analiza tekstu źródłowego.

Formy pracy:

- praca indywidualna;
- praca w parach;
- praca w grupach;
- praca całego zespołu klasowego.

Środki dydaktyczne:

- komputery z głośnikami, słuchawkami i dostępem do internetu;
- zasoby multimedialne zawarte w e-materiale;
- tablica interaktywna/tablica, pisak/kreda;
- arkusze papieru, flamastry.

Przed lekcją:

1. Uczniowie zapoznają się z treścią w sekcji „Przeczytaj”.

Przebieg lekcji

Faza wstępna:

1. Nauczyciel wyświetla i odczytuje temat lekcji oraz zawarte w sekcji „Wprowadzenie” cele zajęć. Prosi uczniów lub wybraną osobę o sformułowanie kryteriów sukcesu.
2. **Wprowadzenie do tematu.** Nauczyciel zadaje pytania:
 - W jaki sposób różnice pomiędzy genami lub białkami różnych organizmów pozwalają określić ich wzajemne pokrewieństwo?
 - Jakie metody stosuje się podczas ustalania pokrewieństwa między organizmami?
 - Jakie są możliwe sposoby analizy pokrewieństwa między gatunkami i czym się one charakteryzują?Uzupełnia wypowiedzi uczniów, koryguje ewentualne błędy.

Faza realizacyjna:

1. **Mapa myśli.** Uczniowie, pracując w parach, tworzą mapy myśli związane z tematem lekcji na podstawie treści z sekcji „Przeczytaj”.
2. **Praca z multimedium („Gra edukacyjna”).** Uczniowie dzielą się na zespoły i rozwiązują pytania quizowe. Nauczyciel wraz z uczniami określa zasady rywalizacji i punktowania dobrych odpowiedzi (np. gra na czas lub na liczbę poprawnych odpowiedzi). Przeprowadzenie gry w klasie. Nauczyciel lub wybrany uczeń dba o prawidłowy przebieg quizu zgodnie z wcześniejszymi ustaleniami. Nauczyciel ogłasza zwycięską drużynę.
3. **Utrwalenie wiedzy i umiejętności.** Uczniowie samodzielnie wykonują ćwiczenie nr 6 (w którym mają za zadanie przyporządkować podane cechy do rodzaju metody stosowanej w celu ustalenia pochodzenia danego organizmu) z sekcji „Sprawdź się”.

Następnie w 4-osobowych grupach omawiają prawidłowe rozwiązanie. Po upływie wyznaczonego czasu wskazany przez nauczyciela przedstawiciel grupy prezentuje odpowiedź wraz z jej uzasadnieniem. Klasa ustosunkowuje się do niej. Nauczyciel udziela uczniom informacji zwrotnej.

4. Uczniowie rozwiązują w grupach 4-osobowych ćwiczenie nr 7 (w którym mają za zadanie wyjaśnić – na podstawie tekstu źródłowego oraz własnej wiedzy – dlaczego mtDNA jest jednym z genetycznych markerów, które zostały użyte do analizy filogenetycznej). Po jego wykonaniu następuje omówienie rezultatów na forum klasy.

Faza podsumowująca:

1. Uczniowie wykonują ćwiczenie nr 2 (polegające na uporządkowaniu etapów identyfikacji gatunku przy użyciu technik molekularnych) z sekcji „Sprawdź się”. Chętne osoby prezentują swoją odpowiedź.
2. Nauczyciel wyświetla temat lekcji i cele zawarte w sekcji „Wprowadzenie”, podsumowuje omawiany na lekcji materiał, wyjaśnia wątpliwości uczniów.

Praca domowa:

1. Wykonaj ćwiczenia od 3 do 5 z sekcji „Sprawdź się”.
2. Dla chętnych: Wykonaj ćwiczenie nr 8 z sekcji „Sprawdź się”.

Materiały pomocnicze:

- Jane B. Reece i in., „Biologia Campbella”, tłum. K. Stobrawa i in., Dom Wydawniczy REBIS, Poznań 2021.
- „Encyklopedia szkolna. Biologia”, red. Marta Stęplewska, Robert Mitoraj, Wydawnictwo Zielona Sowa, Kraków 2006.

Dodatkowe wskazówki metodyczne:

- Nauczyciel może wykorzystać medium zamieszczone w sekcji „Gra edukacyjna” do podsumowania lekcji.