

## **ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ – ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ**

Κάθε κεφάλαιο ξεκινά με μια ρητή δήλωση των μαθησιακών στόχων και των επιστημονικών ικανοτήτων που πρέπει να επιδιώξουν οι μαθητές. Αυτές οι κατευθυντήριες γραμμές προορίζονται να βοηθήσουν τους μαθητές να αναγνωρίσουν βασικές έννοιες και να τις χρησιμοποιήσουν σε διάφορα επίπεδα μάθησης, συμπεριλαμβανομένης της κατανόησης, της εφαρμογής, της ανάλυσης και της σύνθεσης. Χρησιμεύουν επίσης ως ισχυρά εργαλεία μελέτης κατά την ανασκόπηση του υλικού για την προετοιμασία των μαθημάτων και των εξετάσεων.

### **1. Εισαγωγή και ιστορική αναδρομή Οργανισμών Μοντέλων**

#### **ΥΛΗ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ**

- Γενικά χαρακτηριστικά και πλεονεκτήματα των οργανισμών μοντέλων: ευκολία στον πειραματικό χειρισμό, ευκολία στις γενετικές διασταυρώσεις και αναλύσεις, ομοιότητα με βιολογικές διαδικασίες του ανθρώπου.
- Κατανόηση των φυλογενετικών σχέσεων των κλασικών οργανισμών μοντέλων και την εξελικτική συγγένεια τους με τον άνθρωπο.

#### **ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ**

Οι φοιτητές εξοικειώνονται με τους κλασσικούς οργανισμούς μοντέλα, τα χαρακτηριστικά βάσει των οποίων επιλέχτηκαν, και τη σχετική συγγένεια τους με τον άνθρωπο.

### **2. Από τα γονίδια στα γονιδιώματα**

#### **ΥΛΗ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ**

- Τεχνικές αλληλούχισης DNA: Αλληλούχιση κατά Sanger και αυτοματοποίηση.
- Βάσεις γονιδιωματικών δεδομένων: οπτικοποίηση και σχολιασμός της αλληλουχίας.
- Στρατηγικές αλληλούχισης ενός γονιδιώματος: ιεραρχική τυχαία βολή, και τυχαία βολή ολόκληρου του γονιδιώματος. Σχέση γενετικών χαρτών σύνδεσης με φυσικούς χάρτες.
- Βασικές γνώσεις από την αλληλούχιση των γονιδιωμάτων του ανθρώπου και οργανισμών μοντέλων: αριθμός γονιδίων, χαμηλό ποσοστό κωδικών περιοχών και υψηλό ποσοστό επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών στο ανθρώπινο γονιδίωμα, συνταινικά αθροίσματα, πολυπλοκότητα στην αρχιτεκτονική των πρωτεϊνικών επικρατειών.
- Γενετική ποικιλομορφία: τα SNPs ως βιοδείκτες ασθενειών, μελέτες συσχέτισης μεγάλης κλίμακας (GWAS),.

#### **ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ**

Οι φοιτητές μαθαίνουν για τη διαδικασία αλληλούχισης ενός γονιδιώματος, και τη συμβολή της βιοπληροφορικής στην λειτουργική ανάλυση του γονιδιώματος. Επίσης, εξοικειώνονται με τα κύρια χαρακτηριστικά του ανθρώπινου γονιδιώματος, τα SNPs και τις μελέτες GWAS.

### 3. *Escherichia coli* (*E. coli*) ένας ευέλικτος οργανισμός μοντέλο

#### ΥΛΗ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

- Γενική επισκόπηση των Βακτηρίων: μορφολογικά χαρακτηριστικά, γενετική των προκαρυωτικών οργανισμών.
- Μεταβολική/φαινοτυπική ποικιλότητα στα βακτήρια.
- Βακτηριακή γενετική ανάλυση: τεχνικές προσδιορισμού μεταλλαγών, μεταλλαξιγόνοι παράγοντες, επίστρωση αντιγράφων, γενετική διαλογή και επιλογή, ένθεση μεταθετών στοιχείων.
- Βακτηριακά γονιδιώματα: Βακτηριακό χρωμόσωμα και πλασμίδια. Συγκριτική γονιδιωματική ανάλυση. Μεταγονιδιωματική.
- Γονιδιακή μεταφορά στα Βακτήρια, οριζόντια μεταφορά γονιδίων: μετασηματισμός, σύζευξη, μεταγωγή.
- Νησίδες παθογονικότητας.

#### ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Οι φοιτητές μαθαίνουν για τη γενετική των βακτηρίων, με έμφαση στο *E. coli*, καθώς και τις τεχνικές γενετικής διαλογής και επιλογής μεταλλάξεων, και οριζόντιας μεταφοράς DNA.

### 4. Ζυμομύκητας *Saccharomyces cerevisiae*

#### ΥΛΗ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

- Το γονιδίωμα του *S. cerevisiae*. Χρωμοσώματα, κεντρομερή, τελομερή, θέσης έναρξης της αντιγραφής.
- Πλεονεκτήματα του *S. cerevisiae* ως οργανισμό μοντέλο.
- Κύκλος ζωής: εναλλαγή διπλοειδούς και απλοειδούς μορφής, χρησιμότητα στη γενετική ανάλυση μεταλλαγών, ανάλυση τετράδων.
- Ο κυτταρικός κύκλος στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς: σημασία των σημείων ελέγχου, ταυτοποίηση θερμοευαίσθητων μεταλλαγών στον κυτταρικό κύκλο. Κλωνοποίηση γονιδίου με τη χρήση γενωμικής βιβλιοθήκης και δοκιμασία συμπληρωματικότητας.
- Κυτταρική διαφοροποίηση στον *S. cerevisiae* (συζευκτικοί τύποι).

#### ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Οι φοιτητές μαθαίνουν για τη γενετική του ζυμομήκητα, τη χρησιμότητα της εναλλαγής διπλοειδούς και απλοειδούς μορφής στον κύκλο ζωής του *S. cerevisiae* για γενετικές αναλύσεις, και την ταυτοποίηση μεταλλαγών στον κυτταρικό κύκλο.

### 5. Νηματώδης *Caenorhabditis elegans*

#### ΥΛΗ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

- Χαρακτηριστικά και πλεονεκτήματα του *C. elegans* ως οργανισμό μοντέλο.
- Το γονιδίωμα του *C. elegans*. Χρωμοσώματα, έλλειψη κεντρομερών.
- Γονιδιακή έκφραση: οπερόνια, 5' οδηγοί μάτισματος, trans μάτισμα.
- Κύκλος ζωής και καθορισμός του φύλου στο *C. elegans*. Ανατομία του ερμαφρόδιτου και του αρσενικού. Παραγωγή γαμετών, γονιμοποίηση.
- Εμβρυογένεση και ανάπτυξη. Γενεαλογία κυτταρικών τύπων από το έμβρυο στο ενήλικο άτομο. Τεχνική εκτομής κυττάρων με laser.
- Τεχνικές γενετικής ανάλυσης και τροποποίησης: δημιουργία διαγονιδιακών ζώων, χρήση του μορίου GFP ως γονίδιο αναφοράς, παρεμβολή RNA (RNAi).

- Μεταλλαξιγένεση και παραγωγή ομοζυγωτών μέσω αυτογονιμοποίησης.
- Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος / απόπτωση: ρόλος στην ανάπτυξη, ταυτοποίηση μεταλλαγών ced (cell death). Εφαρμογές στην καρκινογένεση.

#### **ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ**

Οι φοιτητές μαθαίνουν για τη γενετική του *C. elegans*, τον καθορισμό του φύλου, τη γενεαλογία των κυτταρικών τύπων από το έμβρυο στο ενήλικο άτομο, τις τεχνικές δημιουργίας διαγονιδιακών ζώων, και την ταυτοποίηση μεταλλαγών που σχετίζονται με την απόπτωση.

### **6. Η δροσόφιλα (*Drosophila melanogaster*) ως οργανισμός μοντέλο**

#### **ΥΛΗ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ**

- Χαρακτηριστικά και πλεονεκτήματα της *Drosophila Melanogaster* ως οργανισμό μοντέλο. Κύκλος ζωής.
- Δομή και Οργάνωση του γονιδιώματος της Δροσόφιλας. Τα πολυταινικά χρωμοσώματα της δροσόφιλας.
- Κλασικές τεχνικές γενετικής προσέγγισης στην Δροσόφιλα-Μεταλλάξεις και Δοκιμασία της συμπληρωματικότητας.
- Χρωμοσώματα εξισορροπητές και εφαρμογές στη γενετική ανάλυση της δροσόφιλας.
- Το φαινόμενο δυσγενεσίας υβριδίου στην δροσόφιλα.
- Τα τρανσποζόνια P-element στην μοριακή γενετική της δροσόφιλας-δομή και οργάνωση των P-element-Χρήση των P-element ως φορείς μετασχηματισμού, ως γενετικές ταμπέλες και ως παγίδευση ενισχυτών
- Παραγωγή γενετικών μωσαϊκών μέσω μιτωτικού ανασυνδυασμού με ακτίνες-X ή με την εφαρμογή του συστήματος της FLP ρεκομπινάσης.
- Εκτοπική έκφραση γονιδίων στην δροσόφιλα με φορείς παγίδευσης ενισχυτών.
- Απενεργοποίηση γονιδίων μέσω ομόλογου ανασυνδυασμού ή παρεμβολής RNA στην δροσόφιλα.
- Γενετική ανάλυση του σχηματισμού του προτύπου του σώματος της Δροσόφιλας.

#### **ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ**

Οι φοιτητές μαθαίνουν για τη γενετική της *D. melanogaster*, την δομή και οργάνωση του γονιδιώματος, τον κύκλο ζωής της δροσόφιλας, τεχνικές γενετικής ανάλυσης στην δροσόφιλα όπως κατασκευή και χρήση χρωμοσωμάτων-εξισορροπητών, τις χρήσεις των μεταθετών στοιχείων P, την παραγωγή μωσαϊκών, την εκτοπική έκφραση γονιδίων και την στοχευμένη απενεργοποίηση γονιδίων.

### **7. Εργαστηριακό ποντίκι *Mus musculus*: πλεονεκτήματα και εφαρμογές,**

#### **ΥΛΗ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ**

- Χαρακτηριστικά και πλεονεκτήματα του εργαστηριακού ποντικού *Mus musculus* ως οργανισμό μοντέλο.
- Κύκλος ζωής του εργαστηριακού ποντικού
- Το γονιδίωμα του ποντικού

- Η ανάπτυξη των αρσενικών και θηλυκών γαμετικών κυττάρων και γονιμοποίηση.
- Τεχνικές γενετικής ανάλυσης και τροποποίησης: Σχεδιασμός και Δημιουργία Διαγονιδιακών ζώων - Η μέθοδος της μικροένεσης-Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα.
- Λειτουργική ανάλυση διαγονιδιακών ζώων.
- Εφαρμογές τεχνολογίας διαγονιδιακών συστημάτων.

#### **ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ**

Οι φοιτητές μαθαίνουν για τη γενετική του εργαστηριακού ποντικού *Mus musculus*, την δομή και οργάνωση του γονιδιώματος, τον κύκλο ζωής του ποντικού, την ανάπτυξη και τα στάδια διαφοροποίησης των γαμετικών κυττάρων, το στάδιο της γονιμοποίησης, τις μεθόδους δημιουργίας διαγονιδιακών ζώων και τις εφαρμογές που προκύπτουν από την τεχνολογία των διαγονιδιακών συστημάτων.

### **8. Zebrafish *Danio rerio*: πλεονεκτήματα και εφαρμογές**

#### **ΥΛΗ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ**

- Χαρακτηριστικά και πλεονεκτήματα του *D. rerio* ως οργανισμό μοντέλο.
- Εμβρυογένεση και ανάπτυξη. Γενεαλογία κυτταρικών τύπων από το έμβρυο στο ενήλικο άτομο. Εφαρμογές στη μελέτη της ανάπτυξης της καρδιακής βαλβίδας.
- Δημιουργία διαγονιδιακών ζώων. RNA, DNA, morfolino.
- Μεταλλαξιγένεση και διαλογή μεταλλαγμάτων. Κλωνοποίηση γονιδίων.
- Διαλογή φαρμάκων στο *D. rerio*. Εφαρμογές στα σηματοδοτικά μονοπάτια του ανθρώπου.
- Μελέτες αναγέννησης ιστών.
- Μοντέλα ανθρώπινων ασθενειών.

#### **ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ**

Οι φοιτητές μαθαίνουν για τη γενετική του *D. rerio*, τη γενεαλογία των κυτταρικών τύπων από το έμβρυο στο ενήλικο άτομο, τις τεχνικές δημιουργίας διαγονιδιακών ζώων που χρησιμοποιούνται και ως μοντέλα ανθρώπινων ασθενειών, την ταυτοποίηση μεταλλαγών που σχετίζονται με την ανάπτυξη της καρδιακής βαλβίδας, και τη μελέτη αναγέννησης ιστών.

### **9. Το φυτό μοντέλο *Arabidopsis thaliana*: πλεονεκτήματα και εφαρμογές**

#### **ΥΛΗ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ**

- Χαρακτηριστικά και πλεονεκτήματα της *A. thaliana* ως οργανισμό μοντέλο.
- Δομή και οργάνωση του γονιδιώματος.
- Ανατομία και κύκλος ζωής. Γονιμοποίηση, εμβρυογένεση, άνθηση, γήρανση.
- Γενετική ανάλυση της ανάπτυξης και συστημάτων ορμονικού ελέγχου.
- Γενετικά εργαλεία: Μεταλλαξιγένεση ένθεσης T-DNA. Παρεμβολή RNA (siRNA).

#### **ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ**

Οι φοιτητές μαθαίνουν για τη γενετική της *A. thaliana*, τις τεχνικές δημιουργίας διαγονιδιακών φυτών, και την ταυτοποίηση μεταλλαγών που σχετίζονται με την ανάπτυξη και τα συστήματα ορμονικού ελέγχου.

## 10. Πέρα από τους κλασσικούς οργανισμούς μοντέλα

### ΥΛΗ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

- Κάποιες σημαντικές βιολογικές διεργασίες είναι πιο εύκολο να μελετηθούν σε οργανισμούς πέραν των κλασσικών οργανισμών μοντέλων. Νέες μοριακές τεχνικές διευκολύνουν πλέον τη χρήση πολλών οργανισμών στο εργαστήριο.
- Ανακάλυψη των τελομερών στην *Tetrahymena thermophila*. Ανακάλυψη της τελομεράσης. Εφαρμογές στην γήρανση και στον καρκίνο.
- Η ιδέα της αναγέννησης στη βιολογία. Ανατομία της Πλανάρια. Αναγέννηση της ανατομίας μετά από τραυματισμό: διατήρηση της κλίμακας, της αναλογίας και της πολικότητας. Φυσιολογική αναγέννηση και εφαρμογές στη μελέτη της γήρανσης.
- Προκλήσεις και προοπτικές στην εδραίωση νέων οργανισμών μοντέλων. Χρησιμότητα των τεχνικών της αλληλούχισης, RNAi, CRISP-R. Προβλήματα στην εργαστηριακή καλλιέργεια και αναπαραγωγή.

### ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Οι φοιτητές μαθαίνουν για τη μελέτη των τελομερών και της τελομεράσης στην *Tetrahymena thermophila*, και τη μελέτη της αναγέννησης στην πλανάρια.

Βασικός στόχος της τελευταίας ενότητας είναι να προβληματιστούν οι φοιτητές σχετικά με την καταλληλότητα των κλασσικών οργανισμών μοντέλων για τη μελέτη όλων των βιολογικών διεργασιών, και να εξοικειωθούν με τις νέες τεχνικές που διευκολύνουν πλέον την εδραίωση νέων οργανισμών ως εργαστηριακά μοντέλα.

### Εργαστηριακές ασκήσεις

#### ΥΛΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ

1. Genome data viewer (NCBI).
2. Βάση δεδομένων OMIM.
3. Σχεδιασμός εκκινητών για PCR.
4. Αλληλούχιση κατά Sanger: προετοιμασία δειγμάτων και αξιολόγηση αποτελεσμάτων.
5. CRISPR / Cas9.
6. Διαχείριση βιβλιογραφικών αναφορών με το εργαλείο Mendeley.
7. Εργαστηριακή επίδειξη της *Drosophila*.
8. Κριτική ανάγνωση μιας επιστημονικής δημοσίευσης.

### ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Οι εργαστηριακές ασκήσεις στοχεύουν στην εμβάθυνση της κατανόησης των εννοιών και των εφαρμογών που παρουσιάζονται στη θεωρία.

Συγκεκριμένα οι ασκήσεις εστιάζουν στις εξής δεξιότητες:

- Χρήση του διαδικτυακού εργαλείου Genome data viewer για την ανάλυση χρωμοσωμάτων, γονιδίων και τη σύγκριση γονιδιωμάτων. Κατανόηση της δομής μιας γονιδωματικής βάσης δεδομένων. Ανάλυση του γενετικού τόπου του ανθρώπινου γονιδίου CFTR που ευθύνεται για την κυστική ίνωση. Σύγκριση του γενετικού τόπου του ανθρώπινου CFTR και των παρακείμενων γονιδίων, με τον αντίστοιχο γενετικό τόπο στο γονιδίωμα του ποντικού.
- Χρήση της βάσης δεδομένων OMIM. Περιήγηση στις καταχωρήσεις που σχετίζονται με το γονίδιο CFTR και την κυστική ίνωση, με στόχο την κατανόηση της

δομής των σελίδων της OMIM, για την ανεύρεση πληροφοριών σχετικά με φαινότυπους, αλληλόμορφα, τρόπο κληρονομικότητας, ορθόλογα γονίδια σε οργανισμούς μοντέλα, και σχετικές βιβλιογραφικές αναφορές. Εμβάθυνση των γνώσεων σχετικά με διαφορετικά είδη μεταλλαγών (έλλειψη, χωρίς νόημα, με λάθος νόημα, μετατόπιση πλαισίου, καταστροφής θέσης ματίσματος, πολυμορφισμός, ή σε ρυθμιστικές περιοχές του γονιδίου).

- Σχεδιασμός εκκινητών για PCR με τη χρήση των διαδικτυακών εργαλείων Primer3 και primerBLAST. Εξάσκηση στη χρήση του διαδικτυακού εργαλείου primer3 για τον σχεδιασμό εκκινητών. Υπολογισμός Tm. Αξιολόγηση ειδικότητας των εκκινητών για τη χρήση σε διαγνωστική αντίδραση PCR για την εύρεση μιας συγκεκριμένης έλλειψης στο γονίδιο CFTR. Εξάσκηση στη χρήση του διαδικτυακού εργαλείου primerBLAST. Αξιολόγηση της δευτεροταγούς δομής των εκκινητών μέσω του εργαλείου Oligo Evaluator της εταιρείας SIGMA-ALDRICH.
- Σχεδιασμός και προετοιμασία δειγμάτων για αλληλούχιση κατά Sanger, αξιολόγηση αποτελεσμάτων αλληλούχισης. Παρουσίαση την αρχής της μεθόδου καθαρισμού πλασμιδιακού DNA ή προϊόντων της PCR με μικρο-σφαιρίδια πυριτίου, εξάσκηση στον σχεδιασμό και την προετοιμασία δειγμάτων DNA πριν την αλληλούχιση κατά Sanger, αξιολόγηση των αποτελεσμάτων αλληλούχισης είτε σε μορφή Fasta και χρήση του διαδικτυακού εργαλείου BLAST σε βάσεις δεδομένων του NCBI είτε με χρήση του προγράμματος bioedit για την αξιολόγηση ενός φερογράμματος μιας αλληλούχισης.
- Πειραματικός σχεδιασμός γονιδιακής αδρανοποίησης με την μέθοδο CRISPR/Cas9 μέσω κατάλληλων διαδικτυακών εργαλείων. Παρουσίαση της μεθόδου γονιδιακής αδρανοποίησης με το σύστημα CRISPR/Cas9 με δράση nickase. Παρουσίαση της στρατηγικής σχεδιασμού και επιλογής των κατάλληλων ζευγαριών οδηγών RNA. Χρήση και εξάσκηση του διαδικτυακού εργαλείου CHOP-CHOP για την αξιολόγηση και επιλογή των κατάλληλων οδηγών RNA.
- Εργαστηριακή επίδειξη της Drosophila Melanogaster-Ένα μοντέλο οργανισμός στην αναπτυξιακή βιολογία. Παρουσίαση βασικών ανατομικών στοιχείων του σώματος ενός ενήλικου ατόμου δροσόφιλας, τα στάδια του κύκλου ζωής, εξάσκηση στην διάκριση των δύο φύλων και τέλος παρουσίαση των βασικών γενετικών εργαλείων στην βιολογία της δροσόφιλας όπως τα μεταθετά στοιχεία P, χρωμοσώματα εξισορροπητές και των γενετικών μωσαϊκών. Φαινοτυπική αναγνώριση διάφορων μεταλλαγμένων στελεχών δροσόφιλας με την χρήση στερεοσκοπίου πάνω στα ακόλουθα φαινοτυπικά στοιχεία: χρώμα οφθαλμών, σχήμα φτερών, χρώμα σώματος και το φύλο ενήλικων ατόμων δροσόφιλας.
- Διαχείριση βιβλιογραφικών αναφορών με το εργαλείο Mendeley. Εξοικείωση και εξάσκηση με το Mendeley για τη δημιουργία μιας βάσης δεδομένων βιβλιογραφικών αναφορών, στην εισαγωγή τους σε κείμενο στο πρόγραμμα Word, και στη δυνατότητα αλλαγής της μορφοποίησης.
- Κριτική ανάγνωση μιας επιστημονικής δημοσίευσης. Εξάσκηση στην κριτική ανάγνωση και κατανόηση μια επιστημονικής δημοσίευσης, καθοδηγούμενη από ερωτήματα σχετικά με το ερώτημα/υπόθεση που θέτει η δημοσίευση, τις τεχνικές και την παρουσίαση των πειραματικών δεδομένων (εικόνες, πίνακες, γραφήματα), και την εξαγωγή συμπερασμάτων.