**Primerdesign– et engineeringprojekt til biotek A**

*Design en primer til kortlægning af Single Nukleotid Polymorfismer (SNP’er) i genet for smagsreceptoren*

## **LÆRERVEJLEDNING**

Forløbet omhandler primerdesign med fokus på at lave en forward og en reverse primer til en bestemt smagsreceptor knyttet til evnen til at smage PTC. Forløbet er lavet, så eleverne i høj grad kan arbejde selvstændigt undervejs, og læreren næsten udelukkende fungerer som vejleder. Der er lavet stilladseringsopgaver (findes længere nede i dette dokument) til alle EDP-modellens faser, og der er krav om, at eleverne har et samarbejdsdokument, hvor alle opgaver besvares under forløbet. På den måde arbejder eleverne også med at dokumentere deres arbejdsproces.

Læreren påtager sig skulptørrollen under læreroplæg i modul 1 og også under fænotypetesten i modul 2 ellers kun som vejleder.

**Forløbsbeskrivelse**

* Fag: Bioteknologi A
* Antal lektioner: 4 moduler af 90 min.
* Kernestof, supplerende stof:
  + Kernestof:
    - Eksperimentelle metoder - Primerdesign til PCR, gelelektroforese, restriktionsenzymer
    - Genetik, nedarvning, mutationer, anvendt bioinformatik
  + Supplerende stof: Ny forskning og bioteknologiske metoder
* Apparatur og materialer til rådighed

Til selve primerdesignet bruges gratisprogrammet Ugene (<http://ugene.net/>) til at undersøge DNA-sekvenserne. Dette program har tidligere været anvendt til skriftlig eksamen og der er lavet andre cases til bioteknologiundervisningen, hvor programmet anvendes.

Undersøges indkøbte elev-designede primere i laboratoriet også, så kan man anvende forskellige typer af PCR-maskiner og DNA-gelelektroforeseapparater.

Ellers skal eleverne i forbindelse med primerdesignet egentlig bare bruge en computer.

**Lærerforberedelser**

Når først man kender Ugene, så er det relativt enkelt at gå i gang med at lave primerdesign til udvalgte DNA-sekvenser. Det er fordel at kende programmet og køre stilladseringsopgave 4 igennem inden eleverne går i gang.

Såfremt man går trinnet videre og også lader eleverne teste primerne eksperimentelt, vil der være en del forberedelse i forhold til indkøb af primere, reagenser til PCR, klargøring til den eksperimentelle undersøgelse (medmindre man inddrager eleverne i denne proces også).

**Udfordring og narrativ:**

**NARRATIV**

A) Eleverne præsenteres for disse spørgsmål i klassen:

* Er du den kræsne type?
* Kan du lide broccoli eller rosenkål?
* Er du supertaster, taster eller nontaster?
* Hvad har COVID-19 med evnen til at smage bittert at gøre?
* Er det rigtigt, at supertastere er bedre beskyttet mod COVID-19 infektion?
* Er det rigtigt, at supertastere hurtigere bliver symptomfri efter COVID-19 infektion?
* Kan man med molekylærbiologiske metoder finde frem til, om man er supertaster, taster eller non-taster - og er denne viden relevant i forhold til at håndtere COVID-smitte og behandling?
* Er der en sammenhæng mellem supertaster, taster og nontaster og genotype?

Kan du smage om noget smager bittert? Så kan du smage stoffet phenylthiocarbamide (PTC) og andre lign. bitterstoffer. Ca. 70% af befolkningen kan smage PTC. Evnen til at smage PTC afhænger af et gen for en bestemt smagsreceptor og tilstedeværelsen af den dominerende allel for genet.

B) Dernæst får de mulighed for at læse teksten fra *Vinavisen*, se figur 0, og kort kigge på tabellen i figur 1.

Et billede, der indeholder tekst, indendørs, skærmbillede

Automatisk genereret beskrivelseEt billede, der indeholder tekst

Automatisk genereret beskrivelse

*Figur 1. Supersmagere og COVID-19. Kilde:* [*https://www.vinavisen.dk/sider/Nyheder\_2021-23*](https://www.vinavisen.dk/sider/Nyheder_2021-23)

Et billede, der indeholder bord

Automatisk genereret beskrivelse

*Figur 2. Polymorfisme i TAS2R38 genet[[1]](#footnote-1)*

C) Lærer præsenterer derefter udvalgte elementer fra f.eks. en eller flere af følgende perspektiverende artikler:

* Association Between Bitter Taste Receptor Phenotype and Clinical Outcomes Among Patients With COVID-19: <https://jamanetwork.com/journals/jamanetworkopen/fullarticle/2780134>

Samt det supplerende materiale på websiden:  
eFigure 1. Schematic Diagram Showing How Classification Into the Different Taste Groups Was Conducted  
eFigure 2. Flowchart Depicting Study Design

* Supertasters' may have some innate protection against COVID-: <https://www.livescience.com/covid-supertaster-genes.html>
* Er du født kræsen eller bare umoden? <https://www.dr.dk/viden/webfeature/kraesenhed>
* Treatment Protocol for COVID-19 Based on T2R Phenotype: <https://www.mdpi.com/1999-4915/13/3/503>

**UDFORDRING**

I skal designe primere, så man kan kortlægge Single Nukleotid Polymorfismer (SNP’er) i genet for smagsreceptoren. Primerne skal anvendes til at undersøge, om der er en sammenhæng mellem genotype og fænotype i forhold til om man er supertaster, taster eller non-taster. DNA’et, der anvendes i en efterfølgende laboratorieundersøgelse, ekstraheres fra humane kindceller. Efter DNA’et er opformeret ved PCR, kan det efterfølgende undersøges ved først at skære det med et restriktionsenzym, og dernæst lave gelelektroforese af prøverne af det skårede DNA[[2]](#footnote-2).

I dette forløb stilles eleverne denne udfordring - kun med fokus på selve primerdesignet, de tester således ikke primerne selv i laboratoriet. Udfordringen uddybes med en teoretisk introduktion til smagsreceptor-genet af jeres lærer.

Design en primer til kortlægning af Single Nukleotid Polymorfismer (SNP’er)

i genet for smagsreceptoren.

Det opformerede PCR-produkt skal efterfølgende kunne skæres   
med restriktionsenzymet Fnu4HI.

Jeres forward og reverse primer skal overholde de generelle regler for primerdesign

Fragmenter, der fremkommer efter restriktionsskæringen,   
skal kunne visualiseres på en DNA-agarosegel

**Krav/benspænd:**

Benspænd:

* Det opformerede PCR-produkt skal efterfølgende kunne skæres med restriktionsenzymet Fnu4HI.
* Jeres forward og reverse primer skal overholde de generelle regler for primerdesign så godt som muligt.
* Fragmenter, der fremkommer efter restriktionsskæringen, skal kunne visualiseres på en DNA-agarosegel.

**Naturvidenskabelige undersøgelser:**

I projektet (som her udelukkende går på selve primerdesignet) kan eleverne undersøge deres primere i forhold til:

* Specificitet
* Sekvenssimilaritet
* Længde
* Størrelsen på det stykke man vil opformere
* GC-indholdet
* Antallet af G-eller C-nukleotider blandt de sidste 5 basepar i 3’-enden
* Smeltepunktstemperaturen ( - herunder temperaturintervallet og udtrykket
* Primerdimerer og selv-dimerer (hårnåle)
* Simple repetitive sekvenser

Eleverne kan altså selv vurdere deres primere, og de kan også bruge Ugene som hjælp til at lave vurderingen.

Det gav anledning til flere runder med primerdesignet, da deres første primere ikke nødvendigvis på tilfredsstillende vis levede op til reglerne. Kun en enkelt gruppe var heldige med deres første primerpar.

**Engineeringdidaktik**:

Eleverne, der har afprøvet forløbet, har været igennem 2 andre engineeringforløb og har også været vant til at arbejde casebaseret i andre undervisningsforløb. De kendte til engineering-procesmodellen inden forløbet. Ved forløbsopstarten brugte vi magneterne med de forskellige engineeringprocesser på tavlen og elevernes stilladseringsopgaver er navngivet i forhold til de forskellige processer i modellen.

Der har været en stram styring af projektet og der er udarbejdet stilladseringsopgaver til eleverne i forhold til at bruge programmet og de forskellige processer i engineeringmodellen. Der har været mulighed for, at eleverne laver flere løsninger, idet primerne, de ender med, ikke er ens. Vejen dertil at styret af stilladseringsopgaverne lavet af læreren, så prototyperne er ikke ens, men vejen dertil har ikke så mange frihedsgrader.

**Fag-faglighed**

Eleverne er på sidste år af deres gymnasieforløb, og vi har tidligere arbejdet med PCR, genetik, restriktionsenzymer, DNA-gelelektroforese - det nye for dem er her, at de selv skal designe primerne til en PCR-reaktion.

**Arbejdsformer**

* Klassedialog med visualisering af EDP-model og intro til narrativ og udfordring.
* Tavleundervisning i form af læreroplæg om udvalgte dele af teori knyttet til smagsreceptoren.
* Selvstændigt arbejde i grupper tilknyttet følgende faser i EDP-modellen - se opgaverne under stilladseringsopgaver.
* Eksperimentel undersøgelse - vi lavede fænotypetest for evne til at smage PTC, fælles dataopsamling. Vi gjorde det alle i fællesskab, efter en fælles protokol.
* Projektarbejde (hele forløbet er egentlig sat op til at være et projektarbejde, med mere eller mindre lærerstyrede elementer undervejs).

### **Lektionsplan for engineering-forløbet Design en primer:**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Modul** | **EDP-fase** | *Se lektionsplan med flere oplysninger og beskrivelser i lærervejledningen.* |
| **1** | *Forstå udfordringen*  *Undersøge*  *Få ideer*  *Konkretisere* | * Lektie: Sørg for at Ugene virker på jeres computere. * Intro til projekt og genopfriskning af EDP-modellen *(findes på hjemmesiden).* * Intro til teori: Udfordringen uddybes med en teoretisk introduktion til smagsreceptor-genet   PPT vedlægges i elevernes onenote - den er udgivet af minipcr og kan downloades fra deres hjemmeside, ved at åbne linket https://www.minipcr.com/product/minipcr-genotype-to-phenotype-ptc-taster-lab/, gå lidt ned på siden, finde ”downloads” og dernæst vælge ”PTC Lab Classroom Slides”.   * Krav til elevernes arbejde italesættes:   + Gruppernes samarbejdsside SKAL bruges under hele projektet.   + I skal dokumentere det hele inde på gruppens side under jeres arbejde med projektet.   + I skal sørge for at følge de deadlines der er sat for modulerne - I aftaler selv i gruppe hvem der gør hvad til næste gang. * Grupperne arbejder med stilladseringsopgaver (indsat efter lektionsplanen)) knyttet til de forskellige faser i EDP-modellen. Opgaverne skal være færdige til næste modul.   + Forstå udfordringen - hvad handler det om?   + Undersøge viden - hvad har vi af viden allerede, hvad har vi brug for at vide mere om?   + Konkretiser hvordan en primer virker. |
| **2+3** | *Konstruere*  *Test*  *Forbedre* | * Fænotype test. * Grupperne arbejder med stilladseringsopgaver:   + Konstruer jeres primer.   + Test af prototype in silico.   + Fremlægge for responsgruppe og lytte til responsgruppe.   + Forbedre prototype og endnu en test af prototype in silico.   *I modul 3 indlægges vejledningstid for grupperne* |
| **4** |  | * Grupperne arbejder med deres præsentation i modul 4 og samler op på, hvad de mangler. Kan evt. være hjemmearbejde (lektier) |
| **5** | *Præsentere* | * Grupperne præsenterer deres arbejde, og efterfølgende udvælges det bedste primerpar, som kan indkøbes og afprøves ved senere lejlighed. * Krav til præsentation står i arbejdsarket "Præsentation”. |

**Stilladseringsopgaver til de forskellige faser i EDP-modellen**

**UNDERSØG JERES VIDEN OM PRIMERDESIGN OG FÅ IDEER**

**Opgave 1**

Hvad ved vi om primerdesign?

Lav en brainstorm på hvad I allerede ved og hvad I har brug for yderligere at vide noget om.

Dokumenter jeres arbejde!

Brug **Bioteknologi A bind 3 s. 20-21** til at forstå, hvordan man kan designe en primer.

Hvis I har brug for at friske jeres viden op om PCR, så brug **Bioteknologi A bind 1 s. 100-102.**

Opskriv her grundreglerne for primerdesign inden I går i gang, så I er klædt på til opgaven.

Hvad gælder omkring:

* Specificitet?
* Sekvenssimilaritet?
* Længde?
* Størrelsen på det stykke man vil opformere?
* GC-indholdet?
* Antallet af G- eller C-nukleotider blandt de sidste 5 basepar i 3’-enden?
* Smeltepunktstemperaturen (? - herunder temperaturintervallet og udtrykket
* Primerdimerer og selv-dimerer (hårnåle)?
* Simple repetitive sekvenser?

**Opgave 2**

Hvilke ideer har I til designet af primerne på nuværende tidspunkt?

**KONKRETISER HVORDAN EN PRIMER VIRKER**

**Opgave 3**

Lav en tegning, som i overordnede træk viser, hvordan en primer virker og angiv også hvilke forskellige reagenser der indgår i en PCR-reaktion. Dokumenter jeres arbejde!

*Hjælp til at komme i gang med primerdesign*

Det er ikke helt enkelt at finde gode primere. Nedenfor er vist et eksempel, som I kan kigge på, inden I går videre med processen med at designe jeres egne primere. I eksemplet er, for nemheds skyld, blot vist primersekvenser på 5 baser, og de generelle regler for primere kan derved heller ikke imødekommes i eksemplet - det er blot medtaget for illustrationens skyld og for at hjælpe jer i gang.

Husk: Hvis en DNA-polymerase skal syntetisere en ny DNA-polymer, så gøres dette i retningen. Når PCR-reaktionen er i gang med trin 1, så er DNA-strengen denatureret pga. den høje temperatur i det første PCR-trin (denaturering). I næste PCR-trin påsættes primerne ved lavere temperaturer (annealing).

Lad os sige, at DNA-strengen har følgende baserækkefølge fra 5’-enden mod 3’-enden:

5’ATTCGATATA………………………………GTCGTAATTT-3’

Det dobbeltstrengede DNA vil derfor se således ud:

|  |
| --- |
| 5’ATTCGATATA………………………………GTCGTAATTT-3’ |
| 3’TAAGCTATAT………………………………CAGCATTAAA-5’ |

Forward primer, markeret med lyserød nedenfor, vil kunne binde til DNA-sekvensen som vist og der kan syntetiseres en ny DNA-polymer ud fra denne primer:

5’ATTCG

3’TAAGCTATAT………………………………CAGCATTAAA-5’

Reverse primeren skal bruges i den anden ende. Man skal huske, at DNA-polymerasen syntetiserer strengen i . Så hvis man gerne vil have en primer til at binde sig til den anden ende, så skal det altså være komplementært til sekvensen og læses fra 5’-enden. Derfor skal reverse primeren have sekvensen 5’AAATT:

5’ATTCGATATA………………………………………GTCGTAATTT-3’

TTAAA-5’

Nedenfor er vist hvordan forward og reverse primer binder sig til DNA’et, der i første trin denatureres og derved giver mulighed for at primerne binder sig under næste trin – annealing:

|  |
| --- |
| 5’ATTCGATATA………………………………...……GTCGTAATTT-3’ |
| TTAAA-5’ |
|  |
| 5’ATTCG |
| 3’TAAGCTATAT…………………………..…………CAGCATTAAA-5’ |

**KONSTRUER JERES PRIMER**

**Opgave 4: Undersøg sekvenserne for PTC-genet og konstruér primere**

Brug programmet Ugene (<http://ugene.net/>) til at undersøge sekvenserne for smagsreceptor-genet i jeres primerdesign projekt. Det er et gratis program, så du skal bare downloade programmet til din egen computer.

Husk at dokumentere jeres arbejder undervejs - med andre ord:

* + Skriv ned hvad I gør i jeres fælles logbog.
  + Gem filerne fra Ugene undervejs.
  + Læg skærmbilleder ind i logbogen.

Vi bruger disse sekvenser i projektet - sekvenserne ligger også i jeres onenote:

* Sekvens 1: PTC taster allelen
* GenBank: AY258597.1
* Sekvens 2: PTC non-taster allelen
* GenBank: AY258598.1

I skal identificere forskelle i de to ovenstående sekvenser for PTC-genet, for at finde frem til hvilke områder af DNA’et der er hensigtsmæssigt at opformere ved PCR, hvis vi senere skal lave Restriction Fragment Length Polymorfism (RFLP)[[3]](#footnote-3). RFLP identificerer forskelle i genomet, og i denne case kigger vi efter Single Nucleotid Polymorfismer (SNP’er) i smagsreceptor-genet, som er afgørende for, hvordan vi smager bitterstoffer.

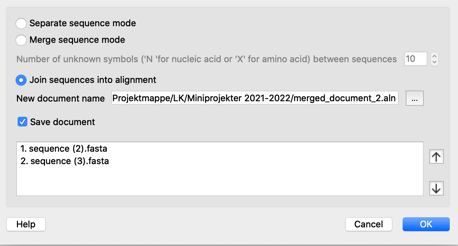
***Trin 1: Identificer SNP’er***

Åbn de to udleverede DNA-sekvenser samtidig ved at gå under ”Open file (s)” på startsiden i Ugene.



Marker begge sekvenser samtidig og tryk åben.

Vælg ”Join sequences into alignment” og tryk OK.



Du kan, ved at køre hen over dit alignment*,* finde områder, som er forskellige - det markeres med at hul i de grå søjler som vises øverst i skærmvinduet, og du kan nu se hvilke forskelle der er i basesekvensen.

Hvor mange forskelle kan du finde? Disse forskelle er såkaldte SNP’er. Tjek med figur 1 på s. 3 i dette dokument.

Et billede, der indeholder bord

Automatisk genereret beskrivelse

***Trin 2: Find restriktionsskæringssteder for enzymet Fnu4HI***

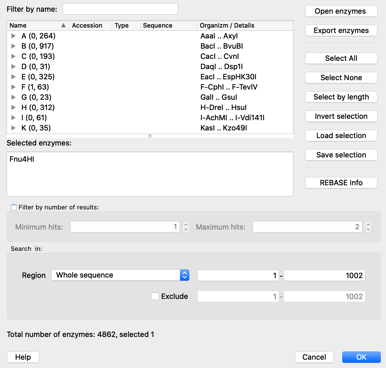
Åbn nu sekvenserne enkeltvist. Det gøres ved at gå ind under ”Start page” og trykke på ”Open files” igen, og så bare åbne filerne en ad gangen.

Under menuen ”Actions” skal du vælge ”Analyze” og dernæst vælge ”Find restriction sites”.

Et billede, der indeholder tekst

Automatisk genereret beskrivelse

Du kan nu vælge imellem mange forskellige restriktionsenzymer. Det enzym, vi bruger i øvelsen her, er **Fnu4HI.** Du finder det under bogstavet F ved at klikke på den grå pil - så står alle restriktionsenzymer med F i alfabetisk rækkefølge. Du skal vælge ”whole sequence” under region. Så trykker du **ok**, og du kan nu i din sekvens se, hvor Fnu4HI klipper sekvensen.



Find frem til, ved at sammenligne de to PTC-sekvenser med hinanden, om der er en forskel på antallet af restriktionssteder, når Fnu4HI anvendes som restriktionsenzym.

**Opgave 5**

Hvorfor kan man, hvis der er forskel, adskille taster-allelen fra non-taster allelen i en efterfølgende Restriction Fragment Length Polymorfism analyse?

***Trin 3: Primerdesign***

Brug sekvenserne for taster og non-taster allelen til at finde en forward og en reverse primer, der overholder de generelle regler for primerdesign så godt som muligt. Husk også på, at de fragmenter der fremkommer efter restriktionsskæringen, skal have en vis længde for at kunne analyseres ved gelelektroforesen.

* Sekvens 1: PTC taster allelen
* GenBank: AY258597.1
* Sekvens 2: PTC non-taster allelen
* GenBank: AY258598.1

Yderst til højre i skærmbilledet ses følgende værktøj - du kan klikke på DNA-symbolet og så åbnes et vindue, som du skal bruge, når du vælger din primer.

|  |  |
| --- | --- |
|  | Et billede, der indeholder tekst, skærmbillede, indendørs  Automatisk genereret beskrivelse |

Prøv dig lidt frem - du kan markere i selve sekvensen, ligesom når du skriver i et worddokument.

Gå nu i gang med at lave dine egne primere.

**TEST AF PROTOTYPE - JERES FØRSTE PRIMER**

***Trin 1: Test af jeres primere in silico***

Forhold jer til om primerne har særlig risiko for at lave primer-dimerer eller selv-dimerer ved at bruge værktøjet ”Show primer details” og se på, om der dannes den ene eller anden type dimer.

Kig ligeledes på, om primerne lever op til de generelle regler for primerdesign (så vidt muligt).

Hvis I er tilfredse med jeres primer, så kan I trykke på ”Extract products” og så får I, i et isoleret billede, den sekvens I får ud, når fragmentet er opformeret ved PCR. Her kan I også se, hvor restriktionsenzymerne vil skære. I kan derfor finde ud af, hvor store fragmenter I skal forvente at se i den efterfølgende gelelektroforese.

Et billede, der indeholder tekst

Automatisk genereret beskrivelse



**Opgave 6**

Noter på baggrund af jeres arbejde nu:

* Sekvensen af jeres primere og jeres kommentarer til primerdesign-grundreglerne.
* Illustrer, hvordan primerne annealer til DNA-sekvensen.
* Identificér og illustrér, hvor Fnu4HI skærer, og begrund på den baggrund, hvilke fragmentstørrelser I forventer at se som en effekt af SNP’erne i PTC-genets to alleler. Inddrag her også begreberne homozygot og heterozygot.
* Fremlæg arbejdet for jeres responsgruppe og overvej, om der er noget, I vil forbedre i forhold til jeres egne primere.
* Er der plads til forbedring, så gøres dette, og I er klar til næste test af prototypen ved hjælp af Ugene.
* Alle grupper præsenterer deres primere for klassen, og vi beslutter os for, hvilke primere vi ønsker at bruge til de eksperimentelle undersøgelser. Dernæst skal vi bestille primere inden evt. praktiske genotypiske undersøgelser kan udføres.
* Såfremt I også skal lave PCR, restriktionsskæring og efterfølgende gelelektroforese, går I til trin 2.
* Såfremt I ikke skal lave PCR, restriktionsskæring og efterfølgende gelelektroforese, går I til præsentationen.

***Trin 2: Test af jeres primerne i praksis i laboratoriet***

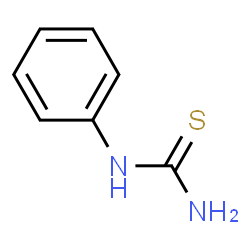
I skal nu i gang med at teste jeres primere i praksis, hvis det altså er jeres primerpar, der udvælges til at prøves af. Vi tester dem sammen med et andet primerpar, som er afprøvet på forhånd.

I skal undersøge jeres egen PTC-profil i forhold til genotype og fænotype.

Den genotypiske undersøgelse udføres som PCR af jeres eget DNA, restriktionsskæring med Fnu4HI efterfulgt af DNA-gelelektroforese.

Der er følgende steps i den praktiske proces:

* Klargøring af kindcelle DNA.
* Opsætning af PCR.
* Restriktionsskæring af PCR-produkt med Fnu4HI.
* Gelelektroforese - herunder både støbning og kørsel af geler.
* Den fænotypiske undersøgelse udføres som en sensorisk test, hvor du undersøger, om du kan smage phenylthiocarbamide. Se strukturen her:



Kilde: [http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.589165.html?rid=ab9467f2-21fe-40b1-bd62-6e567014d10d](https://eur01.safelinks.protection.outlook.com/?url=http%3A%2F%2Fwww.chemspider.com%2FChemical-Structure.589165.html%3Frid%3Dab9467f2-21fe-40b1-bd62-6e567014d10d&data=05%7C01%7C%7C4e272e9787f2425cbaf608da58f5421d%7C140275f52c6b45899efcebd77efa60aa%7C0%7C0%7C637920107746248838%7CUnknown%7CTWFpbGZsb3d8eyJWIjoiMC4wLjAwMDAiLCJQIjoiV2luMzIiLCJBTiI6Ik1haWwiLCJXVCI6Mn0%3D%7C3000%7C%7C%7C&sdata=MgzZP9ESNAwgc03tj0kHGeBRVmFPamxecTZ8paaACEI%3D&reserved=0)

**PRÆSENTATION**

I skal i gruppen præsentere jeres prototype, dvs. jeres sekvenser for primerparret (forward og reverse primer).

Som en naturlig del af præsentationen indgår følgende punkter:

* Den teoretiske viden som ligger til grund for jeres primerdesign.
* Jeres testresultater af prototyperne. Inddrag in silico tests og evt. laboratorieundersøgelserne, hvis I også arbejder med at teste primerne af i praksis.
* Jeres evaluering af jeres prototype. Hvorfor valgte I netop den primersekvens og dermed også præcis den løsning på udfordringen?
* Jeres dokumentation for jeres arbejdsproces.
* Refleksion over følgende punkter:
  + Hvilke lærerige fejl eller tvivl mødte I undervejs?
  + Hvordan forløb researchprocessen i jeres gruppe? Var der anden viden, der ville have været godt at have haft med?
  + Var der mulighed for forskellige løsninger i projektet?
  + Hvilken vej tog I igennem EDP-processen? Hvilke dele af processen har været mest vanskelig for jer? Hvad ville I gøre igen og hvad ville I gøre anderledes?

**Refleksioner**

* **Udfordring og narrativ:**

Udfordringen fungerede godt. Dog kunne jeg godt tænke mig at gøre historien lidt bedre efter at have afprøvet projektet. Se et forslag til en revideret udgave længere nede.

* **Krav og benspænd:**

Til dette projekt, og den case der er omkring PTC-genet, fungerede benspændene fornuftigt. De betød at eleverne gjorde sig fine overvejelser omkring krav til en primer og også krav til visualisering af DNA i en gel, samt at de blev tvunget til at forholde sig til, hvordan man vurderer, om et restriktionsenzym fungerer.

* **Anvendelse af engineeringdidaktikken i forløbet:**

Engineeringdidaktikken vil vi lade fungere som en bagvedliggende procesplan, som ikke italesættes for eleverne, men bare er noget, man som lærer er opmærksom på. Vi oplevede, at stilladseringsarkene til eleverne fungerede og gav dem krykker at gå med - uden at lede dem frem til en ”korrekt” løsning.

* **Hvordan arbejdede eleverne, hvad oplevede I mht. elevernes samarbejde, gruppedynamik, vedholdenhed, selvstændighed, videnindsamling, planlægning, systematik…?**

Eleverne var engagerede i projektet. Jeg oplevede, at udfordringen matchede deres evner godt. Det virkede som om de forstod udfordringen. En enkelt gruppe prøvede også, ud fra vores fænotypetest af evnen til at smage PTC, at koble det til undersøgelsen i en af de videnskabelige artikler.

I forhold til at indsamle viden så brugte eleverne de ressourcer, der nævnes som mulige at bruge i oplægget, og flere grupper både læste og så videoer tilknyttet til projektet. Der var altså mulighed for at indsamle viden (genopfriske viden) ud fra ressourcerne tilknyttet projektet.

Eleverne planlagde selv deres arbejde ud fra de forholdsvis stramme rammer, der var sat for projektet - der var indsat deadlines af lærer i tidsplanen for projektet, så de havde en idé om, hvilke faser i EDP-modellen og dermed også hvilke arbejdsark de skulle gøre færdige fra gang til gang. De aftalte selv i gruppen, hvem der gjorde hvad til næste gang.

Den systematik de anvendte i forhold til prototypetesten var at vurdere deres primere ud fra givne regler for primerdesign, som de selv skulle læse om og sætte sig ind i. De lavede forslag, tjekkede ved beregninger, rettede til - og nogen grupper gjorde dette flere gange.

Grupperne de arbejdede i var sammensat ud fra et solidt kendskab til eleverne. Tre hovedovervejelser for gruppedannelsen var:

* + Forskelligt fagligt niveau.
* Hvem de ville fungere godt med socialt.
* Tryghed, især for de svageste elever, så de følte at de kunne bidrage til projektet.

Eleverne arbejdede godt sammen og brugte deres samarbejdsdokument ganske fint. Jeg kunne følge med på sidelinjen, dog uden at komme med rettelser som sådan undervejs. Der var bidrag fra forskellige elever i grupperne til logbogen, og jeg talte med dem undervejs også. Alt i alt så fungerede det rigtigt godt i grupperne, men det er også elever, der altid fungerer godt sammen og er meget omsorgsfulde overfor hinanden.

I løbet af nogen af modulerne var der lagt faste vejledningstidspunkter ind til grupperne og det brugte grupperne. Vejledning var frivilligt. Det var muligt med den klasse forløbet er afprøvet i, men det er formodentlig ikke sådan i alle klasser, så her kan man som vejleder jo insistere på tvungen vejledning.

* **Gode råd og tips til andre lærere, der vil afprøve forløbet**

Forløbet med primerdesign kan tænkes ind i mange sammenhænge. Her designes primere så PTC-genet kan opformeres, men det kunne lige så godt være primere rettet imod forskellige vandlevende dyr (som så evt. kan være et projekt, hvor eleverne i biotek designer primere, og bio-elever laver vandprøver, som så kan testes for udvalgte organismers tilstedeværelse).

Primerne i sig selv er ikke så dyre, men skal man efterfølgende lave RFLP, så er indkøb til materialer noget dyrere. Screening for tilstedeværelse af DNA i prøver er ikke lige så dyrt, da RFLP-delen kan udelukkes og man kun kører DNA-gelelektroforese for at konstatere om noget givent DNA er til stede eller ej.

Lad evt. eleverne selv vælge, hvad de vil designe primere til. Det kan give dem en større frihedsgrad og måske også et større ejerskab for projektet. Så skal narrativet være anderledes, naturligvis. Man kunne evt. en anden gang åbne casen mere op så eleverne selv stiller forslag til et restriktionsenzym, der evt. kan anvendes. Hvis man selv lader eleverne bestemme restriktionsenzym, og så vælger et af elevernes løsningsforslag til den praktiske afprøvning (her vil økonomi begrænse om alle elevers prototype kan testes i lab) og først dernæst bestiller primere og et nyt restriktionsenzym, så vil dette give dem ejerskab for en del også. Her skal man lige sikre sig, om det valgte enzym kræver en særlig buffer til selve restriktionsskæringen. Dette kan eleverne evt. inddrages i også.

Vær opmærksom på opdateringer af programmet Ugene, det kan være brugerfladen ændrer sig lidt, og så skal stilladseringsopgaverne tilpasses dertil.

Eleverne ville naturligvis gerne have prøvet deres primere af i laboratoriet også. Det vil jeg prioritere en anden gang, og derfor placere forløbet anderledes end i 3.g. Det kunne evt. indgå som et projekt i forbindelse med SRO, hvor primerdesignet leder op til en eksperimentel afprøvning i laboratoriet. Her kan man som lærer evt. sørge for at have primere og restriktionsenzym, som man ved fungerer, så hvis elevernes egne løsninger viser sig at være udfordrende, så vil eleverne alligevel have noget at efterbehandle i deres SRO.

* **Konkrete bearbejdninger og optimeringer af det afprøvede tiltag mhp. næste gang aktiviteten eller forløbet tænkes brugt:**

Narrativet version 2 og udfordring version 2. Narrativet er tilpasset lidt så det hænger bedre sammen med de perspektiverende forskningsartikler. Udfordringen er omformuleret lidt også.

**Narrativet version 2:**

**Primerdesign - et projekt for bioteknologi-ingeniører**

Det har vist sig, at hvis man er supertaster, så har man en formidabel evne til at smage bitterstoffet phenylthiocarbamide (PTC) og andre lign. bitterstoffer. Ca. 70% af befolkningen kan smage PTC i større eller mindre grad og man ved, at evnen til at smage PTC afhænger af et gen for en bestemt smagsreceptor, og tilstedeværelsen af den dominerende allel for genet.

Ny forskning viser, at der muligvis er en sammenhæng mellem evne til at smage PTC og følgende:

* Risiko for at blive smittet med Covid-19.
* Hvordan man reagerer på at være smittet med Covid-19.

Samtidig undersøges det af forskere, om man ud fra viden om genotypeprofil (Single Nucleotid Polymorfisme, SNP) og evne til smage bitterstoffet PTC kan skræddersy Covid-19 behandling, så behandlingen optimeres på baggrund af viden om SNP’en.

**Udfordring version 2:**

**Udvikling af molekylærbiologisk screeningsmetode**

I skal udvikle en molekylærbiologisk screeningsmetode, som kan benyttes til at finde frem til, om en person er supertaster, taster eller non-taster.

Jeres fokus er at designe et primerpar, så man kan kortlægge Single Nukleotid Polymorfismer (SNP’er) i TAS*2R38* genet, der koder for smagsreceptoren. Primerne skal anvendes til at undersøge:

* Genotypeprofil i forhold til *TAS2R38.*
* Om der er en sammenhæng mellem genotype og fænotype i forhold til, om man er supertaster, taster eller non-taster.

Den, af jer udviklede, molekylærbiologiske metode kan potentielt anvendes, som en hurtig og præcis screening af en gruppe mennesker, som f. eks kan bruges til at skræddersy behandling for Covid-19.

DNA’et der anvendes i en efterfølgende laboratorieundersøgelse, ekstraheres fra humane kindceller. Efter DNA’et er opformeret ved PCR, kan genotypen efterfølgende undersøges, ved først at udføre restriktionsskæring af DNA med et restriktionsenzym, og dernæst lave gelelektroforese af prøverne af det skårede DNA[[4]](#footnote-4).

Benspænd for jeres arbejde:

* Det opformerede PCR-produkt efterfølgende skal kunne skæres med restriktionsenzymet Fnu4HI.
* Jeres forward og reverse primer skal overholde de generelle regler for primerdesign så godt som muligt.
* Fragmenter, der fremkommer efter restriktionsskæringen, skal kunne visualiseres på en DNA-agarosegel.

**Kreditering**   
Line Kallerup, Virum Gymnasium, [*LK@edu.virum-gym.dk*](mailto:LK@edu.virum-gym.dk)

Neel Holm Møller, Virum Gymnasium, [*NH@edu.virum-gym.dk*](mailto:NH@edu.virum-gym.dk)

1. Reference: MiniPCR Learning Lab: PTC taster Lab from Genotype to Phenotype, studentsguide <https://www.minipcr.com/product/minipcr-genotype-to-phenotype-ptc-taster-lab/> [↑](#footnote-ref-1)
2. Dette kaldes også at undersøge Restriktion Fragment Length Polymorfism (RFLP). [↑](#footnote-ref-2)
3. Vi har her fokus på selve primerdesignet, og vil muligvis også komme til at udføre de eksperimentelle undersøgelser med RFLP i praksis. [↑](#footnote-ref-3)
4. Dette kaldes også at undersøge Restriktion Fragment Length Polymorfism (RFLP). [↑](#footnote-ref-4)