

МИНПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИИ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М. АКМУЛЛЫ»**

**Э.М.Галимова
Г.Ф.Галикеева
О.В. Гумерова**

**ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ
ПО ГЕНЕТИКЕ С ОСНОВАМИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ**

Уфа 2022

УДК
ББК
Г

Галимова, Э.М., Галикеева, Г.Ф., Гумерова, О.В. Генетика с основами молекулярной биологии: лабораторный практикум / Э.М.Галимова, Г.Ф.Галикеева, О.В. Гумерова. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2022. – 78 с.

Пособие по «Генетике с основами молекулярной биологии» предназначен для студентов направления «Биология».

Лабораторный практикум составлен в соответствии с государственным образовательным стандартом высшего образования по направлению подготовки 06.03.01 Биология, рабочей программой дисциплины и предназначена для индивидуальной работы студентов по дисциплине «Общая биология», «Генетика и селекция» и «Молекулярная биология».

Лабораторный практикум является учебным пособием по выполнению лабораторных работ по курсу «Общая биология», «Генетика и селекция», «Молекулярная биология». Разработанная в соответствии с программой курса, она содержит задания, позволяющие закрепить и структурировать теоретический и практический материал, проработанный на аудиторных занятиях.

Рецензенты:

Т.В. Викторова, д-р.мед.н., профессор (БГМУ);

Л.А. Гайсина, д-р. Биол. Н., профессор (БГПУ им.М.Акмуллы).

© Издательство БГПУ, 2022
© Авторы БГПУ, 2022

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Лабораторный практикум по генетике с основами молекулярной биологии составлен на основе требований ФГОС по направлению подготовки 06.03.01 «Биология» и направлена на формирование:

знаний

- общих черт строения и функционирования живых существ; способов размножения организмов, их формах и биологическом значении;
- принципов клеточной организации биологических объектов, биофизических и биохимических основ мембранных процессов и молекулярных механизмов жизнедеятельности;
- законов наследования;
- цитологических законов наследования;
- особенностей наследования признаков, сцепленных с полом;
- фундаментальных принципов регуляции основных молекулярно-генетических процессов: репликации, транскрипции и трансляции;
- о специфичности структуры основных макромолекул (нуклеиновых кислот и белков), их функционирования и взаимосвязи, взаимодействий с клеточными компонентами;
- структуры геномов про- и эукариот, вирусов, фагов;
- о тонкой структуре гена и методах ее изучения;
- принципов и стратегий генетической инженерии, возможностей ее использования в молекулярной биологии;
- механизмов и последствий влияния наследственных факторов, а также влияния алкоголя, наркотиков, никотина и загрязнителей окружающей среды на процесс развития человека и продолжительность его жизни.

умений и навыков

- проведения скрещивания и анализа потомства;
- проведения генетического анализа наследования признаков;
- определения частот аллелей и генотипов в популяции;
- определения основного числа полиплоидного ряда;
- решения ситуационных генетических задач;
- применения знаний принципов клеточной организации биологических объектов, биофизических и биохимических основ, мембранных процессов и молекулярных механизмов жизнедеятельности;
- презентовать полученные результаты: в лабораторных тетрадах, мультимедийно и в виде докладов;
- применения знаний принципов структурной и функциональной организации биологических объектов;

- использования основных физиологических методов анализа и оценки состояния живых систем практическими навыками анализа родословных;
- планирования и постановки скрещиваний и методами анализа результатов скрещивания живых существ;
- работы с микроскопом и микропрепаратами;
- приготовления временных препаратов для световой микроскопии;
- методологии генетического анализа и проведения генетических исследований с любым объектом;
- использования экспериментальных моделей на молекулярном, клеточном и субклеточном уровне;
- лабораторной работы с молекулярно-биологическими объектами;
- анализа и демонстрации полученных данных.

Лабораторный практикум предназначен для студентов направления 06.03.01 «Биология» всех профилей подготовки и преследует цель помочь студентам систематизировать учебный материал, выработать четкость и ясность изложения. Практикум содержит в себе задания, выполнение которых способствует систематическому и более глубокому усвоению материала.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ	6
Лабораторная работа № 1. Митоз в клетках корешка лука	6
Лабораторная работа №2. Приготовление временных препаратов политенных хромосом из слюнных желез комара-звонца <i>Chironomidae</i>	9
Лабораторная работа №3. Изучение мейоза в пыльниках цветковых растений	11
II. ДНК КАК НОСИТЕЛЬ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ	13
Лабораторная работа №4. Моделирование структуры ДНК	14
Лабораторная работа №5. Ознакомление с основными приборами и оборудованием	15
Лабораторная работа №6. Выделение ДНК из биологического материала	20
Лабораторная работа №7. Определение концентрации и качества препаратов нуклеиновых кислот	23
Лабораторная работа №8. Постановка полимеразной цепной реакции	24
Лабораторная работа №9. Анализ ДНК методом электрофореза в агарозном геле	26
Лабораторная работа № 10. Матричные процессы в клетке	28
III. МЕНДЕЛЕВСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ	31
Лабораторная работа №11. Моногибридное скрещивание узамбарской фиалки	33
Лабораторная работа №12. Статистический характер расщепления. Метод χ^2	35
Лабораторная работа №13. Дрозофила как объект генетических исследований. Моногибридное скрещивание у <i>Drosophila melanogaster</i>	39
IV. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НЕАЛЛЕЛЬНЫХ ГЕНОВ	43
Лабораторная работа №14. Физиолого-генетические аспекты проявления антоциановых окрасок у растений	47
V. ЗАКОНОМЕРНОСТИ СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ	49
Лабораторная работа №15. Изучение механизма кроссинговера	49
VI. СЦЕПЛЕННОЕ С ПОЛОМ НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКОВ	51
Лабораторная работа №16. Наследование мутации «белые глаза» у <i>Drosophila melanogaster</i>	52
Лабораторная работа №17. Определение полового X-хроматина	55
VII. ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ЕЁ ТИПЫ	57
Лабораторная работа №18. Анализ генных мутаций по типу множественного аллелизма	58
Лабораторная работа №19. Модификационная изменчивость	62
Лабораторная работа №20. Генетическая детерминация признаков человека	67
Техника безопасности при работе в лаборатории	76
Меры первой помощи при несчастных случаях в лаборатории	77

РАЗДЕЛ I. ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

Клеточное деление относится к числу важнейших биологических процессов, так как с ним связана передача наследственной информации. Преемственность организмов в ряду поколений обеспечивается за счет явления **наследственности** как способности организмов воспроизводить себе подобных и осуществляется в процессе их размножения.

В природе известны два способа размножения: бесполое, когда две новых клетки образуются из одной исходной соматической клетки, и половое, при котором две половые клетки соединяются и дают начало новому организму. Кроме того, известно также вегетативное размножение, принципиально не отличающееся от бесполого, поскольку в его основе также лежит деление соматических клеток. В этом случае новый организм развивается из группы специализированных клеток (усы, клубни, луковицы, корневища и т.д.).

При всех способах размножения связующим звеном двух поколений является клетка.

Лабораторная работа №1

Тема: Митоз в меристематической ткани корня лука

В основе бесполого и вегетативного деления организмов лежит процесс **митоза** – непрямого деления клетки, в результате которого из одной исходной материнской клетки образуются две дочерние, полностью идентичные материнской. С генетической точки зрения митоз играет важную роль, так как при этом происходит точное распределение генетической информации между дочерними клетками, что обеспечивает наследственную преемственность организмов и сохранение постоянства вида.

Митоз включает в себя четыре этапа – фазы митоза, которые универсальны для всех меристематических клеток: профаза, метафаза, анафаза и телофаза. Эти фазы митоза совместно с интерфазой (период от одного деления до другого) составляют **митотический цикл**.

Самая продолжительная часть митотического цикла – интерфаза, поскольку в это время клетка проходит сложную и длительную биохимическую подготовку к делению. В интерфазе различают три периода: **предсинтетический G_1** (ростовые процессы, интенсивное накопление различных веществ и энергии), **синтетический S** (синтез ДНК, количество ДНК в клетке удваивается), **постсинтетический G_2** (продолжение синтеза РНК и других веществ, накопление энергии для последующего митоза).

Затем клетка приступает непосредственно к митотическому делению. В **профазе** ядро увеличивается и становятся отчетливо видны хромосомные

нити. Каждая хромосома после дупликации ДНК в интерфазе состоит из двух сестринских хроматид, соединенных общим участком – центромерой. В клетке формируется специальный аппарат деления – ахроматиновое веретено. Исчезает оболочка ядра и ядрышка, кариоплазма и цитоплазма смешиваются. Начинается **метакинез** – движение хромосом в экваториальную плоскость за счет нитей веретена деления, прикрепленных к центромерным участкам. Клетка вступает в стадию **метафазы**. На этой стадии хромосомы имеют самую малую длину и максимальную толщину и лежат в одной плоскости, образуя **экваториальную** или **метафазную пластинку**. Каждая хромосома, будучи перпендикулярно прикрепленной к ахроматиновому веретену, состоит из двух сильно спирализованных и параллельно расположенных хроматид. Следующая фаза митоза – **анафаза** – начинается с разделения центромерного участка, благодаря чему хромосома делится на две хроматиды. Сестринские хроматиды расходятся к противоположным полюсам клетки. В конце анафазы у каждого полюса бывает столько хромосом, сколько их было в клетке в профазе. В **телофазе** происходят те же процессы, что и в профазе, но в обратном порядке. Хромосомы на каждом полюсе испытывают деспирализацию, ахроматиновое веретено разрушается, восстанавливается ядерная оболочка и появляются ядрышки, происходит **цитокенез** (разделение цитоплазмы на две равные части).

После завершения митотического цикла клетки переходят в следующий цикл или в состояние покоя. Если новый митотический цикл начинается сразу после окончания предыдущего, то он совпадает с жизненным (клеточным) циклом.

Теоретические вопросы

1. Клеточный цикл.
2. Фазы митотического цикла.
3. Фазы митоза и их характеристика.
4. Биологическое значение митоза.
5. Генетическое значение митоза.
6. Митоз как способ образования гамет.

Цель работы: на самостоятельно приготовленном препарате корешка лука убедиться в наличии фаз митотического деления. Изучить поведение хромосом на всех фазах клеточного цикла

Задачи:

1. Освоить технику приготовления микропрепаратов для изучения митоза у растительных объектов.
2. Рассмотреть спирализацию и деспирализацию хромосом в клеточном цикле.

3. Определить митотическую активность растительной ткани и продолжительность отдельных фаз митотического цикла.

Оборудование: микроскопы, препаровальные иглы, скальпель, спиртовка, предметные и покровные стекла, фильтровальная бумага, спички, таблица «Митоз», репчатый лук.

Реактивы: ледяная уксусная кислота, 70% спирт, раствор соляной кислоты, краситель (ацетолакармин, ацетоорсеин, реактив Фельгена, метиленовый синий), уксусно-спиртовый фиксатор.

Ход работы:

1. Проращивание корешков лука.
 2. **Фиксирование корешков лука** (необходимо провести накануне лабораторной работы). Отрежьте скальпелем самые кончики корешков лука длиной 0,5-0,7 см. Поместите отрезанные корешки в фиксатор (ледяная уксусная кислота и спирт в соотношении 1:3). Поставьте их в темное место на 24 часа.
 3. **Окрашивание корешков лука.** Красителем клеток корешков лука могут служить ацетокармин, ацетоорсеин или метиленовый синий. Для приготовления ацетоорсеина в 45 мл ледяной уксусной кислоты, доведенной до кипения, добавляют 1г орсеина. Раствор необходимо охладить и добавить к нему 55 мл дистиллированной воды. Затем положите один корешок на предметное стекло и нанесите на него 2-3 капли красителя. Слегка подогрейте препарат с красителем над спиртовкой. Повторите 2-3 раза. Для этого капните 2-3 капли с одной стороны и оттяните воду с красителем фильтровальной бумагой с другой стороны препарата.
 4. **Приготовление микропрепарата.** Кончик корешка лука окрашен темнее, чем вся остальная часть. Отрежьте скальпелем этот кончик и положите на предметное стекло. Осторожно накройте покровным стеклом. Тупым концом препаровальной иглы сделайте с небольшим нажимом круговые движения по покровному стеклу над кончиком корешка. Препарат, приготовленный таким образом, называется давленным.
 5. **Изучение фаз митоза.** Установите препарат под микроскопом. Найдите делящиеся клетки на разных стадиях митоза. Крупно зарисуйте контуры клеток и затем расположите в них наблюдаемые структуры.
- Интерфаза.** Ядро в клетке округлое, с четкими границами. В нем видно одно или два ядрышка. Хроматин в виде глыбок заполняет кариоплазму.
- Профаза.** Ядро заметно увеличивается, в нем исчезают ядрышки. В кариоплазме наблюдается как бы клубок, составленный из тонких нитей – хромосом. В конце профазы оболочка разрушается и хромосомы выходят в цитоплазму.
- Метафаза.** Хромосомы заметно укорачиваются и утолщаются, приобретая вид сильно изогнутых палочковидных структур. Постарайтесь найти клетку, в которой хромосомы располагаются в экваториальной плоскости, образуя звезду.

Анафаза. Сестринские хромосомы перемещаются к полюсам, поэтому в клетке можно увидеть фигуры, напоминающие две звезды. Обратите внимание, что хромосомы имеют вид шпильки. Центромеры направлены к полюсам, а плечи расходятся под углом друг к другу.

Телофаза. У противоположных полюсов клетки видны рыхлые клубки из частично деспирализованных хромосом. В центре клетки начинает формироваться перегородка, которая постепенно делит материнскую клетку на две дочерних.

6. Зарисуйте клетки на различных стадиях митоза и в интерфаза. На рисунке должны быть обозначены: ядро, цитоплазма, хроматин (интерфаза); хромосомы (профаза); материнская звезда (метафаза); дочерние звезды (анафаза); ядра дочерних клеток (телофаза).

7. **Определение частоты митотического индекса.** Определите общее число клеток, находящееся в поле зрения. Определите среди этих клеток число клеток, находящихся на любой стадии митоза (профаза, метафаза, анафаза, телофаза). Рассчитайте частоту митотического индекса по формуле:

$$M = [m/N] \times 100\%,$$

где M – частота митотического индекса; m – число клеток, делящихся митозом; N – общее число клеток.

8. Таким же образом определить профазный и метафазный индексы.

9. Сформулируйте и запишите общие выводы по лабораторной работе.

Литература:

1. Мандель, Б. Р. Основы современной генетики: учебное пособие для учащихся высших учебных заведений (бакалавриат) / Б. Р. Мандель. – Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2016. – 334 с.
2. Ченцов, Ю. С. Введение в клеточную биологию: [учеб. для студентов ун-тов] / Ю. С. Ченцов. - Изд. 4-е; перераб. и доп., стер. - Москва: Альянс, 2015.

Лабораторная работа №2

Тема: Приготовление временных препаратов политенных хромосом из слюнных желез комара-звонца (*Chironomidae*)

Теоретические вопросы

1. Гигантские хромосомы.
2. Механизм образования гигантских хромосом.
3. Биологическая роль политении.

Цель работы: самостоятельно приготовить препарат политенных хромосом слюнных желез комара-звонца, убедиться в наличии гигантских хромосом.

Задачи:

1. Освоить технику приготовления микропрепаратов для изучения полиении у животных объектов.
2. Рассмотреть гигантские хромосомы в слюнных железах.
3. Определить морфологию полиенных хромосом и связать с их функциональным значением для насекомых.

Оборудование и материалы: бинокляр, микроскоп, спиртовка, ванночка, предметные и покровные стекла, пинцет, лезвие, иглы препаровальные, лезвие, вата.

Реактивы: 2% ацетокармин, 96% этиловый спирт.

Ход работы:

1. Предметные стекла обезжирить смоченным в этиловом спирте ватным тампоном
2. Предметное стекло поместить под бинокляр и зафиксировать зажимами
3. На сухое обезжиренное стекло поместить личинку комара звонца
4. Под бинокляром определить положение головы и хвоста. Найти 2-й и 3-й сегменты со стороны головы
5. Придерживая голову пинцетом, сделать с помощью лезвия надрез между 2-м и 3-м сегментами и сразу же отделить переднюю часть от остального тела
6. Препаровальной иглой аккуратно извлечь слюнную железу. Слюнные железы комара-звонца представляют собой парные образования, похожие на виноградную гроздь, расположенные по обе стороны пищевода
7. Удаляем части тела с предметного стекла. На стекле оставить слюнные железы в собственной гемолимфе
8. Проверить целостность слюнной железы под микроскопом при 4-кратном увеличении. На препарате хорошо видны секреторные клетки с ядрами.
9. Провести окрашивание и фиксацию препарата:
 - 9.1. на предметное стекло с слюнной железой капнуть 5-7 капель 2% ацетокармина
 - 9.2. нагревать препарат на пламени спиртовки в течении 2-х минут, не допуская перегревания и высыхания красителя
10. Накрыть препарат сухим покровным стеклом так, чтобы не занести пузырьков воздуха. Поверх стекла положить фильтровальную бумагу и слегка надавить пальцем
11. Рассмотреть и зарисовать окрашенный препарат под микроскопом при 4-кратном увеличении объектива. На препарате хорошо видны секреторные клетки с ядрами. Зарисовать общий вид слюнной железы комара-звонца
12. Перевести микроскоп на 10-кратное увеличение объектива, рассмотреть и зарисовать ядра секреторных клеток слюнной железы
13. Перевести микроскоп на 40-кратное увеличение объектива, рассмотреть и зарисовать в ядрах ленточки полиенных хромосом с эухроматиновыми и гетерохроматиновыми районами
14. Сделать выводы по лабораторной работе

Литература:

1. Мандель, Б. Р. Основы современной генетики: учебное пособие для учащихся высших учебных заведений (бакалавриат) / Б. Р. Мандель. – Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2016. – 334 с.
2. Ченцов, Ю. С. Введение в клеточную биологию: [учеб. для студентов ун-тов] / Ю. С. Ченцов. - Изд. 4-е; перераб. и доп., стер. - Москва: Альянс, 2015.

Лабораторная работа №3

Тема: Изучение мейоза в пыльниках цветковых растений

Большинство высших растений размножается половым путем. Половое размножение связано с образованием гаплоидных клеток и с последующим слиянием мужских и женских гамет. Для образования гаплоидных клеток существует механизм, при помощи которого число хромосом уменьшается вдвое, т.е. клетка из диплоидного состояния переходит в гаплоидное. Этот механизм осуществляется во время особого деления – **мейоза**. Его определяют как специальный тип деления дифференцирующихся половых клеток или спор.

Мейоз состоит из двух последующих делений: **редукционного** (уменьшительного) и **эквационного** (уравнительного). Они неравноценны, хотя и имеют одинаковые фазы: профазу, метафазу, анафазу и телофазу. В ходе этих делений из одной диплоидной клетки образуется четыре гаплоидные клетки, а хромосомы удваиваются только один раз. В сравнении с митозом мейоз имеет ряд отличительных особенностей. Одна из них заключается в том, что 99,7% ДНК синтезируется в предмейотической интерфазе (в результате чего каждая хромосома становится дихроматидной), а остальное её количество образуется в профазе редукционного деления мейоза – профазе I. В эту же фазу мейоза происходит конъюгация (временное сближение) гомологичных хромосом, приводящая к образованию гомологичных пар хромосом – бивалентов. В анафазу I, таким образом, к полюсам клетки расходятся члены каждой пары гомологичных хромосом. На каждом полюсе оказывается по одному гомологу от пары, а в совокупности – гаплоидное число дихроматидных хромосом. Процесс расхождения каждой пары хромосом протекает независимо от других, что создает возможность различной комбинации хромосом исходной диплоидной клетки в гаметах.

В профазе первого мейотического деления происходит ещё один важный процесс – **кроссинговер** – обмен гомологичными участками несестринских хроматид гомологичных хромосом. Кроссинговер приводит к существенному изменению их генного состава, в результате чего хроматиды оказываются комбинированными, что создает возможность наследственного варьирования в потомстве.

Таким образом, благодаря мейозу клетки переходят с диплоидного уровня на гаплоидный и, кроме того, обеспечивается наследственная

вариабельность гамет за счет различных комбинаций хромосом, а также процесса кроссинговера.

Цель работы: изучить фазы и стадии мейоза во время формирования половых клеток у растений.

Задачи:

1. Очертить круг объектов, наиболее удобных для изучения мейоза.
2. Научиться готовить временные микропрепараты для наблюдения мейотического деления.
3. Идентифицировать с использованием таблиц (инструктивных карточек, фотографий) 2-3 фазы мейоза.
4. Сравнить редукционное и эквационное деление мейоза с митозом.

Биологический материал: зафиксированные уксусным алкоголем (время фиксации 10-12 ч) бутончики лилейника, лука, люпина, традесканции, хранившиеся в 70 % спирте.

Оборудование: микроскопы, препаровальные иглы, предметные и покровные стекла, пипетки, полоски фильтровальной бумаги, спички, пинцеты, фарфоровые чашечки для раздачи растительных объектов, чашки Петри.

Реактивы: краситель (ацетокармин).

Ход работы:

1. Возьмите бутон, с помощью препаровальной иглы и пинцеты вычлените из него пыльник длиной около 2 мм.
2. Поместите пыльник в центр предметного стекла и тщательно измельчите до порошкообразного состояния кончиком препаровальной иглы.
3. На измельченный пыльник капните 2-3 капли красителя и для предотвращения испарения красителя закрыть препарат чашкой Петри.
4. Окрашивать 8-10 минут.
5. Накрыть объект покровным стеклом. Для однослойного расположения клеток археспория следует осторожно надавить на покровное стекло концом спички.
6. Излишки красителя удалить полоской фильтровальной бумаги. Ни в коем случае нельзя вытягивать краситель из-под покровного стекла.
7. Поместить готовый микропрепарат под бинокляр микроскопа.
8. Пользуясь инструктивной карточкой стадий мейоза в пыльниках лука, найти несколько фаз деления на своих микропрепаратах. Зарисовать в тетрадах, дополнив подписями.
9. Заполнить таблицу 3 «Отличие фаз редукционного деления мейоза от фаз мейоза».

Отличие фаз редукционного деления мейоза от фаз мейоза

Фаза митоза	Событие	Фаза мейоза I	Событие
Профаза		Профаза I	
Метафаза		Метафаза I	
Анафаза		Анафаза I	
Телофаза		Телофаза I	

Литература:

1. Мандель, Б. Р. Основы современной генетики: учебное пособие для учащихся высших учебных заведений (бакалавриат) / Б. Р. Мандель. – Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2016. – 334 с.
2. Ченцов, Ю. С. Введение в клеточную биологию: [учеб. для студентов университетов] / Ю. С. Ченцов. - Изд. 4-е; перераб. и доп., стер. - Москва: Альянс, 2015.

РАЗДЕЛ II. ДНК КАК НОСИТЕЛЬ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ

Открытие нуклеиновых кислот связано с именем Фридриха Мишера, который выделил ядра из гнойных клеток, и показал, что в материале ядер содержится необычное соединение, которое он назвал "нуклеином", известное теперь как нуклеиновая кислота. Дальнейшие исследования показали, что одним из лучших источников нуклеиновой кислоты оказались вилочковая железа (тимус) и дрожжи. Продуктами гидролиза тимонуклеиновой кислоты являются азотистые основания: аденин, гуанин, тимин и цитозин, сахар D-дезоксирибоза и фосфорная кислота. Позднее тимонуклеиновую кислоту стали называть дезоксирибонуклеиновой кислотой, или ДНК.

Молекулы ДНК представляют собой биополимер, мономером которого является нуклеотид. В состав отдельного нуклеотида входит одно из четырех азотистых оснований – аденин, гуанин, тимин или цитозин, – пятиуглеродный сахар дезоксирибоза и остаток фосфорной кислоты. Два азотистых основания – аденин и гуанин – относятся к классу пуринов, а два других – тимин и цитозин – к пиримидинам.

Азотистое основание при помощи гликозидной связи присоединяется к первому углеродному атому дезоксирибозы. Соединения, включающие азотистое основание и сахар пентозу, называются нуклеозидами. Нуклеозиды, содержащие сахар дезоксирибозу, носят название дезоксиаденозин, дезоксигуанозин, дезоксицитидин и тимидин.

Остаток фосфорной кислоты эфирной связью присоединяется либо к третьему, либо к пятому углеродному атому дезоксирибозы. Нуклеозид с присоединенным остатком фосфорной кислоты будет называться нуклеотидом.

Лабораторная работа №4

Тема: Моделирование структуры ДНК

Цель работы: провести моделирование структуры ДНК с целью закрепления знаний о строении нуклеотидов, строении нуклеиновых кислот и процессе образования водородной связи.

Задачи:

1. Опираясь на схему 1 и 2 с помощью пластилина смоделировать цепочку ДНК, состоящую из 4 нуклеотидов тщательно прописывая каждый атом, причем разные атомы необходимо отмечать разными цветами

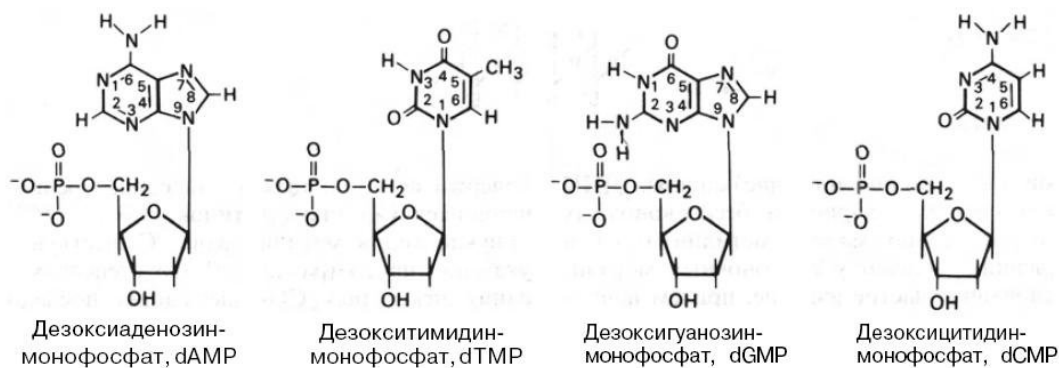


Схема 1. Строение нуклеотидов

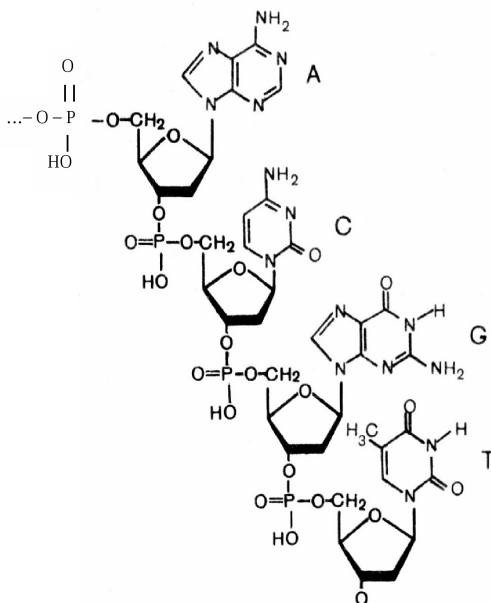


Схема 2. Строение одноцепочечной молекулы ДНК

2. Опираясь на схему 3 с помощью пластилина смоделировать комплементарную цепочку ДНК, обозначив водородные связи прерывистыми линиями.

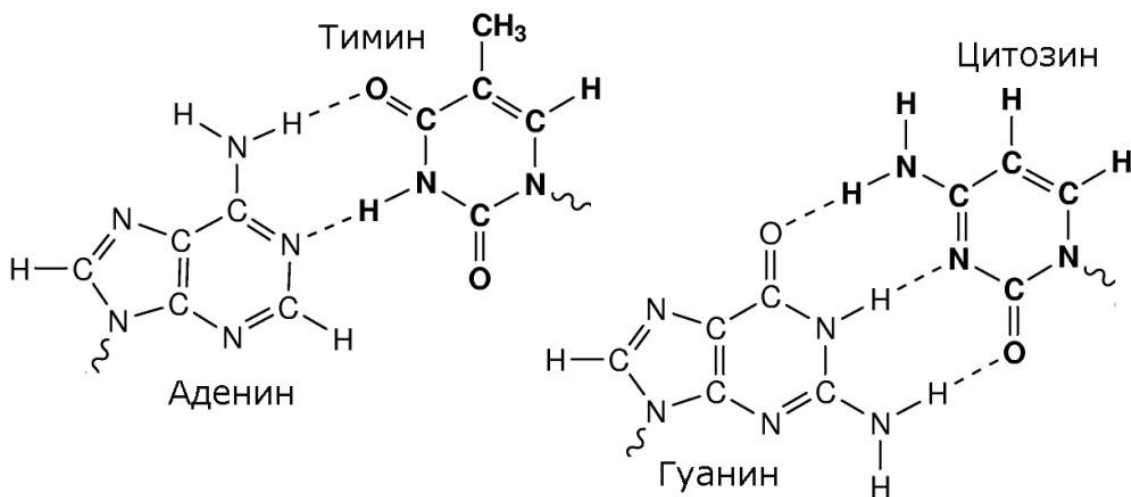


Схема 3. Образование водородной связи между азотистыми основаниями

Задание на СРС:

1) На фрагменте одной нити ДНК нуклеотиды расположены в последовательности:

А–Г–Г–Ц–Ц–Ц–А–Ц–Г–Т–Т–Т

Постройте комплементарную цепочку ДНК

2) Постройте первичную структуру фрагмента ДНК из предыдущего задания.

Литература:

1. Мандель, Б. Р. Основы современной генетики: учебное пособие для учащихся высших учебных заведений (бакалавриат) / Б. Р. Мандель. – Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2016. – 334 с.
2. Молекулярная биология: учебное пособие / О. В. Кригер, С. А. Сухих, О. О. Бабич [и др.]. — Кемерово: КемГУ, 2017. — 93 с.

Лабораторная работа № 5

Тема: Ознакомление с основными приборами и оборудованием

Цель: ознакомиться с основными приборами и оборудованием необходимых для проведения лабораторных работ

Задачи: Используя ниже представленные данные сделайте запись в тетради о целевом назначении каждого прибора, особенностях работы с ним и технике безопасности.

Термоциклер (ДНК-амплификатор, программируемый термостат)

Предназначен для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) и других термоциклических процессов.



Прибор имеет встроенный микрокомпьютер и может программироваться на поддержание определенной температуры в течении заданного времени, переход к другому температурному шагу и повторение температурных циклов необходимое число раз. Программное обеспечение позволяет контролировать состояние прибора, регистрировать процесс амплификации в реальном времени, сохранять и редактировать рабочие программы управления термоциклическими процессами.

Меры безопасности:

1. Перекрывать вентиляционные отверстия;
2. Прикасаться к термоблоку (во избежание ожогов).

Термостат твердотельный

Предназначен для термостатирования микропробирок



Прибор относится к термостатам, в котором рабочий нагревательный модуль выполнен из металла и имеет отверстия для установки микропробирок определенного размера и формы чаще всего 0,5 мл и 1,5 мл и обеспечивает термостатирование в диапазоне температур: от комнатной (или ниже комнатной при наличии функции охлаждения) до 99-120°C.

Меры безопасности: не дотрагиваться до нагревательного модуля (во избежание ожогов).

Камера для горизонтального электрофореза

Предназначен для разделения молекул нуклеиновых кислот, белков и их фрагментов в **агарозном геле** в постоянном электрическом поле.



В комплект входят: кювета для заливки геля, аппликаторы (гребенки) для формирования лунок в геле. Имеет встроенные электроды и клеммы для подключения к источнику постоянного тока.

Меры безопасности:

1. В кювету для заливки геля нельзя наливать горячий расплав агарозы, во избежание ее деформации.
2. При проведении электрофореза нельзя открывать крышку камеры без предварительного отключения от источника тока.

Камера для вертикального электрофореза



Предназначен для разделения молекул нуклеиновых кислот, белков и их фрагментов в полиакриламидном геле в постоянном электрическом поле.

Электрофорез в полиакриламидном геле имеет большую разрешающую способность по сравнению с агарозным и позволяет различать молекулы ДНК разных размеров с точностью до одного нуклеотида.

В комплект входят специальные камеры различающиеся по:

- количеству гелей (от 1 до 12),
- по размеру геля (от 7 до 20 см),
- по толщине геля (0,75; 1,0; 1,5 мм),
- по количеству образцов на гель (от 1 до 120),
- по требованию к объему буфера (от 200 до 6000 мл).

Подбор нужной камеры следует проводить, исходя из указанных характеристик. Есть модели как со встроенной охлаждаемой ячейкой (теплообменником), так и с возможностью охлаждения в качестве опции. В некоторых моделях с помощью специального модуля возможно выполнение блоттинга в этой же камере. Также есть модели, рассчитанные на загрузку 2-х кассет с гелем одновременно, каждый отсек изолирован друг от друга, и как следствие, тратится меньшее количество буфера. Имеются и многокамерные модели для постановки одновременно до 12 гелей.

Меры безопасности: при проведении электрофореза нельзя открывать крышку камеры без предварительного отключения от источника тока.

Источник постоянного тока

Предназначен для подачи электрического тока к прибору для электрофореза.

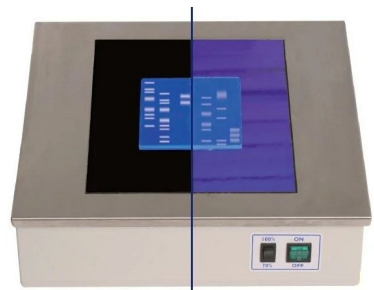


Прибор регулируется в режиме стабилизации напряжения, тока или мощности независимо от изменения сопротивления нагрузки. Как правило, имеет сигнализацию о перегрузке.

Меры безопасности: не включать без нагрузки.

Трансиллюминатор

Предназначен для подсветки геля после электрофореза светом определенного спектра и визуализации фрагментов нуклеиновых кислот и белков.



Конструкция прибора обеспечивает равномерную освещенность, а чрезвычайно малый прогрев светофильтра позволяет достаточно долго рассматривать гель, не опасаясь «расплывания» зон. Прибор имеет настроенный таймер, комплектуется кабинетом для непосредственного наблюдения гелей с защитным экраном.

Меры безопасности:

1. После просмотра геля светофильтр трансиллюминатора необходимо досуха протирать мягкой салфеткой;
2. Запрещено рассматривать гель с открытой крышкой трансиллюминатора (можно получить ожог сетчатки глаза).

Гель-документирующая видеосистема

Предназначена для получения цифрового изображения гелей, их первичной обработки и хранения в памяти ПК.



Система снабжена цифровой фото-видеокамерой, позволяющей наблюдать гель через ПО на мониторе ПК и делать его цифровые фотографические изображения. В первую очередь применяется для визуализации фрагментов ДНК в ультрафиолетовом свете, небезопасном для глаз.

Меры безопасности: при работе с видеосистемой необходимо следить за правильностью ее подключения, не допускать загрязнения светофильтра и объектива

Микроцентрифуга – вортекс

Предназначена для встряхивания, перемешивания и центрифугирования микропробирок (0,5-2,0 мл) на небольших скоростях вращения ротора (до 2 тыс. об/мин).



Устройство представляет собой центрифугу для малых объемов жидкости с функцией встряхивания.

Меры безопасности:

1. Включать прибор только при уравновешенном роторе;
2. Нельзя прикасаться к ротору во время центрифугирования.

Высокоскоростная микроцентрифуга

Предназначена для центрифугирования микропробирок (0,5-2,0 мл) на больших скоростях (до 15-20 тыс. об/мин и выше).



Устройство представляет собой центрифугу для малых объемов жидкости. Скорость вращения регулируется плавно, имеется встроенный таймер, часто снабжена функцией охлаждения и регулировкой плавности разгона и торможения ротора.

Меры безопасности: включать прибор только при уравновешенном роторе и закрытой крышке центрифуги.

Автоматические дозаторы переменного объема

Предназначены для отбора и внесения необходимых объемов жидкости.



Дозаторы (автоматические пипетки) позволяют с высокой точностью отбирать и вносить объемы различных жидкостей при использовании одноразовых наконечников соответствующего объема, снабжены механизмом сбрасывания отработанного наконечника.

Использовать только в пределах объема, указанных на корпусе дозатора, и с предназначенными для него наконечниками.

Лабораторная работа №6

Тема: Выделение ДНК из биологического материала

Нуклеопротеидами богаты печень, селезенка, поджелудочная железа, почки, дрожжи. Они растворяются в разбавленных растворах щелочей и выпадают в осадок при подкислении раствора. Дезоксинуклеопротеид хорошо растворяется также в соляных растворах.

Наличие ДНК определяют по цветным реакциям, характерным для дезоксирибозы. Часто применяется реакция с дифениламином, который при взаимодействии с ДНК образует соединение синего цвета.

Цель работы: провести гидролиз дезоксинуклеопротеида и освоить качественные реакции определения продуктов гидролиза.

Задачи:

1. Изучить основные этапы выделения дезоксирибонуклеиновой кислоты ДНК из биологического материала.
2. Освоить методику выделения ДНК из клеток печени и селезенки.
3. Освоить методику выделения ДНК из банана.
4. Провести сравнительный анализ изученных методик.

Биологический материал: 2-2,5 грамма печени или селезенки, банан.

Оборудование: стеклянные пробирки, центрифужные пробирки, центрифуга, мерный цилиндр, нож, ступка, пестик, стеклянная палочка, фильтровальная бумага, плитка, медицинский шприц.

Реактивы: 5% -ный раствор хлористого натрия, 0.4% - ный раствор гидроксида натрия, стеклянный порошок (можно использовать мелкий песок), дистиллированная вода, дифениламиновый реактив (1 г. дифениламина растворяют в 100 мл ледяной уксусной кислоты и добавляют 2.75 мл концентрированной серной кислоты), поваренная соль, шампунь, охлажденный этанол.

Ход работы:

1. Разобрать с использованием рис. 4 основные этапы выделения ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции. Зарисовать схему, проанализировать и записать каждый этап.

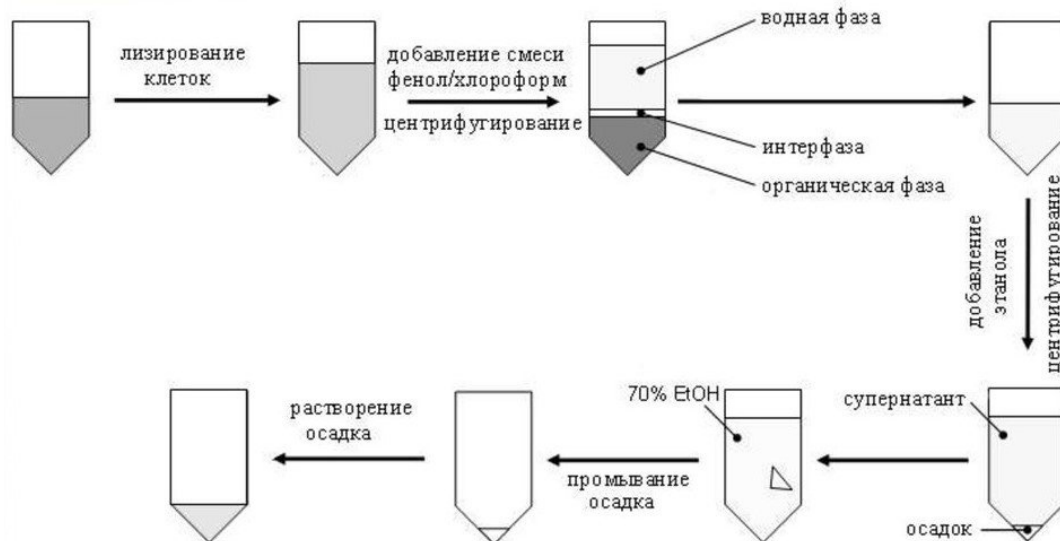


Рис.4 Схема выделения ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции

2. Выделение ДНК из печени или селезенки (проводится лабораторно).
 - 2.1. 2-2,5 грамма печени или селезенки нарезают на маленькие кусочки и растирают в ступке с 5% -ным раствором хлористого натрия, добавив немного стеклянного порошка. Раствор соли добавляют небольшими порциями по 10-15 мл. Всего расходуют около 80 мл.

2.2. Растирают массу в течение 10-15 минут до получения гомогенной массы.

2.3. Содержимое ступки разливают в центрифужные пробирки и центрифугируют 10-15 минут при 2500 оборотов в минуту.

2.4. Центрифугат сливают в мерный цилиндр, стараясь не затронуть осадок, и измеряют его объем.

В стакан наливают дистиллированную воду (объем воды должен быть в 6 раз больше объема центрифугата). Затем, медленно помешивая стеклянной палочкой, вливают в воду центрифугат. Дезоксинуклеопротейды (ДНП) выпадают в виде нитей, которые наматываются на палочку. Выделенные ДНП осторожно вынимают вместе с палочкой, переносят в чистую пробирку и растворяют в 1-2 мл 0,4% -ного раствора гидроксида натрия.

ПРИМЕЧАНИЕ. Если нити ДНП не образовались, а выделился хлопьевидный осадок, то ему дают отстояться, после чего большую часть жидкости из стакана осторожно сливают, оставшуюся часть центрифугируют.

3. Выделение ДНК из банана (проводится самостоятельно).

3.1. Небольшой кусочек банана растолочь в ступке до получения гомогенной массы.

3.2. Добавить в ступку соль на кончике ножа (буфер) и детергент (шампунь). В данном случае буфер осаждает ДНК, а детергент (шампунь) растворяет липидные мембраны, в том числе и ядерные, что дает возможность ДНК перейти в раствор.

3.3. Раствор хорошо перемешать и отфильтровать через 2-х слойный фильтр.

3.4. В чистую пробирку перенести 1 мл фильтрата и мл дистиллированной воды. Тщательно перемешать.

3.5. По стеночке пробирки осторожно влить охлажденный этанол так, что бы спирт собрался шаром на поверхности смеси.

3.6. Дать смеси отстояться 2-3 мин., после этого можно наблюдать, как на границе двух сред образовалась белая масса в виде кольца. Спирт осаждает ДНК, но она не растворяется в этаноле и поэтому в виде кольца плавает на поверхности.

3.7. Осторожно поддеть кольцо ДНК и вытянуть из пробирки.

4. Проведение качественной реакции на ДНК.

1.1. К 10 каплям раствора ДНП добавить 20 капель дифениламинового реактива (дифениламин, растворенный в ледяной уксусной кислоте с добавлением концентрированной серной кислоты) и перемешать.

4.3. Нагревать раствор в течение 5-10 минут на кипящей водяной бане. В случае наличия в растворе ДНК раствор должен окраситься в синий цвет, обусловленный реакцией дифениламина с дезоксирибозой.

5. Проанализировать и записать результаты лабораторной работы. Зарисовать цвет растворов после проведения качественной реакции. Сформулировать выводы о качестве полученного дезоксинуклеопотеида.

Задание на СРС:

1. Пользуясь приведенной методикой, выделить ДНК из банана.
2. Провести с полученным осадком качественную реакцию на ДНК.

Литература:

1. Кутлунина, Н. А. Молекулярно-генетические методы в исследовании растений: учебно-методическое пособие / Н. А. Кутлунина, А. А. Ермошин. — Екатеринбург: УрФУ, 2017. — 142 с.
2. Молекулярная биология: учебное пособие / О. В. Кригер, С. А. Сухих, О. О. Бабич [и др.]. — Кемерово: КемГУ, 2017. — 93 с.

Лабораторная работа №7

Тема: Определение концентрации и качества препаратов нуклеиновых кислот

Цель: Освоить метод определения концентрации и степени чистоты растворов нуклеиновых кислот методом спектрофотометрии. Принцип метода. Метод основан на регистрации максимума светопоглощения нуклеиновыми кислотами при длине волны 260 нм, который обусловлен присутствием в них азотистых оснований.

Оборудование:

1. Спектрофотометр с комплектом кварцевых кювет вместимостью 1 мл (длина оптического пути 1 см).
2. Растворы ДНК, олигонуклеотидов (можно использовать, например, препараты, полученные выделением нуклеиновых кислот из природных объектов; смеси олигонуклеотидных праймеров для ПЦР).
3. Коммерческие препараты высокомолекулярных ДНК.
4. Стерильная деионизованная вода.

Ход работы:

1. Для разведения образца геномной ДНК в 50 раз в чистую микропробирку вместимостью 1,5 мл вносят 20 мкл раствора ДНК, добавляют 980 мкл стерильной деионизованной воды и осторожно перемешивают.
2. Переносят разбавленный раствор ДНК в кварцевую кювету спектрофотометра, в другую (контрольную) кювету вносят стерильную деионизованную воду, использованную для разведения образца ДНК.
3. Производят измерение оптической плотности (поглощения, абсорбции) раствора ДНК против растворителя (воды) при 260 нм (ΔA_{260}).
4. Изменяют длину волны спектрофотометра на 280 нм и вновь производят измерение оптической плотности раствора ДНК (ΔA_{280}).
5. Рассчитывают концентрацию ДНК в растворе, мкг/мкл, по формуле: $C = \Delta A_{260} \times \text{разбавление} \times 50/1000$.
6. Определяют чистоту препарата ДНК по формуле $\Delta A_{260}/\Delta A_{280}$ и делают вывод о возможности использования препарата в дальнейшем.

Примечание. 1. На спектрофотометре любого типа, прежде чем измерять концентрацию в образцах, необходимо задать «точку отсчёта». Для этого нужно промерить концентрацию буфера, в котором были растворены образцы нуклеиновых кислот. Этот показатель будет зафиксирован прибором, как «ноль».

2. В процессе измерения необходимо обращать внимание на показатель диапазона поглощения для контролирования наличия белков в растворе.

3. Чистоту препарата ДНК показывает отношение поглощения при длинах волн 260 нм и 280 нм (260нм/280нм).

Литература:

1. Кутлунина, Н. А. Молекулярно-генетические методы в исследовании растений: учебно-методическое пособие / Н. А. Кутлунина, А. А. Ермошин. — Екатеринбург: УрФУ, 2017. — 142 с.

2. Молекулярная биология: учебное пособие / О. В. Кригер, С. А. Сухих, О. О. Бабич [и др.]. — Кемерово: КемГУ, 2017. — 93 с.

Лабораторная работа №8

Тема: Постановка полимеразной цепной реакции

Цель работы: Ознакомиться с методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Принцип метода: Специфическая амплификация ДНК с помощью полимеразы, осуществляющей избирательный синтез взаимно комплементарных цепей ДНК, начиная с двух праймеров (затравок) *-принцип метода был разработан Кэри Мюллисом (фирма “Cetus”, США) в 1983г.

Оборудование и материалы:

1. Термоциклер (ДНК-амплификатор).
2. Микроцентрифуга-вортекс (до 2000 g).
3. Термостат твердотельный с функцией охлаждения для микропробирок вместимостью 0,5-1,5 мл.
4. УФ-бокс.
5. Автоматические дозаторы переменного объема с наконечниками.
6. Набор реагентов для амплификации ДНК: микропробирки, содержащие лиофилизированную амплификационную смесь «ПЦР-ядро»; ПЦР-растворитель; смесь праймеров готовят самостоятельно или она входит в состав смеси; положительный контроль (раствор стандартной ДНК) подбирается самостоятельно или входит в состав смеси; масло минеральное.
7. Растворы ДНК-матрицы (образцы ДНК, выделенные из прокариот или эукариот).
8. Вода дистиллированная.
9. Перчатки резиновые или латексные, неопудренные.

Ход работы:

Внимание! Все манипуляции производить только в перчатках! Наконечники для автоматического дозатора необходимо использовать однократно!

1. Извлекают из пакета необходимое количество пробирок ПЦР-ядро (оно равно числу анализируемых проб плюс положительный и отрицательный контроль), размещают их в штативе и маркируют. Обратите внимание, на дне каждой пробирки находится лиофилизированная смесь, которая затем должна быть полностью растворена.

Положительным контролем (K+) служит раствор, образуемый стандартной ДНК.

Отрицательный контроль (K-) - ТЕ-буфер из комплекта, использованного для выделения ДНК.

2. Добавляют в каждую пробирку ПЦР-ядро по 10 мкл ПЦР-растворителя.

3. Добавляют в каждую пробирку ПЦР-ядро 5 мкл смеси прямого и обратного праймеров.

Аналогично приготовить положительный контроль, используя раствор ДНК (20- 50 нг/мкл), выделенной из растительной или животной ткани любым из приведенных ранее способов.

4. Содержимое пробирок перемешивают, встряхивая на вортексе, до полного растворения сухих компонентов смеси. Обычно для этого требуется 5-10 мин.

5. Добавляют в пробирки с амплификационной смесью:

- в пробирку с маркировкой K- (отрицательный контроль) - 5 мкл ТЕбуфера из комплекта, использованного для выделения ДНК;

- в пробирки с маркировкой № ... (исследуемые образцы) - по 5 мкл пробы соответствующей ДНК-матрицы;

- в пробирку с маркировкой K+ (положительный контроль) - 5 мкл раствора стандартной ДНК.

6. Содержимое всех пробирок еще раз аккуратно перемешивают.

7. Во все пробирки добавляют по 20-25 мкл (две капли) минерального масла, пробирки плотно закрывают крышечками.

8. Пробирки центрифугируют 5-7 с при 2000 об/мин. При этом отдельные капли ПЦР-смеси, оказавшиеся при ее перемешивании на стенках и крышке пробирки, должны быть сброшены на дно, а сверху ровно наслоено минеральное масло.

9. Пробирки с готовой ПЦР-смесью помещают в амплификатор и запускают программу амплификации (контроль температуры в термоблоке амплификатора должен осуществляться в режиме активного реагирования температуры):

94°C - 3 мин;

35 циклов, включающих:

94°C (денатурация) - 40 с,

58 °C (отжиг праймеров) - 30 с,

72°C (элонгация) - 40 с;

72°C- 4 мин.

10. По окончании амплификации пробирки извлекают из амплификатора, помещают в штатив и переносят в зону для электрофореза продуктов ПЦР. ПЦР-продукты (ампликоны) можно использовать в других практических работах и хранить в течение 1-2 нед при - 18°C.
11. Детекцию результатов ПЦР производят с помощью электрофореза в агарозном геле (практическая работа № 5).
12. Полученные результаты регистрируют визуально или с помощью видеосистемы.

Литература:

3. Кутлунина, Н. А. Молекулярно-генетические методы в исследовании растений: учебно-методическое пособие / Н. А. Кутлунина, А. А. Ермошин. — Екатеринбург: УрФУ, 2017. — 142 с.
4. Молекулярная биология: учебное пособие / О. В. Кригер, С. А. Сухих, О. О. Бабич [и др.]. — Кемерово: КемГУ, 2017. — 93 с.

Лабораторная работа №9

Тема: Анализ ДНК методом электрофореза в агарозном геле

Цель работы: Ознакомиться с методом горизонтального электрофореза ДНК в агарозном геле.

Принцип метода: Метод основан на миграции заряженной молекулы ДНК под действием электрического поля.

Оборудование и материалы:

1. Прибор для горизонтального электрофореза.
2. Источник постоянного тока.
3. Электрическая плитка или СВЧ-печь.
4. Гель документирующая видеосистема.
5. Автоматические дозаторы переменного объема с наконечниками.
6. Колба мерная вместимостью 1 л.
7. Колба коническая вместимостью 0,5 л.
8. Цилиндр мерный вместимостью 250 мл.
9. Набор реагентов для электрофореза включает: смесь для приготовления электродного буфера; навеску агарозы; раствор бромида этидия; раствор краски лидера (бромфеноловый синий).
10. Проба исследуемой ДНК.
11. ДНК-маркер молекулярных масс.
12. Перчатки резиновые или латексные неопудренные.
13. Теплоизолирующая рукавица.
14. Вода дистиллированная.

Ход работы:

I. Подготовка прибора для электрофореза к работе

1. Пользуясь встроенными уровнями и винтовыми ножками, прибор устанавливают строго горизонтально.
2. В рабочую камеру наливают буфер для электрофореза.

3. Для формирования гелевой пластины собирают кювету, в нее помещают аппликатор (гребенку) для формирования лунок в толще геля.

4. Регулируемую высоту аппликатора выставляют таким образом, чтобы расстояние от дна кюветы до каждого из зубцов составляло 1-2 мм.

5. В зависимости от числа анализируемых проб одновременно можно установить одну, две или три гребенки.

II. Приготовление агарозного геля

1. Навеску агарозы, необходимую для приготовления 1%-ного геля, полностью переносят в коническую стеклянную колбу вместимостью 250-500 мл, добавляют 150 мл рабочего раствора буфера для электрофореза и перемешивают.

2. Суспензию агарозы в колбе доводят до кипения в СВЧ-печи или на электроплитке, периодически помешивая (колбу держать, только надев на руку теплоизолирующую рукавицу).

3. Продолжают нагревание до тех пор, пока содержимое колбы не станет совершенно прозрачным (обычно еще 1 мин).

4. Расплав охлаждают до 55-60°C, добавляют 10мкл раствора бромида этидия, перемешивают (работу проводят в латексных или резиновых перчатках) и наливают на столик для заливки геля, не допуская образования воздушных пузырьков, так, чтобы толщина слоя была не менее 5 мм, а зубцы гребенок были погружены в гель не менее чем на 4 мм.

5. Гель полностью застывает через 15-20 мин.

6. Столик с готовым агарозным гелем и гребенками переносят в камеру для электрофореза, в которую наливают рабочий раствор буфера для электрофореза так, чтобы покрыть гелевую пластину слоем в 2-3 мм. Извлекают гребенки из агарозного геля легким и плавным движением вверх, стараясь не повредить образовавшиеся лунки.

III. Проведение электрофореза

1. В лунки застывшего агарозного геля (под слой буфера!) осторожно вносят по 3 мкл раствора исследуемых образцов ДНК.

2. В соседнюю лунку геля вносят 3 мкл маркера молекулярных масс фрагментов ДНК. В одну или две (по краям пластины геля) свободные лунки вносят 2-3 мкл краски-лидера.

3. Закрывают крышку прибора для электрофореза и подключают его к источнику постоянного тока, строго соблюдая полярность электродов и учитывая, что движение фрагментов ДНК происходит в направлении от катода к аноду (от «минуса» к «плюсу»).

4. На вольтметре источника постоянного тока устанавливают напряжение 120-150 В. В таком режиме процесс электрофореза продолжают около 30 мин, ориентируясь на фронт пробега краски-лидера (приблизительно на 3 см).

5. По окончании электрофореза источник напряжения отключают, снимают крышку прибора, пластину агарозного геля осторожно переносят на светофильтр (просмотровый столик) УФ-транслюминатора для детекции (работу проводят в перчатках!).

6. Включают трансиллюминатор. Зоны ДНК, окрашенные бромидом этидия, светятся при УФ-облучении.

Внимание! Во избежание повреждения сетчатки глаз ультрафиолетовым излучением наблюдать зоны ДНК следует только через защитное стекло из комплекта трансиллюминатора или защитные (стеклянные) очки. Полученные результаты регистрируют визуально или с использованием геле документирующей видеосистемы, пользуясь инструкцией к ней.

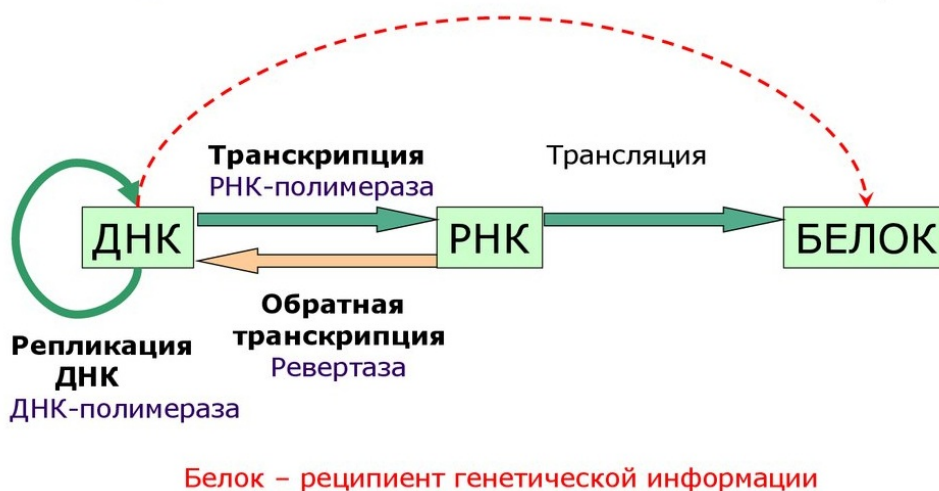
Литература:

1. Кутлунина, Н. А. Молекулярно-генетические методы в исследовании растений: учебно-методическое пособие / Н. А. Кутлунина, А. А. Ермошин. — Екатеринбург: УрФУ, 2017. — 142 с.
2. Молекулярная биология: учебное пособие / О. В. Кригер, С. А. Сухих, О. О. Бабич [и др.]. — Кемерово: КемГУ, 2017. — 93 с.

Лабораторная работа №10 Тема: Матричные процессы в клетке

Передача генетической информации при делении клетки, от родителя к потомству, либо через векторы происходит благодаря *матричным процессам* – синтезе одной биомолекулы, несущей информацию, на основе матрицы другой биомолекулы.

Центральная догма молекулярной биологии – обобщающее наблюдаемое в природе правило реализации генетической информации: информация передаётся от нуклеиновых кислот к белку, но не в обратном направлении. Правило было сформулировано Френсисом Криком в 1958 году.



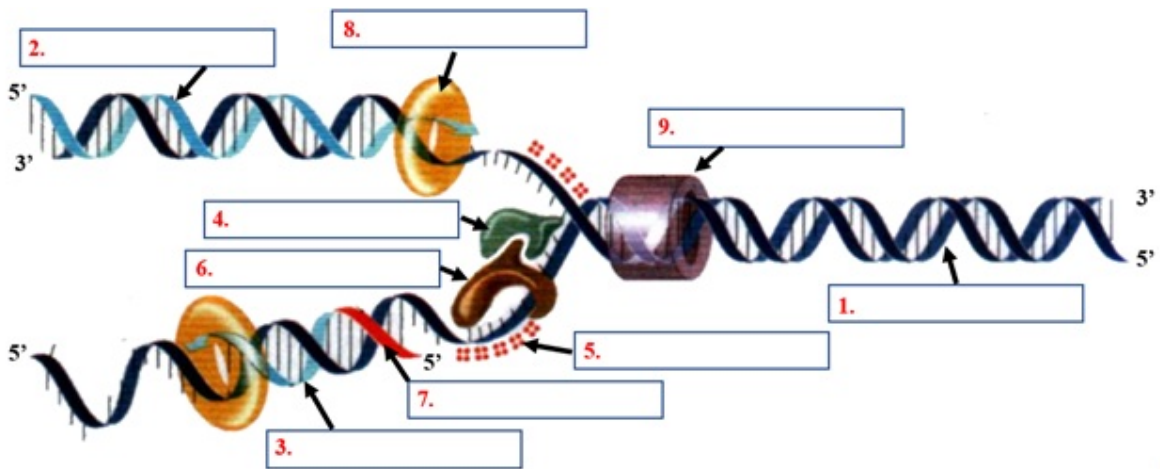
Переход генетической информации последовательно от ДНК к РНК и затем от РНК к белку является универсальным для всех без исключения

клеточных организмов, лежит в основе биосинтеза макромолекул. Репликации генома соответствует информационный переход ДНК → ДНК.

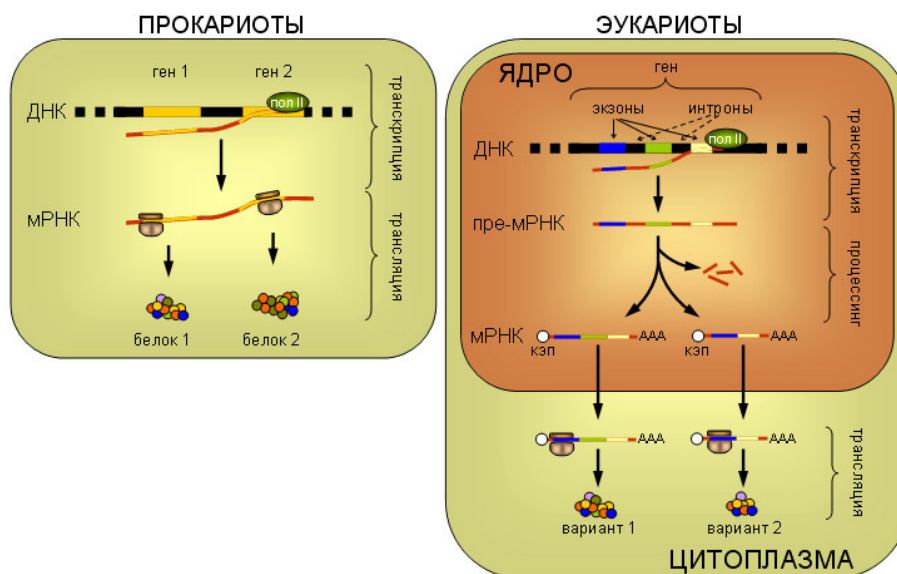
В природе встречаются также переходы РНК → РНК и РНК → ДНК (например, у некоторых вирусов), а также изменение конформации белков, передаваемое от молекулы к молекуле.

Цель и задачи: рассмотреть молекулярные механизмы матричных процессов. Провести моделирование матричных процессов.

Задание 1. Обозначьте основные компоненты и ферменты репликации, кратко опишите их функции. С помощью пластилина смоделируйте репликационную вилку эукариот.



Задание 2. Укажите особенности в транскрипции и трансляции у про- и эукариот, данные занесите в таблицу.



Прокариоты	Эукариоты
Транскрипция	
Трансляция	

Задание 3. Известно, что все виды РНК синтезируются на ДНК. Определите последовательность нуклеотидов в молекуле тРНК, если последовательность нуклеотидов фрагмента цепи ДНК: ЦЦАГТАЦГТАГГАЦТ. Определите кодон иРНК, к которому присоединяется эта тРНК, и аминокислоту, переносимую этой тРНК, если известно, что третий триплет ДНК шифрует ее антикодон. Для выполнения задания используйте таблицу генетического кода.

ДНК	ЦЦАГТАЦГТАГГАЦТ
т-РНК	
Кодон и-РНК	
Аминокислота	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД						
Н У К Л Е О Т И Д Ы						
Матричная РНК	1-й	2-й	3-й	4-й	5-й	6-й
у	у	ц	а	г	у	ц
ууу	Фенилаланин	уцу	уау	угу	у	у
ууц	Лейцин	уцц	уац	угц	ц	ц
ууа		уца	уаа	уга	а	а
ууг		уцг	уаг	угг	г	г
			стоп-кодон	стоп-кодон		
ц	у	ц	а	г	у	ц
цуу	Лейцин	ццу	цау	цгу	у	у
цуц		ццц	цац	цгц	ц	ц
цуа		цца	цаа	цга	а	а
цуг		ццг	цаг	цгг	г	г
			Гистидин	Глютамин		
а	у	ц	а	г	у	ц
ауу	Изолейцин	ацу	аау	агу	у	у
ауц		ацц	аац	агц	ц	ц
ауа		аца	ааа	ага	а	а
ауг	Метионин старт-кодон	ацг	ааг	агг	г	г
			Аспаргин	Лизин		
г	у	ц	а	г	у	ц
гуу	Валин	гцу	гау	ггу	у	у
гуц		гцц	гац	ггц	ц	ц
гуа		гца	гаа	гга	а	а
гуг		гцг	гаг	ггг	г	г
			Аланин	Аспарагиновая кислота		
				Глутаминовая кислота		
				Глицин		

Задание 4. Фрагмент цепи иРНК имеет следующую последовательность нуклеотидов: 5'-ЦУГГАЦЦАУУГГАУГ-3'. Определите последовательность

нуклеотидов на ДНК, антикодоны соответствующих тРНК и последовательность аминокислот во фрагменте молекулы белка, используя таблицу генетического кода.

и-РНК	5'-ЦУГГАЦЦАУУГГАУГ-3'
ДНК	5'-.....-3'
	3'- - 5'
Антикодоны т-РНК	3'-...-5'; 3'-...-5'; 3'-...-5'; 3'-...-5'; 3'-...-5';
Белок	

Задание 5. В биосинтезе фрагмента молекулы белка участвовали последовательно молекулы тРНК с антикодонами ЦГА, АГА, ГЦА, УЦЦ, ЦГЦ. Определите аминокислотную последовательность синтезируемого фрагмента молекулы белка и нуклеотидную последовательность участка двухцепочечной молекулы ДНК, в которой закодирована информация о первичной структуре фрагмента белка. Объясните последовательность Ваших действий. Для выполнения задания используйте таблицу генетического кода.

Антикодоны т-РНК	5'-ЦГА-3', 5'-АГА-3', 5'-ГЦА-3', 5'-УЦЦ-3', 5'-ЦГЦ-3'
Кодоны иРНК	
ДНК	
Белок	

Литература:

1. Мандель, Б. Р. Основы современной генетики: учебное пособие для учащихся высших учебных заведений (бакалавриат) / Б. Р. Мандель. — Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2016. — 334 с.
2. Молекулярная биология: учебное пособие / О. В. Кригер, С. А. Сухих, О. О. Бабич [и др.]. — Кемерово: КемГУ, 2017. — 93 с.

РАЗДЕЛ III. МЕНДЕЛЕВСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ

В *моногибридном скрещивании* родительские организмы отличаются по одной паре контрастных альтернативных признаков. Так, например, окрашенные и неокрашенные семена фасоли, серое и черное тело у дрозофилы. В первом поколении от этого скрещивания появляются гибридные особи. Из двух альтернативных вариантов аллелей у гибридов

первого поколения развивается только один (окрашенные семена у фасоли, серое тело у дрозофилы), второй не проявляется (неокрашенные семена фасоли и черное тело у дрозофилы). Преобладание у гибрида первого поколения признака одного из родителей Мендель назвал **доминированием**, а закон получил название **первого закона Менделя или единообразия гибридов первого поколения**.

При скрещивании гибридных особей первого поколения между собой во втором поколении наблюдается появление потомков с признаками обоих родителей. Причем, расщепление признаков подчиняется строгим количественным закономерностям: $\frac{3}{4}$ всех гибридов второго поколения несут доминантный признак (окрашенные семена фасоли, серое тело дрозофилы), а $\frac{1}{4}$ – рецессивный (неокрашенные семена фасоли, черное тело дрозофилы). Расщепление во втором поколении в определенном количественном соотношении доминантных и рецессивных форм называется **законом расщепления или вторым законом Менделя**.

Скрещивание особей, различающихся по двум парам альтернативных признаков, получило название **дигибридного**. Если признаков больше двух, то скрещивание называют **полигибридным**. Гены, отвечающие за развитие этих признаков, должны быть неаллельными, т.е. находиться в разных парах хромосом. При скрещивании двух чистых линий, отличающихся по двум парам альтернативных признаков, дигетерозиготные особи первого поколения, в соответствии с 1-ым законом Менделя, будут единообразные и по генотипу, и по фенотипу. Признаки, проявившиеся у гибридов первого поколения, являются доминантными. Во втором поколении расщепление по двум признакам составит 9А-В- (особи с двумя доминантными признаками) : 3А-bb (особи с доминантным признаком А) : 3ааВ- (особи с доминантным признаком В) : 1aabb (особи с рецессивными признаками).

Если подсчитать количество особей по каждой паре признаков отдельно, то окажется, что соотношение 9А-В- + 3А-bb + 3ааВ- + 1aabb соответствует независимой комбинации результатов двух скрещиваний (3А- + 1аа) x (3В- + 1 bb). Очевидно, что в дигибридном скрещивании каждая пара признаков при расщеплении в потомстве ведет себя так же, как в моногибридном скрещивании, т.е. независимо от другой пары признаков. То есть и задатки признаков этих пар комбинируются независимо. Таким образом, Мендель объективно установил существование 3-го закона наследования – **закона независимого комбинирования признаков** – при скрещивании 2-х гомозиготных особей, различающихся по 2-ум парам альтернативных признаков, гены и соответствующие им признаки наследуются независимо друг от друга и комбинируются во всех возможных сочетаниях.

Теоретические вопросы

1. Особенности гибридологического метода Г.Менделя.
2. Моногенное наследование признаков. Закон единообразия гибридов первого поколения. Правило доминирования.

3. Моногенное наследование признаков. Закон расщепления. Правило чистоты гамет.
4. Статистический характер расщепления. Метод χ^2
5. 3-ий закон Менделя. Независимое комбинирование генов.
6. Условия, необходимые для выполнения законов Менделя.
7. Ограничения действия законов Менделя.
8. Дигибридное скрещивание.
9. Цитологические основы независимого комбинирования.
10. Полигибридные скрещивания. Формулы расщеплений.

Лабораторная работа №11

Тема: Моногибридное скрещивание узамбарских (африканских) фиалок

Сенполия впервые была обнаружена в 1892 году в Восточной Африке, в Танзании и Кении в районе Узамбарских гор Вальтером Фон Сен-Полем. В 1893 году Венланд описывает вид сенполия и называет его в честь первооткрывателя *Saintpaulia*. Видовое название *ionantha* было дано из-за некоторого сходства его цветков с цветками фиалок (*Viola*). Это же сходство обусловлено появлением бытового названия «узамбарская или африканская фиалка».

Сенполии являются очень удобным объектом для работ по изучению наследования окраски венчика. Большое разнообразие фиалок по окраске лепестков обеспечивает необходимый материал для исследования. Знание типа наследования окраски венчика позволяет получить новые сочетания признаков, улучшить эстетические качества, а также получить новый сорт. Знания о том, какие признаки доминируют, какие передаются от материнского растения, а какие от отцовского растения, позволяют целенаправленно получать гибриды с желаемыми признаками. Это позволит сократить время, необходимое для получения растений с новыми комбинациями признаков и проводить целенаправленный подбор родительских пар, который увеличит вероятность появления растений с нужным набором признаков.

Для того, чтобы произвести опыление цветка материнского растения, осторожно пинцетом выщипывают у отцовского растения пыльник за 5-6 дней до опыления, затем иголкой вскрывают его, место вскрытия расширяют так, чтобы не просыпать пыльцу, и кисточкой переносят пыльцу на пестик материнского растения. Простым глазом заметно, как жёлтая пыльца прилипла на рыльце, чтобы произошло оплодотворение. Прорастает пыльца, образуя трубку, достигает завязи, в которой образуются семена. На другой день проверяют опыление. Если пыльца облетела, опыление повторяют снова.

Чтобы не забыть, когда и какие родительские пары скрещивались, на цветоножке материнского растения осторожно, чтобы не повредить, ниткой

прикрепляется бумажная бирка с данными, когда проводилось опыление и название сорта отцовского растения.

Опыление сенполий можно проводить в течение года, если в осенне-зимний сезон дать растениям подсветку люминесцентными лампами. Без подсветки лучшим временем года являются март - июль месяцы, время суток между 11 и 15 часами, когда в комнате хорошо прогреется воздух, температура воздуха должна быть не ниже 22*С. При такой температуре хорошо прорастает пыльца. Если произошло оплодотворение, то через 7 дней начинает развиваться семенная коробочка. Для простых форм цветков характерным признаком оплодотворения служит опадение цветка, для махровых и полумахровых, а также форм с неоппадающими цветками - увядание с последующим засыханием.

Цель работы: ознакомиться с правилами постановки скрещиваний на растительных объектах.

Задачи:

1. Освоить методику постановки скрещиваний на растительных объектах на примере узамбарской фиалки.
2. Ознакомиться с морфологическими характеристиками сенполии узамбарской.

Биологический материал: цветущие растения сенполии узамбарской с различной окраской венчиков (например, белые и синие).

Оборудование: лупы, пинцеты, кисти, калька, простые карандаши, нитки.

Ход работы:

1. Ознакомиться с историей и морфологической характеристикой вида сенполия узамбарская.
2. Ознакомиться с методикой постановки скрещиваний на растительных объектах. Скрещивание растительных объектов включает следующие этапы:
 - выбор пар для скрещивания;
 - кастрация;
 - опыление;
 - этикетирование.
3. Произвести скрещивание растений, различающихся по одной паре альтернативных признаков, например, цвету венчика.
 - 3.1. Выбрать пары для скрещивания: здоровые растения с венчиками белого и синего (чернильного) цвета.
 - 3.2. Проверить готовность рыльца к оплодотворению, для чего рассмотреть рыльце под лупой. Оно должно быть увлажненное, с капельками жидкости на рыльце.
 - 3.3. Пинцетом убрать у цветка выбранного растения (например, с белым венчиком) собственные пыльники, т.е. произвести кастрацию.
 - 3.4. Провести опыление: на рыльце пестика кисточкой наносят пыльцу выбранного сорта (с венчиком чернильного цвета). Пыльцу следует собрать

Цель работы: знакомство с основным приёмом гибридологического анализа – методом статистической проверки гипотез (метод).

Задачи:

1. Изучить закономерности моногибридного скрещивания.
2. Смоделировать опыты Менделя по моногибридному скрещиванию в лабораторных условиях.
3. Освоить метод χ^2 для статистического анализа данных.

Биологический материал: семена фасоли (окрашенные и неокрашенные).

Оборудование: чашки Петри.

Ход работы:

1. Смоделировать результаты опыта Менделя по наследованию моногенного признака «окраска семян» у фасоли. Для этого:
 - 1.1. В чашку Петри поместить по 20 окрашенных и неокрашенных семян фасоли;
 - 1.2. Из чашки Петри с семенами фасоли, не глядя, одновременно достать два семени разными руками. Предполагая, что каждое семя – это один аллель гена, контролирующего изучаемый признак, определить и записать получившийся генотип. Окрашенное семя считаем доминантным аллелем гена, неокрашенное – рецессивным. Эти семена оставляем в чашке Петри. Перед каждым выбором перемешиваем.
2. Повторяем эксперимент 60 раз. Полученные данные заносим в таблицу 1.1:

Таблица 1.1

Генотип	Данные
AA	15
Aa	32
Aa	13

3. Анализируем результаты эксперимента. Определяем расщепление в опыте по генотипу и фенотипу.
4. Выдвигаем нулевую гипотезу о генетической детерминации признака «окраска семян» и теоретическом расщеплении: моногенное наследование, расщепление во втором поколении 1:2:1 по генотипу и 3:1 по фенотипу.
5. Проводим статистическую проверку гипотезы методом χ^2 .
 - 5.1. Определяем теоретически ожидаемую величину для каждого генотипического класса расщепления: суммарное значение потомков (столбец 3) делим на суммарное число возможных генотипических классов (столбец 2) и умножаем получившуюся величину для каждого класса в соответствии с предполагаемой формулой расщепления (1:2:1 в данном случае). Полученные значения заносим в таблицу 1.2.

Таблица 1.2

Генотип	H ₀	Наблюдаемые данные	Ожидаемые данные
AA	1	15	15
Aa	2	32	30
Aa	1	13	15
Σ	4	60	60

5.2. Определяем отклонение экспериментальных (наблюдаемых – n) данных от теоретических (ожидаемых - o) по формуле:

$$\chi^2 = \Sigma(o-n)^2/o$$

$$\chi^2 = (15-15)^2/15 + (30-32)^2/30 + (15-13)^2/15 = 0,4$$

5.3. Оцениваем величину χ^2 по таблице Фишера с учетом степеней свободы и допустимой вероятностью (табл. 1.3). Число степеней свободы – это число независимо рассчитанных теоретически ожидаемых величин. Число степеней свободы определяется как число фенотипических классов минус один (в данном опыте число степеней свободы равно 2).

Вероятность (p) есть не что иное, как вероятность данной нулевой гипотезы. Для биологических дисциплин принята вероятность 95%, поэтому допустимой границей вероятности является величина 0,05. Это означает, что на каждые 20 показателей допускается 1 ошибка.

Таблица 1.3

Таблица Фишера с учетом степеней свободы и допустимой вероятностью

Число степеней свободы (n)	Вероятность (P)									
	0,99	0,95	0,90	0,75	0,50	0,25	0,10	0,05	0,025	0,01
1	0,00	0,00	0,02	0,10	0,45	1,32	2,71	3,84	5,02	6,63
2	0,02	0,10	0,21	0,58	1,39	2,77	4,61	5,99	7,38	9,21
3	0,11	0,35	0,58	1,21	2,37	4,11	6,25	7,81	9,35	11,34
4	0,30	0,71	1,06	1,92	3,36	5,39	7,78	9,49	11,14	13,28
5	0,55	1,15	1,61	2,67	4,35	6,63	9,24	11,07	12,83	15,09

5.4. Формулируем и записываем выводы о соответствии экспериментальных данных выдвинутой нулевой гипотезе.

Если величина χ^2 в опыте меньше теоретической, то отклонения между наблюдаемыми и ожидаемыми данными случайны и гипотеза не отвергается. Нулевая гипотеза отвергается, если значение χ^2 выше того, что дано в графе $P=0,05$ при соответствующем числе степеней свободы.

В данном примере χ^2 наблюдаемое (0,4) < чем χ^2 ожидаемое (5,99), следовательно, гипотеза о расщеплении по генотипу по признаку «цвет семян фасоли» в соотношении 1 AA: 2Aa:1aa верна при 2-х степенях свободы.

6. Рассчитываем χ^2 по суммарным значениям подгруппы.

6.1. Заносим данные по всей подгруппе в таблицу 1.4

Таблица 1.4

№ Эксперимента	Генотип			Величина χ^2
	AA	Aa	aa	
1	15	32	13	0,4
2	14	31	15	0,1
3	16	29	15	0,1
Сумма	45	92	43	0,13

6.2. Определяем χ^2 по суммарным значениям подгруппы:

$$\chi^2 = (45-45)^2/45 + (90-92)^2/90 + (45-43)^2/45 = 0,13$$

Формулируем выводы. Обратить внимание на уменьшение величины χ^2 с увеличением выборки.

6.3. Проводим расчет χ^2 при расщеплении по фенотипу. В соответствии с законом расщепления (2-ым законом Менделя) расщепление по фенотипу при скрещивании 2-х гетерозигот составляет 3A-:1aa. Определяем теоретически ожидаемую величину для каждого фенотипического класса расщепления: суммарное значение потомков (столбец 3) делим на суммарное число возможных генотипических классов (столбец 2) и умножаем получившуюся величину для каждого класса в соответствии с предполагаемой формулой расщепления (3:1 по фенотипу, табл. 1.5).

Таблица 1.5

Фенотип	H ₀	Наблюдаемые данные	Ожидаемые данные
Окрашенные семена	3A-	47	45
Неокрашенные семена	1aa	13	15
Σ	4	60	60

6.3. Определяем отклонение экспериментальных (наблюдаемых) данных от теоретических (ожидаемых) по формуле:

$$\chi^2 = \Sigma(o-n)^2/o$$

$$\chi^2 = (47-45)^2/45 + (13-15)^2/15 = 0,36$$

7. Заносим данные по всей подгруппе в таблицу 1.6 и определяем χ^2 по суммарным значениям подгруппы:

Таблица 1.6

№ эксперимента	Фенотип		Величина χ^2
	Окрашенные семена (А-)	Неокрашенные семена (аа)	
1	47	13	0,36
2	45	15	0
3	45	15	0
Сумма	137	43	0,119

$$\chi^2 = (135-137)^2/135 + (45-43)^2/45 = 0,119$$

8. Сформулировать и записать общие выводы о соответствии нулевой гипотезы фактическим данным. Проанализировать индивидуальные и групповые результаты.

Задания на СРС:

1. Завершить оформление лабораторной работы.
2. Решить 5 генетических задач с использованием метода χ^2 .

Литература:

1. Алферова, Г. А. Генетика: учеб. Галина Александровна, Галина Петровна, Татьяна Ильинична; Г. А. Алферова, Г. П. Подгорнова, Т. И. Кондаурова; под ред. Г. А. Алферовой. - 3-е изд.; испр. и доп. - Москва: Юрайт, 2018
2. Нахаева, В. И. Общая генетика. Практический курс: учебное пособие для вузов / В. И. Нахаева. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2021. — 276 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-06631-9.
3. Осипова, Л. А. Генетика в 2 ч. Часть 1: учебное пособие для вузов / Л. А. Осипова. — 2-е изд., испр. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2021. — 243 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-07721-6.
4. Карманова, Е. П. Практикум по генетике: учебное пособие для вузов / Е. П. Карманова, А. Е. Болгов, В. И. Митюлько. — 2-е изд., стер. — Санкт-Петербург: Лань, 2021. — 228 с.

Лабораторная работа №13

Тема: Дрозофила как объект генетических исследований. Постановка моногибридного скрещивания у *Drosophila melanogaster*

Целый ряд важнейших научных открытий был совершен при использовании в качестве генетического объекта мухи *Drosophila melanogaster*. В частности, работы Т. Моргана по разработке хромосомной теории наследственности, изучению генетики пола и сцепленного с полом наследования, также исследования по искусственному получению мутаций, вопросам природы гена, экспрессии гена, выяснение некоторых генетических

механизмов эволюционных процессов и др. Муха дрозофила является чрезвычайно удобным объектом для генетических исследований. Она неприхотлива в содержании, исключительно плодовита, имеет короткий период развития от яйца до взрослого насекомого, обладает чётко выраженными морфологическими признаками, большим разнообразием мутационных рас с чётким фенотипическим проявлением и малым числом хромосом.

Drosophila melanogaster, иначе муха плодовая, или уксусная, принадлежит к семейству *Drosophilidae* из отряда *Diptera*. Родиной *Drosophila melanogaster* считается Индо-малайская область. В настоящее время она космополит, населяет Северную и Южную Америку, Африку, Австралию, Японию и Южную Европу. Питается дрозофила ферментируемыми фруктами, овощами и древесным соком. Раса дрозофилы, которая обитает в природе, носит название дикий тип (wild type), или нормальная (normal). Это мушка величиной 2-3 мм с ярко-красными глазами и серым телом. Самки и самцы *D. melanogaster* отличаются по ряду морфологических признаков:

- 1) Самки несколько **крупнее** самцов.
- 2) **Брюшко** у самки округлое с заостренным концом, у самца – более цилиндрическое с притупленным концом и сильно пигментированными (черными) последними тергитами (скелетные хитиновые пластинки брюшка со спинной стороны);
- 3) У самки 8 хорошо развитых **тергитов**, у самца – 6;
- 4) У самки 4 хорошо развитых **стернита** (хитиновые пластинки с брюшной стороны), у самца – 3;
- 5) У самца присутствуют **половые гребешки** (ряд хитиновых щетинок на первом членике лапки передних ног).

Все манипуляции с мухами выполняют под наркозом. В качестве наркотизирующего вещества употребляют серный эфир. Как только мухи перестали двигаться, их сразу нужно вытряхнуть из морилки. От большой дозы дрозофилы погибают через 3-5 мин. Характерный признак погибших от эфира мух – растопыренные вверх и в стороны крылья и безжизненно вытянутые лапки. Изучение морфологических особенностей дрозофил, а также сравнение мутационных рас удобно проводить, расположив наркотизированных мух на молочно-белом стекле. Брать мух можно только пинцетом за крылышки или ножки, либо перемещать их мягкой кисточкой. Если во время просмотра мухи начинают просыпаться от наркоза, их следует вновь на некоторое время накрыть крышкой от морилки.

Для скрещиваний необходимо использовать заведомо девственных (виргинных) самок не старше 10-12 часов после вылупления. Поскольку жизнеспособная сперма может сохраняться в половых путях самки в течение нескольких суток после спаривания, и оплодотворённая самка может содержать в семяприёмнике некоторое количество спермы от предыдущей

копуляции. Для этой цели из культур за несколько часов до массового вылупления удаляют недееспособных мух. После этого культуру просматривают через 8-10 часовые интервалы. Вылупляющихся дееспособных самок изолируют от самцов и используют для скрещиваний.

Цель работы: ознакомиться с одним из наиболее удобных объектов генетического исследования плодовой (уксусной) мухой *Drosophila melanogaster*, освоить правила постановки скрещиваний.

Задачи:

1. Освоить основные правила работы с дрозофилой, а также методику постановки скрещиваний.
2. Ознакомиться с морфологическими характеристиками дрозофил дикого типа (Normal), а также мутантных линий (white, cut, ebony).
3. Произвести тригибридное скрещивание дрозофил.
4. Провести статистический анализ моногенного наследования признаков на примере наследования мутации ebony.

Биологический материал: линии *Drosophila melanogaster normal* (серое тело), ebony (черное тело).

Оборудование: стаканчики или широкие пробирки диаметром 4 см со свежеприготовленной средой; ватные пробки; эфир и морилки; молочно-белое стекло; лупа; пинцеты; кисти.

Ход работы:

1. Ознакомиться с правилами наркотизации мух.
 - 1.1. Возьмите пробирку с дрозофилами. Осторожно постучите по пробирке, осадив мух на дно.
 - 1.2. Нанесите 2-3 капли серного эфира (в крайнем случае, хлороформа) на вату и поместите в морилку.
 - 1.3. Выньте пробку из морилки и ватный тампон из пробирки с мухами. Приложите морилку и пробирку горлышками друг к другу (морилка внизу). Слегка постучите по пробирке, чтобы мушки высыпались из пробирки в морилку.
 - 1.4. Закройте морилку и пробирку. Слегка постукивая пальцем по морилке, наблюдайте за мушками, пока они не перестанут двигаться и не упадут на дно.
2. Изучение морфологии дрозофилы.
 - 2.1. Высыпьте наркотизированных мух из морилки на молочно-белое стекло или белый лист бумаги.
 - 2.2. Рассмотрите под лупой мух, имеющих серое тело, нормальные крылья и красные глаза. Это признаки дикого типа.
 - 2.3. Рассмотрите под лупой мух, имеющих черное тело, красные глаза и нормальные крылья. Это мухи линии ebony, гомозиготные по рецессивной мутации, вследствие которой их тело имеет черный цвет. В природе такие линии встречаются крайне редко, их разводят в лаборатории.
3. Постановка скрещивания дрозофилы.

- 3.1. Отобрать 2-3 виргинные самки *black* и поместить в стаканчик со средой с 3-5 самцами линии *Normal*.
- 3.2. Отобрать 2-3 виргинные самки *Normal* и поместить в стаканчик со средой с 3-5 самцами *black*.
- 3.3. Через 10-12 суток после постановки скрещивания, когда в стаканчике начнется массовое вылупление мух F_1 , их следует усыпить и проанализировать. Результаты подсчета следует записать в таблицу.
- 3.4. Среди гибридов F_1 следует отобрать 2-3 женские особи и 5-6 мужских и поместить их в чистые пробирки с питательной средой для получения F_2 .
- 3.5. Через 10-12 дней в стаканчиках начнется массовое вылупление мух F_2 . Их следует усыпить и анализировать на матово-белом стекле. Результаты занести в таблицу 1.7.

Таблица 1.7

Результаты гибридологического анализа при скрещивании дрозофил линий *black* и *Normal*

Фенотипы гибридов	Прямое скрещивание ♀ <i>black</i> x ♂ <i>Normal</i>			Обратное скрещивание ♀ <i>Normal</i> x ♂ <i>black</i>		
	Всего	В том числе		Всего	В том числе	
		♀	♂		♀	♂
Гибриды F_1 :						
Гибриды F_2 :						

4. Анализ результатов моногибридного скрещивания дрозофилы (на примере наследования мутации *ebony*).
- 4.1. Для того, чтобы рассмотреть закономерности моногибридного скрещивания, нужно проанализировать характер наследования мутации *ebony*, определяющей черный цвет тела *Drosophila melanogaster*.
- 4.2. Составьте схему скрещивания и определите ожидаемое расщепление по фенотипу и генотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая рецессивный характер мутации *ebony*. Формулируйте нулевую гипотезу о характере наследования данной мутации.
- 4.3. Пользуясь таблицей 1.7, проанализируйте фенотипы гибридов первого поколения прямого и обратного скрещиваний относительно цвета тела и подсчитайте точное число потомков. Результаты занесите в таблицу 1.8.
- 4.4. Проанализируйте фенотипы гибридов второго поколения относительно цвета тела. Подсчитайте число потомков и занесите результаты в таблицу 1.8. Согласно закону расщепления Менделя у $\frac{1}{4}$ гибридов второго поколения, как от прямого, так и от обратного скрещивания дрозофил, должна проявиться рецессивная мутация – черное тело. Пользуясь методом соответствия (χ^2) найти теоретически ожидаемое число потомков каждого фенотипического класса у гибридов второго поколения и определить величину χ^2 .
- 4.5. Сформулируйте выводы о правильности нулевой гипотезы о характере наследования мутации *ebony*.

Таблица 1.8

**Результаты гибридологического анализа при моногибридном скрещивании
дрозофил линий black и Normal**

Линии и гибриды	Получено мух		Расщепление		
	Всего	В том числе		Теоретически ожидаемое	Фактически полученное
		Normal	black		
F ₁ ♀ black- ♂Normal F ₁ ♀ Norma- ♂black F ₂ ♀ black- ♂Normal F ₂ ♀ Normal- ♂black					

Задания на СРС:

Решить 5 генетических задач на моногенное наследование признаков с использованием метода χ^2 .

Литература:

1. Алферова, Г. А. Генетика: учеб. Галина Александровна, Галина Петровна, Татьяна Ильинична; Г. А. Алферова, Г. П. Подгорнова, Т. И. Кондаурова; под ред. Г. А. Алферовой. - 3-е изд.; испр. и доп. - Москва: Юрайт, 2018
2. Мандель, Б. Р. Основы современной генетики: учебное пособие для учащихся высших учебных заведений (бакалавриат) / Б.Р. Мандель. – Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2016. – 334 с.:
3. Осипова, Л. А. Генетика в 2 ч. Часть 1: учебное пособие для вузов / Л. А. Осипова.— 2-е изд., испр. и доп.— Москва: Издательство Юрайт, 2021.— 243 с.— (Высшее образование).
4. Генетика: учебник для вузов / Н. М. Макрушин, Ю. В. Плугатарь, Е. М. Макрушина [и др.]; под редакцией д. с.-х. н. [и др.]. — 3-е изд., перераб. и доп. — Санкт-Петербург: Лань, 2021. — 432 с.
5. Общая генетика: учебное пособие / составители М. В. Ульянова [и др.]. — 2-е изд., доп. и перераб. — Кемерово: КемГУ, 2019. — 78 с. — ISBN 978-5-8353-2374-6. — Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/134334>

РАЗДЕЛ IV. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НЕАЛЛЕЛЬНЫХ ГЕНОВ

Под взаимодействием неаллельных генов понимается взаимодействие двух и более генов, расположенных в разных парах гомологичных хромосом, контролирующие один признак. Различают три основных типа взаимодействия - это комплементарность, эпистаз и полимерия. Расщепление по фенотипу в F₂ при взаимодействии неаллельных генов складывается из

стандартного расщепления 9:3:3:1, характерного для дигибридного скрещивания особей, гетерозиготных по обоим признакам.

Комплементарность (соответствие) – взаимодействие, при котором два доминантных неаллельных гена, взаимодействуя в гибридном поколении, обуславливают новый признак. Расщепление у гибридов F_2 при комплементарном взаимодействии может быть различным (9:3:3:1, 9:3:4, 9:6:1). Комплементарным взаимодействием обусловлено наследование различных типов окраски у животных и растений, например окраска волнистых попугайчиков. Дикий тип – зеленая окраска оперения получается из смеси двух пигментов – желтого (ген А) и синего (ген В). Если в генотипе отсутствует доминантный аллель гена В, то окраску обуславливает желтый пигмент. И, напротив, отсутствие аллеля А обеспечивает синюю окраску. В случае отсутствия обоих пигментов у особей с генотипом $aabb$ оперение остается неокрашенным, т.е. белым.

P	AAbb	x	aaBB	
	желтая окраска		синяя окраска	
F1	AaBb			
	зеленая окраска			
F2	9/16 A-B-:	3/16 A-bb:	3/16 aaB-:	1/16 aabb
	<u>зеленая</u>	желтая	синяя	белая

Комплементарным взаимодействием генов обусловлено также наследование окраски венчика цветка у душистого горошка. Доминантный аллель гена А обуславливает синтез розового пигмента, который является субстратом для дальнейших реакций синтеза пигментов. Доминантный аллель гена В отвечает за синтез из розового пигмента синего. Поэтому у гетерозигот А-В- венчик окрашен в синий цвет. У растений с генотипом А-bb синтезируется розовый пигмент, но поскольку нет доминантного аллеля В, реакция превращения в синий цвет не протекает и венчик имеет розовую окраску. Растения, имеющие только доминантный аллель гена В (aaB-), будут неокрашены, поскольку у них не вырабатывается розовый пигмент. Гомозиготы по рецессиву (aabb) также имеют белый венчик из-за отсутствия пигментов. В F_2 при скрещивании растений с синими цветками получаем расщепление 9 синих (А-В-): 3 розовых (А-bb-): 4 белых (3aaB-+1aabb). Такие организмы, имеющие одинаковый фенотип при разном генотипе, называются **фенокопиями**.

P	AAbb	x	aaBB	
	розовый венчик		белый венчик	
F1	AaBb			
	синий венчик			
F2	9/16 A-B-:	3/16 A-bb:	3/16 aaB-:	1/16 aabb
	9 синий	3 розовый	4 белый	

Эпистаз - тип взаимодействия неаллельных генов, при котором один ген может подавлять действие другого. При этом ген-эпистатор может быть как в доминантном состоянии (доминантный эпистаз), так и рецессивном состоянии (рецессивный эпистаз). Расщепления по фенотипу у гибридов F_2 составляет 13:3 (окраска оперения у кур), 12:3:1 (окраска плодов тыквы) при доминантном эпистазе и 9:7 (окраска венчика некоторых цветковых) при рецессивном.

Доминантным эпистазом обусловлено наследование окраски плодов тыквы. За синтез пигмента отвечает ген А. Его рецессивный аллель а обеспечивает зеленую окраску плодов, а доминантный аллель А – желтую окраску. Доминантный ген I эпистатирует (подавляет) синтез пигмента и формирует белую окраску. Дигетерозиготные гибриды F_1 с белыми плодами при скрещивании между собой дают расщепление на 12/16 неокрашенных (А-I-за счет действия гена-подавителя, aaI- за счет отсутствия аллеля гена, обеспечивающего синтез пигмента), 3/16 желтых и 1/16 зеленых плодов.

P	aaII	x	AAIi	
	белая окраска			
F1	AaIi			
	белая окраска			
F2	9/16 A-I-:	3/16 aaI-:	3/16 A-ii:	1/16 aaii:
	белая окраска		желтая	зеленая

Взаимодействие генов по типу эпистаза встречается и у человека. Так, за нормальное формирование слуха отвечают доминантные неаллельные гены.

Полимерия – действие одноразмерных генов, при котором наличие признака и его интенсивность определяется доминантными аллелями взаимодействующих генов. Взаимодействующие гены одинаково влияют на один и тот же признак, поэтому их принято обозначать одинаковыми

латинскими буквами с разными индексами: A_1, A_2, A_3, A_4 и т.д. Полимерным взаимодействием определяется наследование окраски зерна у пшеницы.

<u>P</u>	$A_1A_1A_2A_2$	x	$a_1a_1a_2a_2$
	окрашенное		неокрашенное
	зерно		<u>зерно</u>

F_1	$A_1a_1A_2a_2$
	окрашенное зерно

F_2	$9A_1a_1A_2a_2: 3A_1-a_2a_2: 3a_1a_1A_2-: 1a_1a_1a_2a_2$
	15 окрашенных неокрашенное

Из представленной схемы следует, что при наличии в генотипе доминантного аллеля любого из генов, зерно будет окрашено, причем число доминантных аллелей в генотипе здесь значения не имеет. Такой тип полимерии, при котором любая доза гена дает признак, называется **некумулятивная**.

Если же мы, помимо наличия окраски зерна пшеницы, будем учитывать и её интенсивность, то расщепление в F_2 изменится следующим образом:

<u>P</u>	$A_1A_1A_2A_2$	x	$a_1a_1a_2a_2$
	темно-красное		белое
F_1	$A_1a_1A_2a_2$		
	розовое зерно		
F_2	$1/16$ темно-красное зерно $A_1A_1A_2A_2$ $4/16$ красное $A_1A_1A_2a_2/ A_1a_1A_2A_2$ $6/16$ розовое зерно $A_1a_1A_2a_2/ A_1A_1a_2a_2/ a_1a_1A_2A_2$ $4/16$ светло-розовое зерно $A_1a_1a_2a_2/ a_1a_1A_2a_2$ $1/16$ белое зерно $a_1a_1a_2a_2$		

У гибридов F_2 окраска будет тем интенсивнее, чем больше доминантных аллелей в генотипе растения. Тип взаимодействия, при котором степень выраженности признака определяется числом доминантных аллелей взаимодействующих генов, называется *кумулятивная полимерия*. По этому же типу наследуется степень пигментации кожи у человека.

В таблице 2 представлены основные типы расщепления при взаимодействии неаллельных генов.

Таблица 2

Типы расщепления при взаимодействии неаллельных генов

№	Тип взаимодействия	F ₂	F _{ан.}
1	Комплементарное взаимодействие	9AB:3Ab:3aB:1ab	1AB:1Ab:1aB:1ab
		9AB:6(Ab+aB):1ab	1AB:2(Ab+aB):1ab
		9AB:3Ab:4(aB+ab)	1AB:1Ab:2(aB+ab)
		9AB:7(Ab+aB+ab)	1AB:3(Ab+aB+ab)
2	Эпистаз	13(AB+Ab+ab):3aB	3(AB+Ab+ab):1aB
		12(AB+Ab):3aB:1ab	2(AB+Ab):1aB:1ab
3	Полимерия (некумулятивная)	15(9a ₁ A ₂ +3A ₁ a ₂ +3a ₁ A ₂):1a ₁ a ₂	3(A ₁ A ₂ +A ₁ a ₂ +a ₁ A ₂):1a ₁ a ₂

Теоретические вопросы

1. Особенности наследования признаков при взаимодействии неаллельных генов.
2. Отличия этого способа наследования признаков от дигибридного скрещивания и множественного аллелизма.
3. Взаимодействие неаллельных генов по типу комплементарности. Расщепления у гибридов второго поколения.
4. Взаимодействие неаллельных генов по типу эпистаза. Доминантный и рецессивный эпистаз. Особенности расщеплений.
5. Полимерия и её виды. Влияния на расщепления.

Лабораторная работа №14

Тема: Физиолого-генетические аспекты проявления антоциановых окрасок у растений

Формирование окраски цветков обеспечивается, в основном, взаимодействием двух систем генов биосинтеза вторичных метаболитов. При этом первой включается система генов синтеза флавоноидных соединений (К - кемпферол, Q 1 и Q 2-кверцетин, М - мирицетин), затем система генов антоцианов (С и R - пеларгонидин, Sm и Sm 1 - цианидин, Е - дельфинидин). Аллельные и полимерные гены регулируют количество промежуточных метаболитов на каждом из этапов биосинтеза пигментов. При взаимодействии неаллельных генов происходит замедление или ускорение поэтапного превращения предшествующих соединений в конечные. Ингибирование синтеза флавоноидов или антоцианов приводит к перераспределению общего предшественника. Непрерывная изменчивость признака - результат функционирования аллельных и полимерных генов.

Цель работы: изучить генетическую обусловленность антоциановых окрасок у цветковых растений.

Задачи: 1.Познакомиться с различными группами пигментов.

2.Рассмотреть генетический контроль синтеза флавоноидов.

3. Научиться применять теоретические знания по наследованию признаков при взаимодействии неаллельных генов на практических примерах по

определению генетического контроля наследования окраски венчика цветковых растений.

Биологический материал: венчики растений с различными окрасками – фиалка трехцветная, львиный зев, ночная красавица, василек синий, астры, гладиолусы, тюльпаны, комнатные цветущие растений, гербарии.

Оборудование: плитка, 2 химических термостойких стаканчика, штатив с химическими пробирками, пипетки, ложечка, фильтровальная бумага, воронка.

Реактивы: 20 г пищевой соды, разбавленная соляная кислота.

Ход работы:

1. Получение антоциановой вытяжки из венчиков растений.
 - 1.1. 0,5-1 г красных и синих (фиолетовых) лепестков венчика растений поместить в два термостойких стакана.
 - 1.2. Залить 10 мл воды и довести до кипения на плитке до выхода антоцианов в раствор.
 - 1.3. Отфильтровать вытяжки в чистые пробирки через фильтр.
 - 1.4. Полученную антоциановую вытяжку разделить на 3 пробирки в равных соотношениях (образец №1, образец №2 и образец №3). Образец №1 использовать в качестве контрольного.
2. Изменение окраски антоциановой вытяжки под действием соляной кислоты.
 - 2.1. К образцу №2 антоциановой вытяжки добавлять по каплям разбавленную соляную кислоту до изменения цвета раствора.
 - 2.2. Сравнить опытный образец с контрольным. Наблюдать изменение раствора, отметить в тетради.
3. Изменение окраски антоциановой вытяжки под действием щелочи.
 - 3.1. К образцу №3 вытяжки добавить на кончике стеклянной палочки пищевую соду до изменения окраски.
 - 3.2. Сравнить опытный образец с контрольным. Наблюдать изменение раствора, отметить в тетради.
4. Продумать и сформулировать выводы о роли генов в определении антоциановых окрасок у растений, о типах их взаимодействия. Записать в виде таблицы 2.1.

Таблица 2.1

Признак	Фенотип	Ген	Генотип
Цвет водного экстракта	Синий	-	A-B-
Цвет экстракта в щелочной среде	Зеленый	A	A-bb
Цвет экстракта в кислой среде	Малиновый	B	aaB-

Задание на СРС:

Решение 5 генетических задач на взаимодействие неаллельных генов.

Литература:

1. Алферова, Г. А. Генетика: учебник для вузов / Г. А. Алферова, Г. П. Подгорнова, Т. И. Кондаурова; под редакцией Г. А. Алферовой. — 3-е изд., испр. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2021. — 200 с.
2. Инге-Вечтомов, С. Г. Генетика с основами селекции: учеб. для студентов высш. учеб. заведений / Сергей Георгиевич; С. Г. Инге-Вечтомов. - 2-е изд. - СПб.: Издательство Н-Л, 2010.

РАЗДЕЛ V. ЗАКОНОМЕРНОСТИ СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ

Исследования Моргана и его школы показали, что в гомологичных парах хромосом регулярно происходит обмен генами. Два гена, находящихся в одной хромосоме, не могут наследоваться независимо друг от друга. Совместное наследование генов, расположенных в одной хромосоме, ограничивает их свободное комбинирование. Морган предложил называть такое явление **сцеплением генов**. Сцепленное наследование может быть **полным** – при котором группа сцепления не нарушается, все гены наследуются совместно, и **неполным** – группа сцепления нарушается процессом **кроссинговера**.

Группа сцепления – это совокупность генов, локализованных в одной хромосоме.

Процесс обмена идентичными участками гомологичных хромосом с содержащимися в них генами называют перекрестом хромосом или **кроссинговером**. Кроссинговер обеспечивает новые сочетания генов – рекомбинацию.

Механизм перекреста хромосом связан с поведением гомологичных хромосом в **профазе I мейоза**. Кроссинговер происходит на четырехцепочечной, или тетрадной, стадии мейоза, когда каждая хромосома состоит из двух хроматид и приурочен к образованию **хиазм**.

Процесс кроссинговера обеспечивает генетическую изменчивость организма, которую принято называть **рекомбинационной**.

Теоретические вопросы

1. На чем основано явление сцепленного наследования?
2. С чем связано нарушение законов Менделя при сцепленном наследовании?
3. Что такое кроссинговер и когда он происходит?

Лабораторная работа №15

Тема: Изучение механизма кроссинговера

Цель работы: изучение закономерностей наследования признаков при сцепленном наследовании.

Задачи:

1. Повторение основных закономерностей поведения хромосом на каждой стадии мейоза.
2. Развитие у студентов образного и абстрактного мышления.
3. Изучение особенностей наследования генов, расположенных на одной хромосоме.

Оборудование: пластилин, дощечки для лепки, стеки, таблицы и схемы и фотографии, на которых изображен процесс кроссинговера.

Ход работы:

1. Внимательно рассмотреть таблицы, рисунки и фотографии.
2. Используя пластилин создать модели конъюгации, перекрещивания хроматид и образования хиазм, последующее отталкивание хромосом, начинающееся от центромеры, сползание хиазм и расхождение гомологов.
3. Рассмотреть четыре типа хиазм: одиночные; двойные, затрагивающие пару хроматид; двойные, затрагивающие три хроматиды; двойные, затрагивающие четыре хроматиды.
4. Изучить гипотетическое поведение генов при всех возможных перекрестах.
5. Сделать выводы.

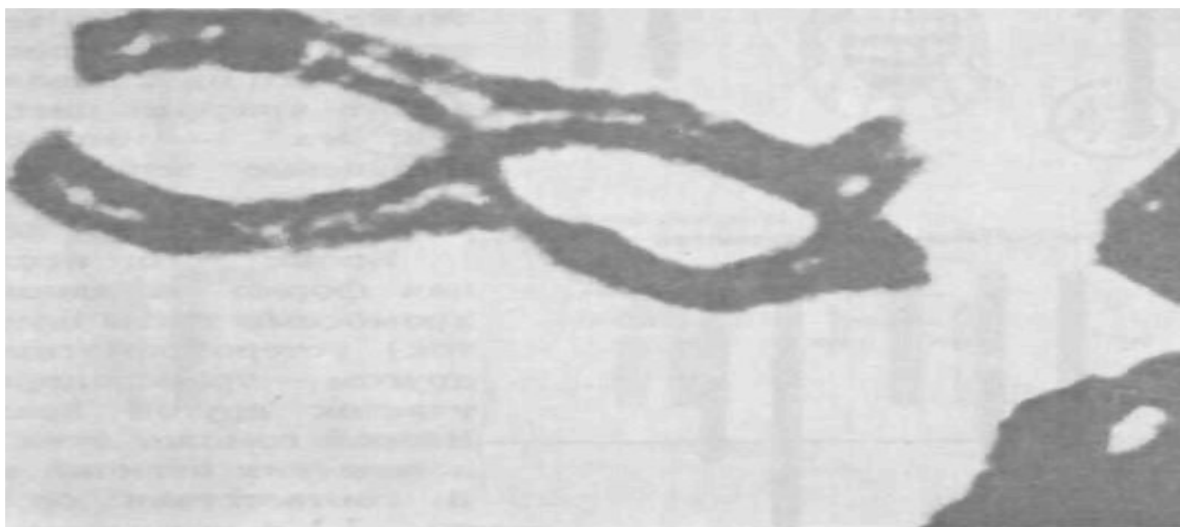


Рис. 1. Хиазмы в диплотене в одном из бивалентов у кузнечика (D. Suzuki, A. Griffiths, R. Levontin, 1981).

Задание на СРС:

Решить 5 генетических задач на сцепление и кроссинговер.

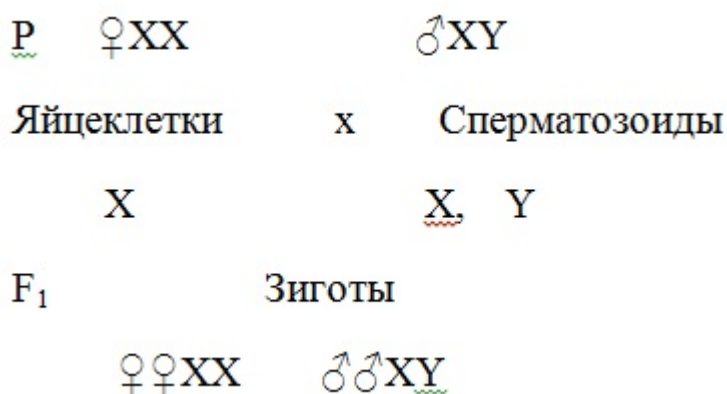
Литература:

1. Давыдова, О. К. Генетика бактерий в вопросах и ответах: учебное пособие / О. К. Давыдова; Оренбургский государственный университет. – Оренбург: Оренбургский государственный университет, 2015. – 178 с.

2. Мандель, Б. Р. Основы современной генетики: учебное пособие для учащихся высших учебных заведений (бакалавриат) / Б. Р. Мандель. – Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2016. – 334с.

РАЗДЕЛ VI. НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКОВ, СЦЕПЛЕННЫХ С ПОЛОМ

Признаки, гены которых локализованы на половых хромосомах, называют **признаками, сцепленными с полом**. Закономерности наследования этих признаков определяются особенностями наследования самих половых хромосом. У большинства живых организмов (в том числе человек и дрозофила) самки являются гомогаметным полом: они содержат две одинаковые X хромосомы. Самцы гетерогаметны, они содержат две хорошо различимые по строению хромосомы: X и Y. Наследование пола осуществляется по следующей схеме:



Гомогаметные по половым хромосомам самки образуют только один тип гамет X, а гетерогаметные самцы образуют 2 типа гамет – X и Y. В результате оплодотворения образуются самцы с генотипом XY и самки с генотипом XX. Такой механизм наследования пола обеспечивает наличие в популяции одинакового числа мужских и женских особей.

В X-хромосоме локализован ряд генов, которые, следовательно, наследуются сцепленно с полом. Учитывая, что у самцов Y-хромосома таких генов не содержит, всякий ген, локализованный в X-хромосоме, независимо от того, доминантный он или рецессивный, проявляется так, как будто он находится в гомозиготном состоянии. Подобное состояние называется **гемизиготным**. Например, все самцы дрозофилы, у которых в X-хромосоме локализован рецессивный ген *white*, будут белоглазыми.

Для изучения наследования признаков, сцепленных с полом, рекомендуется взять мух с генотипом Normal и скрещивать с рецессивным мутантом *white* (ген *white* локализован на X-хромосоме). В F₁ и в F₂ отношение мужских и женских особей будет одинаково – 1:1, наследование окраски глаз зависит от генотипов материнской и отцовской особей. При

скрещивании, когда материнская особь Normal, а отцовская white, все мухи F₁ имеют красные глаза, присущие материнским особям. В F₂ по окраске глаз наблюдается расщепление 3:1. Причем, все самки имеют красные глаза, а у самцов 50% особей красноглазых и 50% - белоглазых. При обратном скрещивании белоглазых самок с красноглазыми самцами в F₁ все самки имеют красные глаза, а самцы - белые. В F₂ по окраске глаз наблюдается расщепление 1:1. Причем, как у самок, так и у самцов 50% имеют красные, 50% - белые глаза.

Теоретические вопросы

1. Закономерности наследования признаков, сцепленных с полом.
2. Наследование пола. Гомо- и гетерогаметный пол.
3. Гемизиготное состояние гена.
4. Особенности наследования признаков, сцепленных с X-хромосомой.
5. Голандрический тип наследования.

Лабораторная работа №16

Тема: Наследование мутации белые глаза у *Drosophila melanogaster*

Цель работы: Изучить закономерности наследования признаков, сцепленных с полом на примере наследования мутации *white* у дрозофилы.

Задачи:

1. Познакомиться с определением пола у дрозофилы.
2. Провести скрещивание ♀Normal x ♂white, ♂Normal x ♀white.
3. Составить схему теоретически ожидаемого расщепления.
4. Проанализировать F₁ и поставить их на скрещивание для получения F₂.
5. Получить мух F₂ и проанализировать их.

Биологический материал: линии *Drosophila melanogaster* Normal (красные глаза), *white* (белые глаза).

Оборудование: стаканчики или широкие пробирки диаметром 4 см со свежеприготовленной средой; ватные пробки; эфир и морилки; молочно-белое стекло; лупа; пинцеты; кисти.

Ход работы:

1. Постановка скрещивания дрозофилы.
 - 1.1. Отобрать 2-3 виргинные самки *white* и поместить в стаканчик со средой с 3-4 самцами линии Normal.
 - 1.2. Отобрать 2-3 виргинные самки Normal и поместить в стаканчик со средой с 3-4 самцами *white*.
 - 1.3. Через 10-12 суток после постановки скрещивания, когда в стаканчике начнется массовое вылупление мух F₁, их следует усыпить и проанализировать. Сначала отделяют самцов от самок, а затем подсчитывают число белоглазых и красноглазых особей в каждой группе. Результаты подсчета следует записать в таблицу 4.

1.4. Среди гибридов F_1 следует отобрать 2-3 женские особи и 3-4 мужских и поместить их в чистые пробирки с питательной средой для получения F_2 .

1.5. Через 10-12 дней в стаканчиках начнется массовое вылупление мух F_2 . Их следует усыпить и анализировать на матово-белом стекле. Результаты занести в таблицу 4.

Таблица 4

Результаты гибридологического анализа при наследовании признаков, сцепленных с полом

Линии и гибриды	Проанализировано мух					Расщепление по окраске глаз	
	Всего о	В том числе				Теоретически ожидаемое	Фактически полученное
		♀	♂	Normal	white		
Прямое скрещивание							
♀ Normal ♂ white F ₁ Normal x white: самки самцы F ₂ Normal x white: самки самцы							
Обратное скрещивание							
♀ white ♂ Normal F ₁ white x Normal: самки самцы F ₂ white x Normal: самки самцы							

2. Анализ наследования мутации *white* у дрозофилы.

2.1. Составьте схему скрещивания и определите ожидаемое расщепление по фенотипу и генотипу у гибридов первого и второго поколения от прямого и обратного скрещивания, учитывая рецессивный характер мутации *white*. В прямом скрещивании, когда материнская особь Normal, а отцовская *white*, все мухи F_1 имеют красные глаза, а у гибридов F_2 наблюдается расщепление в соотношении 3:1. Причем, все самки имеют красные глаза, а у самцов 50%

особей красноглазых и 50% - белоглазых. При обратном скрещивании белоглазых самок с красноглазыми самцами в F_1 все самки имеют красные глаза, а самцы - белые. В F_2 по окраске глаз наблюдается расщепление 1:1. Причем, как у самок, так и у самцов 50% имеют красные, 50% - белые глаза.

2.2. Сформулируйте нулевую гипотезу о характере наследования данной мутации.

2.3. Пользуясь методом соответствия (χ^2) найдите теоретически ожидаемое число потомков каждого фенотипического класса у гибридов первого поколения (обратное скрещивание) и второго поколения и определить величину χ^2 .

2.4. Сформулируйте выводы о правильности нулевой гипотезы о характере наследования мутации *white*.

Задание на СРС:

1. Решение 5 генетических задач на наследование признаков, сцепленных с полом.
2. Оформление таблицы по лабораторной работе.

Литература:

1. Генетический анализ дрозофилы: практикум: учебное пособие / составители О. В. Гуменова, Г. Ф. Галикеева. — Уфа: БГПУ имени М. Акмуллы, 2020. — 55 с. — ISBN 978-5-907176-71-3. — Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/170430>
2. Общая генетика: практикум: [16+] / авт.-сост. М. В. Ульянова, В. Г. Дружинин, М. Б. Лавряшина; Кемеровский государственный университет. — 2-е изд., перераб. и доп. — Кемерово: Кемеровский государственный университет, 2019. — 78 с.

Лабораторная работа №17

Тема: Определение полового X-хроматина

Половой хроматин (тельце Барра) — конденсированный хроматин (гетерохроматин), содержащий ДНК одной из двух X-хромосом в ядрах клеток женского организма. В медицинской практике при экспресс-диагностике половой хроматин определяют в эпителиальных клетках слизистой оболочки щеки или в мазке периферической крови. В ядрах эпителиальных клеток половой хроматин выявляется в виде компактной глыбки хроматина, называемой тельцем Барра. В лейкоцитах периферической крови половой хроматин выявляется в виде «барабанных палочек» — глыбок хроматина, связанных тонкой нитью с ядром клетки. Исследование полового хроматина, кроме половой принадлежности, позволяет также установить аномалии в числе X-хромосом (рис. 2).

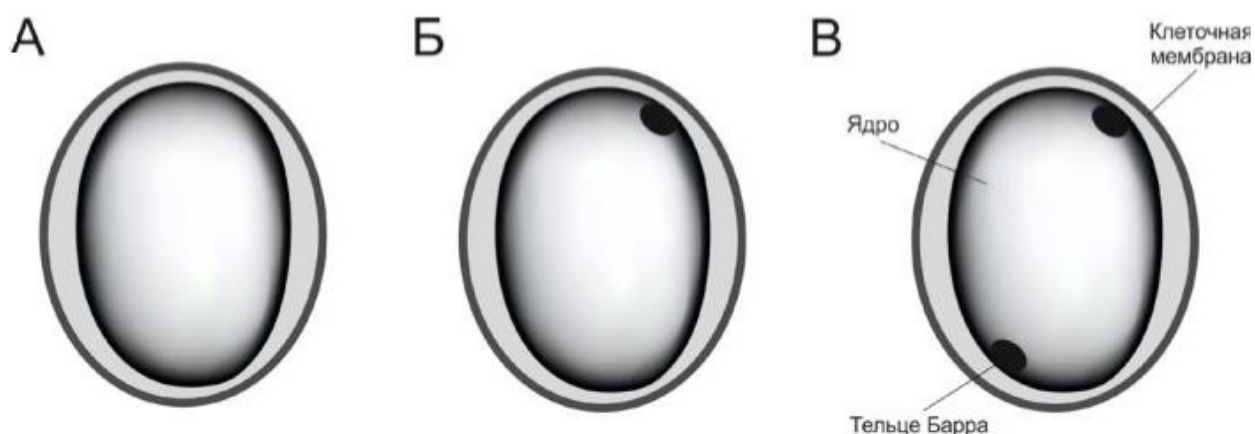


Рис. 2. Половой хроматин в эпителиальной клетке слизистой оболочки щеки человека. А — мужчина; Б — женщина; В — женщина с дополнительной X-хромосомой (47XXX). Овальной формы (0,7–1,2 мкм) тельце Барра локализуется на внутренней ядерной мембране [из: Моог К.Л., 1977].

Цель работы: научиться делать препарат буккального эпителия; анализировать препарат под микроскопом; подсчитывать количество клеток, имеющих половой хроматин.

Оборудование: микроскоп, шпатели, спирт, марлевые салфетки, краска - ацетоорсеин, стекла: предметные и покровные.

Ход работы:

- 1) Приготовить предметное и покровное стекло: тщательно протереть их марлевой салфеткой.
- 2) Шпатель обработать спиртом и протереть салфеткой.
- 3) Протереть слизистую щеки и быстрым скользящим движением шпателя произвести соскоб.
- 4) Полученный материал перенести на предметное стекло и сделать тонкий мазок.

5) На мазок капнуть каплю 1 % ацетоорсеина и накрыть покровным стеклом. Сверху положить слой фильтровальной бумаги и слегка надавить пальцем в течение нескольких секунд. Удалить остатки краски. Не допустить сдвигание покровного стекла!

6) Изучение препарата производят в световом микроскопе с иммерсионной системой ($\times 1200 - 1500$).

На препарате половой хроматин виден в виде тельца, окрашенного в тёмный цвет окружённого более светлым ореолом. Размер его около 1 мкм. Расположен чаще всего под ядерной мембраной. Форма полового хроматина может быть чаще всего овальной, треугольной, реже иной.

В норме половой хроматин определяется в среднем у 30 % клеток женщин. Поэтому необходимо просмотреть несколько полей зрения в разных местах препарата и просчитать не менее 100 ядер.

7) Сделать вывод о содержании X-хроматина у обследованного и заполните таблицу.

Название болезни	Количества аутосом	Количество половых хромосом	Кариотип	Количество телец Бара ♂ ♀
Болезнь Дауна				
Синдром Шерешевского – Тернера				
Синдром Клайнфельтера				

Задание на СРС:

Ответьте на следующие вопросы:

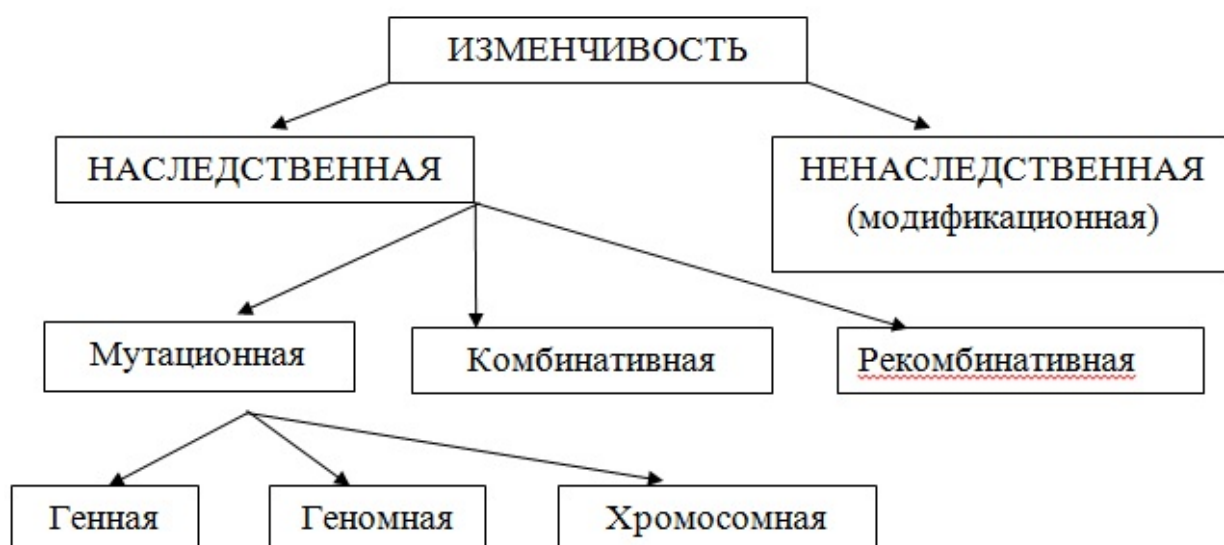
1. Почему препарат кладётся покровным стеклом вверх, а не вниз?
2. Чему равно фокусное расстояние объективов 8х и 40х?
3. Для чего необходимо знать фокусное расстояние объективов?
4. Какой структурный компонент клетки содержит хроматин?
5. Что содержится в нуклеоплазме?
6. Как под микроскопом выглядит половой хроматин?
7. Чем образован половой хроматин?

Литература:

1. Мандель, Б. Р. Основы современной генетики: учебное пособие для учащихся высших учебных заведений (бакалавриат) / Б. Р. Мандель. – Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2016. – 334с.
2. Общая генетика: практикум: [16+] / авт.-сост. М. В. Ульянова, В. Г. Дружинин, М. Б. Лавряшина; Кемеровский государственный университет. – 2-е изд., перераб. и доп. – Кемерово: Кемеровский государственный университет, 2019. – 78 с.

РАЗДЕЛ VII. ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ЕЁ ТИПЫ

Изменчивость – это способность организмов утрачивать старые признаки и приобретать новые. Изменчивость делится на два типа: ненаследственная (модификационная), которая не передается потомству, и наследственная, связанная с изменением генотипа. Наследственная изменчивость может быть вызвана комбинацией родительских генов в потомстве (комбинативная изменчивость), комбинацией генов в пределах одного организма за счет процесса кроссинговера и вставки так называемых мобильных генетических элементов (рекомбинативная изменчивость) и, наконец, различными типами мутаций (мутационная изменчивость). Генная изменчивость вызвана мутацией в пределах конкретного гена, хромосомная – мутацией отдельной хромосомы, геномная – изменением числа хромосом в геноме. Все эти мутации закрепляются в генотипе и могут передаваться потомству.



Теоретические вопросы

1. Изменчивость и её типы.
2. Мутации. Виды мутаций.
3. Множественный аллелизм.
4. Критерии аллелизма.
5. Модификационная изменчивость и норма реакции.
6. Вариационный ряд и вариационная кривая.
7. Показатели модификационной изменчивости, характеризующие разнообразие признаков.
8. Свойства средних величин.

Лабораторная работа № 18

Тема: Анализ генных мутаций по типу множественного аллелизма

Мутационная изменчивость – это тип наследственной изменчивости, обусловленной возникновением **мутаций** – внезапных скачкообразных изменений генотипа. Мутации могут затрагивать отдельный ген (**генные мутации**), целую хромосому (**хромосомные мутации**) или изменять количество хромосом в геноме (**геномные мутации**).

К одному из основных из генетических явлений, увеличивающих резерв мутационной изменчивости и широко распространенных в природе, относится **множественный аллелизм**. Это явление связано с наличием в популяции более двух аллелей одного гена и часто возникает в результате генных мутаций. Так, окраску глаз у дрозофилы определяют более 50 генов, локализованных в различных хромосомах и взаимодействующих между собой. Если все эти гены представлены аллелями дикого типа, то при взаимодействии они определяют красную окраску глаз. Мутация даже в одном из генов может привести к изменению окраски глаз. Например, если ген *white* находится в мутантном гомозиготном состоянии, то глаза будут белые, а мутация в гене *vermilion* в гомозиготе определит гвоздичный цвет глаз.

Таким образом, изменение признака, по которому мы судим об изменении генотипа, может быть обусловлено мутациями в разных генах. Возникает вопрос: как определить, произошли ли две какие-либо независимо возникшие мутации в одном гене, или в разных, т.е. аллельны они, или нет? Каков критерий аллелизма? Ответ на этот вопрос дал еще Т.Морган, предложив функциональный (или комплементарный) критерий аллелизма. В его основе лежит представление о том, что при скрещивании двух мутантных форм, несущих мутации разных генов, определяющих один и тот же признак, возникает дигетерозигота, имеющая дикий фенотип. Аллели дикого типа доминируют в обоих случаях над мутантными и взаимодействуют между собой по типу комплементарности (откуда и произошло название критерия), определяя дикий фенотип гибрида. Если скрещиваются формы, имеющие мутантные аллели одного гена, то у гетерозиготных гибридов дикий тип не проявляется, а в зависимости от характера доминирования имеет место полное или неполное проявление признака одной из скрещиваемых форм. Функциональный тест в ряде случаев не является абсолютным, однако именно он (или аналогичный ему цис-транс тест) используется на практике для установления аллелизма.

Цель работы: познакомиться с генными мутациями и явлением множественного аллелизма, наследованием в серии множественных аллелей, функциональным критерием аллелизма.

Материал: гербарий листьев белого клевера (*Trifolium repens*); коллекция готовых микропрепаратов линий дрозофилы, различающихся по окраске глаз.

Живые объекты: на каждого студента - по три пробирки: в одной F1 от скрещивания дрозофил, имеющих белые и абрикосового цвета глаза; в другой F1 от скрещивания мух с белыми глазами и глазами киноварного цвета и в третьей F1 от скрещивания мух с абрикосовыми глазами и мух с глазами киноварного цвета. Возможно использование готовых цитологических препаратов.

Оборудование: микроскопы, лупы, простые карандаши, эфир, морилка, чашки Петри, ватные пробки, молочно-белое стекло, кисти, пинцеты.

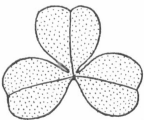
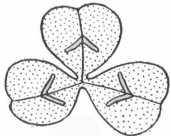
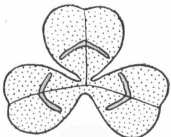
Ход работы:

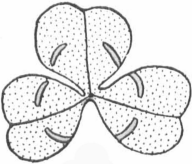
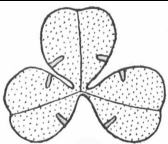
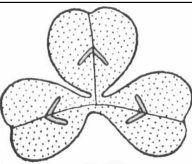
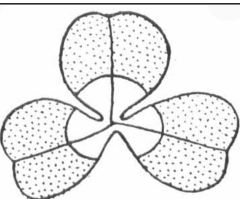
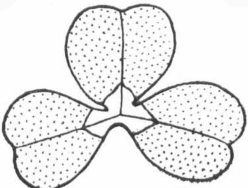
1.1. Ознакомиться с гербарием листьев белого клевера, проанализировать наличие и форму рисунка седых пятен на листьях. Ген, определяющий этот признак, обозначается буквой V с индексами и представлен восемью наиболее часто встречающимися аллелями (табл.5).

1.2. Сравнивая рисунок на листе гербария с рисунками, изображенными в таблице, определите генотип каждого экземпляра. В случае, если рисунки пятен, определяемые двумя аллелями, сливаются или имеет место полное доминирование, что делает невозможным определение генотипа, установите фенотипический радикал. Например, V^BV^H и V^BV^B имеют одинаковый фенотип (^-образное пятно с разрывом), V^BV^P и V^BV^B также фенотипически не различаются, поскольку аллель V^B полностью доминирует над аллелями V^H и V^P . Поэтому в данном случае логично обозначить только фенотипический радикал V^B -. Особи с генотипами V^FV^P и V^FV^L неотличимы от V^FV^F в силу слияния рисунков. Гетерозиготы с аллелем v также не отличаются от доминантных гомозигот.

1.3. Зарисуйте предложенные вам экземпляры и, пользуясь таблицей, определите генотипы или фенотипические радикалы. Запишите символы. Составьте серию всех встретившихся аллелей.

Таблица 5

Рисунок	Фенотип	Ген	Генотип
	Пятно отсутствует	v	vv
	Сплошное ^-образное пятно	V	VV, Vv
	Сплошное высокое ^-образное пятно	V^H	$V^H V^H$, $V^H v$

	^-образное пятно с разрывом	V^B	$V^B V^B, V^B V^V, V^B V^H, V^B V^P$
	Высокое ^-образное пятно с разрывом	V^{Bh}	$V^{Bh} V^{Bh}, V^{Bh} V^V$
	^-образное пятно в центре	V^P	$V^P V^P, V^P V^V$
	Сплошное треугольное пятно на основании	V^F	$V^F V^F, V^F V^V$
	Сплошное небольшое треугольное пятно на основании	V^L	$V^L V^L$

2. Изучите коллекцию линий дрозофил, различающихся по окраске глаз, и познакомьтесь с серией множественных аллелей, отвечающих за этот признак. Серия аллелей, определяющих окраску глаз у дрозофилы, обозначается первой буквой от названия признака, впервые описанного: w (white - белый). Индекс указывает название признака, определяемого каждой конкретной аллелью: w^a - абрикосовые глаза, w^e - эозиновые, w^{ch} - вишневые, w^+ - красные (дикий тип), sp - киноварные. Опишите каждую линию. Все фенотипические описания должны сопровождаться указанием генотипа особи.

3. Определение аллельности мутаций в генах, определяющих окраску глаз у дрозофилы с помощью функционального критерия аллелизма. Для решения вопроса о том, аллельны ли мутации, обуславливающие белую, абрикосовую и киноварную окраску глаз у дрозофилы, необходимо провести следующие скрещивания:

Абрикосовые глаза х Белые глаза

Киноварные глаза х Абрикосовые глаза

Киноварные глаза х Белые глаза

3.1. Ознакомьтесь с результатами скрещиваний. Опишите окраску глаз у исходных и гибридных мух в каждом типе скрещивания в виде схемы:

Скрещивание №1 Р ♀ абрикосовые глаза х ♂ белые глаза

F₁ абрикосовые глаза

Скрещивание №2 Р ♀ киноварные глаза х ♂ абрикосовые глаза

F₁ красные глаза (дикий тип)

Скрещивание №3 Р ♀ киноварные глаза х ♂ белые глаза

F₁ красные глаза (дикий тип)

3.2. Анализируя результаты скрещивания №1, можно заключить, что мутации, определяющие белую и абрикосовую окраску глаз, аллельны, поскольку при скрещивании появилась окраска одной из родительских форм. У гибридов, полученных в результате скрещиваний №2 и №3, проявился новый признак – красная окраска глаз, что говорит о взаимодействии двух неаллельных генов по типу комплементарности.

3.3. Составьте схемы приведенных скрещиваний. Аллели гена *w* (white) локализованы в X-хромосоме. Признаки белый и абрикосовый цвет глаз будут сцеплены с полом, поэтому самки имеют две аллели, а самцы – одну. Киноварный цвет глаз определяет ген *cn*, локализованный во II хромосоме. У мух с киноварной окраской глаз этот ген в гомозиготном состоянии, а в X-хромосоме они имеют аллель дикого типа гена *white*, которая обозначается как *w*⁺. Мухи с абрикосовыми глазами гомозиготны по гену *w*^a - *w*^a*w*^a, а во II хромосоме обязательно имеют аллель дикого типа гена *cn*, которая обозначается *cn*⁺. Проявление у гибридов от скрещивания №2 дикого типа (красных глаз) можно объяснить так: аллель *w*⁺ доминирует над *w*^a, а аллель *cn*⁺ над аллелью *cn*. Неаллельные гены *w*⁺ и *cn*⁺ взаимодействуют между собой по типу комплементарности и определяют красную окраску глаз, характерную для дикого типа.

Задание на СРС:

1. Летом собрать гербарий клевера с различными типами рисунка седых пятен на листьях и описать их.
2. Решить 5 задач на скрещивания дрозофил.

Литература:

1. Генетический анализ дрозофилы: практикум: учебное пособие / составители О. В. Гумерова, Г. Ф. Галикеева. — Уфа: БГПУ имени М. Акмуллы, 2020. — 55 с. — ISBN 978-5-907176-71-3. — Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/170430> (
2. Общая генетика: практикум: [16+] / авт.-сост. М. В. Ульянова, В. Г. Дружинин, М. Б. Лавряшина; Кемеровский государственный университет. — 2-е изд., перераб. и доп. — Кемерово: Кемеровский государственный университет, 2019. — 78 с.

Лабораторная работа № 19

Тема: Модификационная изменчивость

Фенотипическое разнообразие особей, имеющих одинаковые генотипы, но развивающихся в различных условиях внешней среды, называется **модификационной изменчивостью**. Сущность модификационной изменчивости особенно хорошо видна на примере **количественных признаков** (такие свойства организма, которые можно охарактеризовать количественно – измерять, взвешивать и т.д., но их невозможно разложить на четкие фенотипические классы): организм наследует способность развития признака, степень выраженности которого зависит от взаимодействия генотипа и условий среды. Пределы, в которых данная способность может проявляться называются **нормой реакции**.

В группе особей, взятых для изучения, различные вариации одного и того же количественного признака встречаются неодинаковое число раз. Частота проявления определенных значений признака в совокупности называется **распределением**. Наглядное представление о разнообразии признака изучаемой совокупности дает графическое изображение этого распределения признака. Распределение можно изобразить в виде вариационного ряда, вариационной кривой или гистограммы. Для построения вариационного ряда, прежде всего, следует найти лимиты – максимальное ($x_{\max}$) и минимальное ($x_{\min}$) значение вариант. Лимиты указывают на общий размах модификационной изменчивости и широту нормы реакции изучаемых признаков. Двойной ряд чисел, отражающий распределение вариант по классам, называют **вариационным рядом**.

$$n = \sum f, \text{ где } f - \text{частота}$$

Основной параметр вариационного ряда – **среднее арифметическое** – $\bar{x}$, которое определяется по формуле:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i \cdot f}{n}$$

Среднее арифметическое является той величиной, которая меньше любой другой отличается от всех варьирующих величин, оно является коллективным портретом совокупности.

Вторым основным параметром вариационного ряда является **стандартное отклонение**. Обозначают его σ и определяют по формуле:

$$s = \pm \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2 \times f}{n - 1}}$$

Стандартное отклонение показывает, насколько в среднем каждая вариация отличается от среднего арифметического, а знак « $\pm$ » показывает, что есть значения как больше, так и меньше, чем среднее.

При изучении модификационной изменчивости необходимо ответить на вопрос: «Насколько выборка (случайно отобранная группа) соответствует генеральной совокупности?». Поэтому нужно определить пределы, в которые будут укладываться средние арифметические всех выборок, сколько бы их не взяли из генеральной совокупности. Такая величина называется **ошибкой средней арифметической**, она обозначается m и вычисляется по формуле:

$$m = \frac{s}{\sqrt{n - 1}}$$

Ошибкой ее назвали не случайно, т.к. она показывает, насколько ошибаются, считая, что среднее арифметическое выборки равно среднему арифметическому генеральной совокупности. Значит, среднее арифметическое генеральной совокупности лежит в пределах $\bar{x} \pm m$.

Вариационный ряд можно изобразить графически в виде **гистограммы** или линейной кривой – **полигона распределения**. Для этого, используя систему координат, строят график: на горизонтальной оси (оси абсцисс) откладывают значения вариаций (x_i), а на вертикальной (оси ординат) – частоты (f). Если частоту каждой варианты изобразить в виде столбика, получают ступенчатую кривую, называемую **гистограммой**. Если в местах пересечения перпендикуляров, восстановленных из значений вариантов, с

горизонтальными линиями, проведенными из соответствующих им частот, ставят точки, которые затем соединяют ломаной линией, то получают **вариационную кривую** (рис. 3).

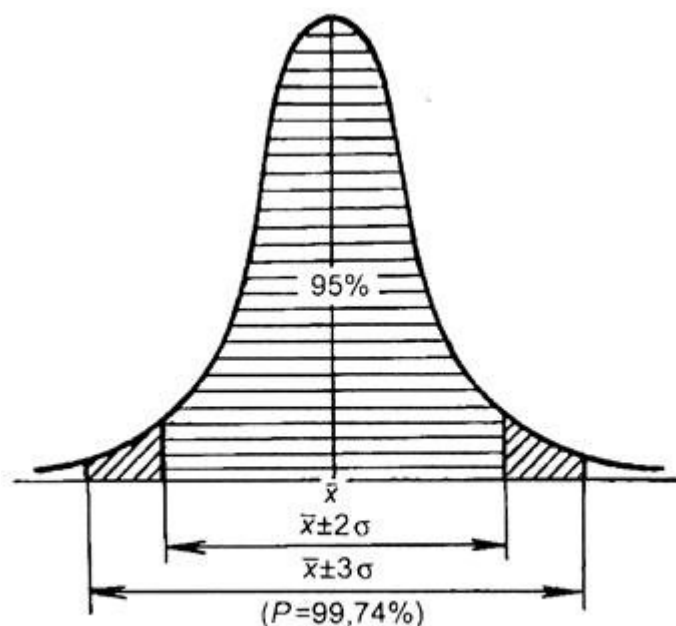


Рис. 3. Кривая нормального распределения признака

На графике хорошо видно, что среднее значение признака встречается чаще всего, а вариации, значительно отличающиеся от средней, встречаются очень редко. Поэтому необходимо оценить отношение отдельных вариантов к средней арифметической. Такая оценка проводится при помощи *нормированного отклонения (t)*.

$$t = \frac{x - \bar{x}}{s}$$

Оказывается, в большинстве случаев, максимальная и минимальная варианты отстоят от среднего арифметического приблизительно на 3σ . И чем больше выборка, тем точнее это правило. Иными словами, пределы модификационной изменчивости определяются $\bar{x} \pm 3\sigma$ - *правило трех сигм*.

Цель работы: Ознакомление с различными типами распределения количественных признаков и приобретение навыков их графического изображения.

Задачи:

1. Построить вариационную кривую для признака интеллект (IQ);
2. Посчитать среднее арифметическое и стандартное отклонение в выборке для данного признака.

Ход работы:

П р и м е р. При изучении генеральной совокупности студентов по коэффициенту интеллекта (IQ), определенным по тесту Кеттелла, составлена следующая выборка, численностью 123 человек: 115, 141, 98, 89, 110, 100, 96, 112, 121, 134, 145, 85, 115, 112, 90, 110, 111, 115, 110, 97, 94, 116, 119, 118, 115, 84, 115, 112, 144

Для построения вариационного ряда, прежде всего, следует найти лимиты – максимальное ($x_{\max}$) и минимальное ($x_{\min}$) значение вариантов. В приведенной выборке они выделены. Лимиты указывают на общий размах модификационной изменчивости и широту нормы реакции изучаемых признаков.

Установив границы классов, приступают к разноске вариантов по классам, для чего составляют таблицу:

Варианта x_i	Частота f	$x_i \times f$	Отклонения $\bar{x} - x_i$	Квадраты отклонений $(\bar{x} - x_i)^2$	$(\bar{x} - x_i)^2 \times f$
84	1	84	-31	961	-29791
89	4	356	-26	676	-17576
95	6	570	-20	400	-8000
101	9	909	-14	196	-2744
105	12	1260	-10	100	-1000
112	17	1904	-3	9	-27
115	25	2875	0	0	0
121	18	2178	6	36	216
124	11	1364	9	81	729
129	9	1161	14	196	2744
135	7	945	20	400	8000
140	3	420	25	225	5625
144	1	144	29	841	24389
	$n = 123$	$\Sigma 14170$		$\Sigma = 4121$	$\Sigma = -17435$

В первой колонке выписываются все значения вариантов (x_i) по возрастанию, начиная от минимального значения. Во второй колонке – количество вариантов в классе, называемое **частотой** (f). Двойной ряд чисел, отражающий распределение вариантов по классам, называют **вариационным рядом**.

$$n = \sum f, \quad n = 123$$

Основной параметр вариационного ряда – **среднее арифметическое** ($\bar{x}$), которое определяется по формуле:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad \bar{x} = 115$$

Среднее арифметическое является той величиной, которая меньше любой другой отличается от всех варьирующих величин, оно является коллективным портретом совокупности.

Вторым основным параметром вариационного ряда является **стандартное отклонение**. Обозначают его σ и определяют по формуле:

$$s = \pm \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad \sigma = \pm 11,9$$

для нахождения стандартного отклонения необходимо из каждой вариации вычесть среднее арифметическое, которое является своеобразным стандартом, разность возвести в квадрат и сумму квадратов разделить на **n-1**, называемое **числом степеней свободы**, затем вновь сделать величину линейной, т.е. извлечь квадратный корень.

Стандартное отклонение показывает, насколько в среднем каждая вариация отличается от среднего арифметического, а знак «±» показывает, что есть значения как больше, так и меньше, чем среднее.

При изучении модификационной изменчивости необходимо ответить на вопрос: «Насколько выборка (случайно отобранная группа) соответствует генеральной совокупности?». Поэтому нужно определить пределы, в которые будут укладываться средние арифметические всех выборок, сколько бы их не взяли из генеральной совокупности. Такая величина называется **ошибкой средней арифметической**, она обозначается m и вычисляется по формуле:

$$m = \frac{s}{\sqrt{n - 1}}$$

$$m = 1,08$$

ошибкой ее назвали не случайно, т.к. она показывает, насколько ошибаются, считая, что среднее арифметическое выборки равно среднему арифметическому генеральной совокупности.

Значит, среднее арифметическое генеральной совокупности лежит в пределах $\bar{x} \pm m$.

Вариационный ряд можно изобразить графически в виде **гистограммы** или линейной кривой – **полигона распределения**. Для этого, используя систему координат, строят график: на горизонтальной оси (оси абсцисс) откладывают значения вариаций (x_i), а на вертикальной (оси ординат) – частоты (f). Если частоту каждой варианты изобразить в виде столбика, получают ступенчатую кривую, называемую **гистограммой**. Если в местах пересечения перпендикуляров, восстановленных из значений вариантов, с горизонтальными линиями, проведенными из соответствующих им частот, ставят точки,

которые затем соединяют ломаной линией, то получают **вариационную кривую**.

На графике хорошо видно, что среднее значение признака встречается чаще всего, а вариации, значительно отличающиеся от средней, встречаются очень редко. Поэтому необходимо оценить отношение отдельных вариантов к средней арифметической. Такая оценка проводится при помощи **нормированного отклонения (t)**. Показатель нормированного отклонения удобен как для оценки отдельных вариантов, так и при характеристике сравниваемых групп.

$$t = \frac{x - \bar{x}}{s}$$

Оказывается, в большинстве случаев, максимальная и минимальная варианты отстоят от среднего арифметического приблизительно на 3σ . И чем больше выборка, тем точнее это правило. Иными словами, пределы модификационной изменчивости определяются $\bar{x} \pm 3\sigma$ - **правило трех сигм**.

Задание на СРС:

1. Построить вариационную кривую по данным лабораторной работы.
2. Решить 5 задач по определению параметров модификационной изменчивости.

Литература:

1. Алферова, Г. А. Генетика: учебник для вузов / Г. А. Алферова, Г. П. Подгорнова, Т. И. Кондаурова; под редакцией Г. А. Алферовой. — 3-е изд., испр. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2021. — 200 с.
2. Инге-Вечтомов, С. Г. Генетика с основами селекции: учеб. для студентов высш. учеб. заведений / Сергей Георгиевич; С. Г. Инге-Вечтомов. - 2-е изд. - СПб.: Издательство Н-Л, 2010.

Лабораторная работа №20

Тема: Генетическая детерминация признаков человека

Цель работы: составление «генетического портрета» индивида

Задачи:

2. Рассмотреть генетический контроль некоторых признаков человека.
3. Научиться применять теоретические знания для определения генетических основ детерминации признаков человека.
4. Наверное, вы не раз удивлялись, почему все люди так не похожи друг на друга, даже близкие родственники не выглядят точной копией друг друга.
5. Это связано с большим разнообразием существующих характерных черт в человеческой популяции и новыми их сочетаниями, образующимися в процессе репродукции человека.

Ход работы:

В ходе выполнения лабораторной работы нужно заполнить следующую таблицу по всем пунктам:

Таблица 6

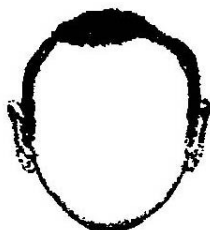
признак	Ген от мамы	Ген от папы	Генотип	Фенотип

Например, по пункту 1 таблица может выглядеть следующим образом:

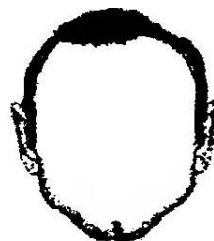
признак	Ген от мамы	Ген от папы	Генотип индивида	Фенотип индивида
1. Форма лица	г	г	гг	квадратная

1 Форма лица:

круглая (RR, Rr)



квадратная (rr)



2. Очертания подбородка:



очень выдающийся (VV, Vv)



менее выдающийся (vv)

3. **Форма подбородка** наследуется только в том случае, если подбородок очень выдающийся, и не наследуется, если менее (т.к. здесь результат супрессии генов, называемый эпистазом):

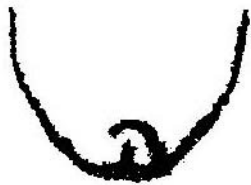


круглый (RR, Rr)



квадратный (rr)

4. **Ямочка на подбородке:**



присутствует (AA, Aa)



отсутствует (aa)

5. **Цвет кожи** - определяется полимерными генами A_1 , A_2 , A_3 , которые обладают аддитивным эффектом.

Чем больше доминантных аллелей присутствует в геноме, тем интенсивнее проявляется пигментация кожи:

6 доминантных аллелей – очень черная кожа

5 доминантных аллелей – очень коричневая кожа

4 доминантных аллеля – темно-коричневая кожа

3 доминантных аллеля – коричневая кожа

2 доминантных аллеля – светло-коричневая кожа

1 доминантный аллель – смуглая

0 доминантных аллелей – белая.

6. **Цвет волос**, подобно цвету кожи, определяется 4-мя полимерными генами.

8 доминантных аллелей – черные волосы

7 доминантных аллелей – очень коричневые волосы

6 доминантных аллелей – темно-каштановые волосы

5 и т.д...

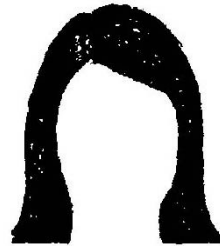
8. Тип волос:



курчавые (DD)

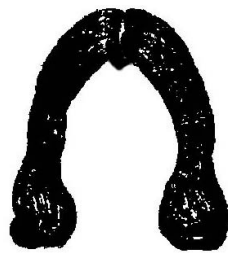


вьющиеся (Dd)



прямые (dd)

9. Волосы на лбу сходятся:



есть признак (KK, Kk)



нет признака (kk)

10. Цвет бровей:

очень темный (HH), темный (Hh), светлый (hh)

Помните, что цвет бровей может быть иным, чем цвет волос.

11. Толщина бровей:

густые (GG, Gg)



тонкие (gg)



12. Расположение бровей:



не соединяются (NN, Nn)



соединяются (nn)

13. Цвет глаз.

Складывается при комплементарном взаимодействии двух неаллельных генов, один из которых отвечает за количество пигмента меланина (АА – много и Аа – мало меланина, аа – нет пигмента), а второй – за толщину пигментного слоя (ВВ – толстый слой, bb – тонкий слой).

ААВВ- черные глаза;
 АаВВ- темно-карие глаза;
 ааВВ- серые глаза;
 ААbb карие глаза;
 Аabb зеленые глаза;
 аabb голубые глаза.

14. Расстояние между глаз:

близко посаженные(ТТ) среднее расстояние (Тt) широко расставленные(tt)



15. Размер глаз:



большие (JJ)

средние (Jj)

маленькие (jj)16.

Форма глаз:



удлиненная (АА, Аа)

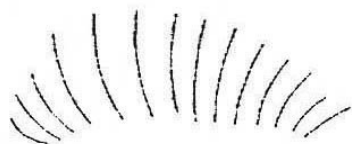
круглая (аа)17. Расположение глаз:



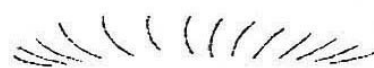
горизонтальное (НН, Нн)

угол поднят кверху (hh)

18. Ресницы:



длинные (LL, Ll)



короткие (ll)

19. Размер рта:



большой (MM)



средний (Mm)



маленький (mm)

20. Толщина губ:

полные (LL, Ll)



тонкие (ll)



21. Выпуклость губ:

очень выпуклые (НН)



умеренно выпуклые (Нн)



не выпуклые (hh)



22. Ямочки на щеках:



есть (DD, Dd)



нет (dd)

23. Размер носа:



большой (NN)



средний (Nn)



маленький (nn)

Форма носа:



круглый (QQ, Qq)



заостренный (qq)

25. Форма ноздрей:



круглые (RR, Rr)



узкие (rr)

26. Мочка уха:



свободная (FF, Ff)



сросшаяся (ff)

27. Дарвиновская точка:



есть (DD, Dd)

нет (dd)

28. Ямка на мочке:



есть (PP, Pp)



нет (pp)

29. Волосы на ушах:

волосы на ушах – признак, сцепленный с полом, локализуется в Y-хромосоме и проявляется только у мужчин.



есть



нет

30. Веснушки на щеках:



есть (FF, Ff)



нет (ff)

31. Веснушки на лбу:

есть (ZZ, Zz)

нет (zz)



Задание на СРС:

Составьте схему родословной по каждому признаку и укажите генотипы всех членов семьи.

Литература:

1. Маскаева, Т. А. Генетика человека: учебное пособие / Т. А. Маскаева, М. В. Лабутина, Н. Д. Чегодаева. — Саранск: МГПИ им. М.Е. Евсевьева, 2019.
2. Нахаева, В. И. Общая генетика. Практический курс: учебное пособие для вузов / В. И. Нахаева. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2021. — 276 с.
3. Рубан, Э. Д. Генетика человека с основами медицинской генетики: учебник / Э. Д. Рубан; отв. ред. Д. В. Волкова. — Ростов-на-Дону: Феникс, 2020. — 319 с.

ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ЛАБОРАТОРИИ

1. Категорически запрещается пробовать какие-то вещества на вкус. Нюхать вещества и выделяющиеся газы следует издали, помахивая рукой от сосуда к себе.
2. При нагревании жидкости пробирку необходимо держать отверстием от себя и от других, находящихся рядом.
3. Сосуды с реактивами после употребления нужно закрывать пробками и ставить на прежние места.
4. Не выливать в раковины остатки кислот, щелочей и сильно пахнущих жидкостей, сливать их в соответствующие сливы.
5. Не бросать в раковину бумагу, песок и другие твердые вещества.
6. Держать дальше от огня легковоспламеняющиеся вещества.
7. После выполнения опыта вымыть посуду, привести в порядок рабочее место.
8. Во всех случаях уделяйте внимание защита глаз! Помните, что для роговицы глаз особенно опасны щёлочь и аммиак.

МЕРЫ ПЕРВОЙ ПОМОЩИ ПРИ НЕСЧАСТНЫХ СЛУЧАЯХ В ЛАБОРАТОРИИ

Первая помощь должно оказываться быстро и квалифицированно.

1. При порезах стеклом необходимо убедиться в отсутствии в ране осколков стекла, а затем смазать её края спиртовым раствором йода. После этого в случае необходимости накладывается повязка из стерильного бинта. При термических ожогах быстро сделать примочку этиловым спиртом или раствором марганцовокислого калия и покрыть обожжённое место мазью от ожогов, перевязать стерильной повязкой.
2. При термических ожогах 3 степени после оказания первой помощи обратиться к врачу.
3. В случае химического ожога кожи кислотой или щелочью быстро обмыть пораженное место большим количеством воды (мыть под краном не менее пяти минут), а затем: при ожоге кислотами обработать 2 %- ным раствором пищевой соды или слабым раствором нашатырного спирта; при ожоге щелочами - обработать 1%- ным раствором уксусной кислоты. После нейтрализации кислоты или щелочи кожу обмыть водой, обработать дезинфицирующим средством: спиртом, раствором йода, раствором марганцовки, покрыть мазью от ожогов и перевязать стерильной повязкой.
4. При попадании кислоты или щелочи в глаза необходимо промыть их большим количеством воды, а затем: промыть 0,5%-ным раствором пищевой соды при попадании кислоты; при попадании щелочи - 1 %-ным раствором борной кислоты и вызвать врача.

ЭЛЬВИРА МАНСУРОВНА ГАЛИМОВА
ГУЗЕЛЬ ФАНИЛЕВНА ГАЛИКЕЕВА
ОКСАНА ВЛАДИМИРОВНА ГУМЕРОВА

ГЕНЕТИКА
С ОСНОВАМИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ
БИОЛОГИИ

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

\

МИНПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИИ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М. АКМУЛЛЫ»**

**Э.М.Галимова
Г.Ф.Галикеева
О.В. Гумерова**

**ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ
ПО ГЕНЕТИКЕ С ОСНОВАМИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ**

Уфа 2022

УДК
ББК
Г

Галимова, Э.М., Галикеева, Г.Ф., Гумерова, О.В. Генетика с основами молекулярной биологии: лабораторный практикум / Э.М.Галимова, Г.Ф.Галикеева, О.В. Гумерова. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2022. – 78 с.

Пособие по «Генетике с основами молекулярной биологии» предназначен для студентов направления «Биология».

Лабораторный практикум составлен в соответствии с государственным образовательным стандартом высшего образования по направлению подготовки 06.03.01 Биология, рабочей программой дисциплины и предназначена для индивидуальной работы студентов по дисциплине «Общая биология», «Генетика и селекция» и «Молекулярная биология».

Лабораторный практикум является учебным пособием по выполнению лабораторных работ по курсу «Общая биология», «Генетика и селекция», «Молекулярная биология». Разработанная в соответствии с программой курса, она содержит задания, позволяющие закрепить и структурировать теоретический и практический материал, проработанный на аудиторных занятиях.

Рецензенты:

Т.В. Викторова, д-р.мед.н., профессор (БГМУ);

Л.А. Гайсина, д-р. Биол. Н., профессор (БГПУ им.М.Акмуллы).

© Издательство БГПУ, 2022
© Авторы БГПУ, 2022

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Лабораторный практикум по генетике с основами молекулярной биологии составлен на основе требований ФГОС по направлению подготовки 06.03.01 «Биология» и направлена на формирование:

знаний

- общих черт строения и функционирования живых существ; способов размножения организмов, их формах и биологическом значении;
- принципов клеточной организации биологических объектов, биофизических и биохимических основ мембранных процессов и молекулярных механизмов жизнедеятельности;
- законов наследования;
- цитологических законов наследования;
- особенностей наследования признаков, сцепленных с полом;
- фундаментальных принципов регуляции основных молекулярно-генетических процессов: репликации, транскрипции и трансляции;
- о специфичности структуры основных макромолекул (нуклеиновых кислот и белков), их функционирования и взаимосвязи, взаимодействий с клеточными компонентами;
- структуры геномов про- и эукариот, вирусов, фагов;
- о тонкой структуре гена и методах ее изучения;
- принципов и стратегий генетической инженерии, возможностей ее использования в молекулярной биологии;
- механизмов и последствий влияния наследственных факторов, а также влияния алкоголя, наркотиков, никотина и загрязнителей окружающей среды на процесс развития человека и продолжительность его жизни.

умений и навыков

- проведения скрещивания и анализа потомства;
- проведения генетического анализа наследования признаков;
- определения частот аллелей и генотипов в популяции;
- определения основного числа полиплоидного ряда;
- решения ситуационных генетических задач;
- применения знаний принципов клеточной организации биологических объектов, биофизических и биохимических основ, мембранных процессов и молекулярных механизмов жизнедеятельности;
- презентовать полученные результаты: в лабораторных тетрадах, мультимедийно и в виде докладов;
- применения знаний принципов структурной и функциональной организации биологических объектов;

- использования основных физиологических методов анализа и оценки состояния живых систем практическими навыками анализа родословных;

- планирования и постановки скрещиваний и методами анализа результатов скрещивания живых существ;

- работы с микроскопом и микропрепаратами;

- приготовления временных препаратов для световой микроскопии;

- методологии генетического анализа и проведения генетических исследований с любым объектом;

- использования экспериментальных моделей на молекулярном, клеточном и субклеточном уровне;

- лабораторной работы с молекулярно-биологическими объектами;

- анализа и демонстрации полученных данных.

Лабораторный практикум предназначен для студентов направления 06.03.01 «Биология» всех профилей подготовки и преследует цель помочь студентам систематизировать учебный материал, выработать четкость и ясность изложения. Практикум содержит в себе задания, выполнение которых способствует систематическому и более глубокому усвоению материала.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ	6
Лабораторная работа № 1. Митоз в клетках корешка лука	6
Лабораторная работа №2. Приготовление временных препаратов политенных хромосом из слюнных желез комара-звонца <i>Chironomidae</i>	9
Лабораторная работа №3. Изучение мейоза в пыльниках цветковых растений	11
II. ДНК КАК НОСИТЕЛЬ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ	13
Лабораторная работа №4. Моделирование структуры ДНК	14
Лабораторная работа №5. Ознакомление с основными приборами и оборудованием	15
Лабораторная работа №6. Выделение ДНК из биологического материала	20
Лабораторная работа №7. Определение концентрации и качества препаратов нуклеиновых кислот	23
Лабораторная работа №8. Постановка полимеразной цепной реакции	24
Лабораторная работа №9. Анализ ДНК методом электрофореза в агарозном геле	26
Лабораторная работа № 10. Матричные процессы в клетке	28
III. МЕНДЕЛЕВСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ	31
Лабораторная работа №11. Моногибридное скрещивание узамбарской фиалки	33
Лабораторная работа №12. Статистический характер расщепления. Метод χ^2	35
Лабораторная работа №13. Дрозофила как объект генетических исследований. Моногибридное скрещивание у <i>Drosophila melanogaster</i>	39
IV. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НЕАЛЛЕЛЬНЫХ ГЕНОВ	43
Лабораторная работа №14. Физиолого-генетические аспекты проявления антоциановых окрасок у растений	47
V. ЗАКОНОМЕРНОСТИ СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ	49
Лабораторная работа №15. Изучение механизма кроссинговера	49
VI. СЦЕПЛЕННОЕ С ПОЛОМ НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКОВ	51
Лабораторная работа №16. Наследование мутации «белые глаза» у <i>Drosophila melanogaster</i>	52
Лабораторная работа №17. Определение полового X-хроматина	55
VII. ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ЕЁ ТИПЫ	57
Лабораторная работа №18. Анализ генных мутаций по типу множественного аллелизма	58
Лабораторная работа №19. Модификационная изменчивость	62
Лабораторная работа №20. Генетическая детерминация признаков человека	67
Техника безопасности при работе в лаборатории	76
Меры первой помощи при несчастных случаях в лаборатории	77

РАЗДЕЛ I. ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

Клеточное деление относится к числу важнейших биологических процессов, так как с ним связана передача наследственной информации. Преемственность организмов в ряду поколений обеспечивается за счет явления **наследственности** как способности организмов воспроизводить себе подобных и осуществляется в процессе их размножения.

В природе известны два способа размножения: бесполое, когда две новых клетки образуются из одной исходной соматической клетки, и половое, при котором две половые клетки соединяются и дают начало новому организму. Кроме того, известно также вегетативное размножение, принципиально не отличающееся от бесполого, поскольку в его основе также лежит деление соматических клеток. В этом случае новый организм развивается из группы специализированных клеток (усы, клубни, луковички, корневища и т.д.).

При всех способах размножения связующим звеном двух поколений является клетка.

Лабораторная работа №1

Тема: Митоз в меристематической ткани корня лука

В основе бесполого и вегетативного деления организмов лежит процесс **митоза** – непрямого деления клетки, в результате которого из одной исходной материнской клетки образуются две дочерние, полностью идентичные материнской. С генетической точки зрения митоз играет важную роль, так как при этом происходит точное распределение генетической информации между дочерними клетками, что обеспечивает наследственную преемственность организмов и сохранение постоянства вида.

Митоз включает в себя четыре этапа – фазы митоза, которые универсальны для всех меристематических клеток: профаза, метафаза, анафаза и телофаза. Эти фазы митоза совместно с интерфазой (период от одного деления до другого) составляют **митотический цикл**.

Самая продолжительная часть митотического цикла – интерфаза, поскольку в это время клетка проходит сложную и длительную биохимическую подготовку к делению. В интерфазе различают три периода: **предсинтетический G_1** (ростовые процессы, интенсивное накопление различных веществ и энергии), **синтетический S** (синтез ДНК, количество ДНК в клетке удваивается), **постсинтетический G_2** (продолжение синтеза РНК и других веществ, накопление энергии для последующего митоза).

Затем клетка приступает непосредственно к митотическому делению. В **профазе** ядро увеличивается и становятся отчетливо видны хромосомные

нити. Каждая хромосома после дупликации ДНК в интерфазе состоит из двух сестринских хроматид, соединенных общим участком – центромерой. В клетке формируется специальный аппарат деления – ахроматиновое веретено. Исчезает оболочка ядра и ядрышка, кариоплазма и цитоплазма смешиваются. Начинается **метакинез** – движение хромосом в экваториальную площадь за счет нитей веретена деления, прикрепленных к центромерным участкам. Клетка вступает в стадию **метафазы**. На этой стадии хромосомы имеют самую малую длину и максимальную толщину и лежат в одной плоскости, образуя **экваториальную** или **метафазную пластинку**. Каждая хромосома, будучи перпендикулярно прикрепленной к ахроматиновому веретену, состоит из двух сильно спирализованных и параллельно расположенных хроматид. Следующая фаза митоза – **анафаза** – начинается с разделения центромерного участка, благодаря чему хромосома делится на две хроматиды. Сестринские хроматиды расходятся к противоположным полюсам клетки. В конце анафазы у каждого полюса бывает столько хромосом, сколько их было в клетке в профазе. В **телофазе** происходят те же процессы, что и в профазе, но в обратном порядке. Хромосомы на каждом полюсе испытывают деспирализацию, ахроматиновое веретено разрушается, восстанавливается ядерная оболочка и появляются ядрышки, происходит **цитокенез** (разделение цитоплазмы на две равные части).

После завершения митотического цикла клетки переходят в следующий цикл или в состояние покоя. Если новый митотический цикл начинается сразу после окончания предыдущего, то он совпадает с жизненным (клеточным) циклом.

Теоретические вопросы

1. Клеточный цикл.
2. Фазы митотического цикла.
3. Фазы митоза и их характеристика.
4. Биологическое значение митоза.
5. Генетическое значение митоза.
6. Митоз как способ образования гамет.

Цель работы: на самостоятельно приготовленном препарате корешка лука убедиться в наличии фаз митотического деления. Изучить поведение хромосом на всех фазах клеточного цикла

Задачи:

1. Освоить технику приготовления микропрепаратов для изучения митоза у растительных объектов.
2. Рассмотреть спирализацию и деспирализацию хромосом в клеточном цикле.

3. Определить митотическую активность растительной ткани и продолжительность отдельных фаз митотического цикла.

Оборудование: микроскопы, препаровальные иглы, скальпель, спиртовка, предметные и покровные стекла, фильтровальная бумага, спички, таблица «Митоз», репчатый лук.

Реактивы: ледяная уксусная кислота, 70% спирт, раствор соляной кислоты, краситель (ацетолакармин, ацетоорсеин, реактив Фельгена, метиленовый синий), уксусно-спиртовый фиксатор.

Ход работы:

1. Проращивание корешков лука.

2. **Фиксирование корешков лука** (необходимо провести накануне лабораторной работы). Отрежьте скальпелем самые кончики корешков лука длиной 0,5-0,7 см. Поместите отрезанные корешки в фиксатор (ледяная уксусная кислота и спирт в соотношении 1:3). Поставьте их в темное место на 24 часа.

3. **Окрашивание корешков лука.** Красителем клеток корешков лука могут служить ацетокармин, ацетоорсеин или метиленовый синий. Для приготовления ацетоорсеина в 45 мл ледяной уксусной кислоты, доведенной до кипения, добавляют 1г орсеина. Раствор необходимо охладить и добавить к нему 55 мл дистиллированной воды. Затем положите один корешок на предметное стекло и нанесите на него 2-3 капли красителя. Слегка подогрейте препарат с красителем над спиртовкой. Повторите 2-3 раза. Для этого капните 2-3 капли с одной стороны и оттяните воду с красителем фильтровальной бумагой с другой стороны препарата.

4. **Приготовление микропрепарата.** Кончик корешка лука окрашен темнее, чем вся остальная часть. Отрежьте скальпелем этот кончик и положите на предметное стекло. Осторожно накройте покровным стеклом. Тупым концом препаровальной иглы сделайте с небольшим нажимом круговые движения по покровному стеклу над кончиком корешка. Препарат, приготовленный таким образом, называется давленным.

5. **Изучение фаз митоза.** Установите препарат под микроскопом. Найдите делящиеся клетки на разных стадиях митоза. Крупно зарисуйте контуры клеток и затем расположите в них наблюдаемые структуры.

Интерфаза. Ядро в клетке округлое, с четкими границами. В нем видно одно или два ядрышка. Хроматин в виде глыбок заполняет кариоплазму.

Профаза. Ядро заметно увеличивается, в нем исчезают ядрышки. В кариоплазме наблюдается как бы клубок, составленный из тонких нитей – хромосом. В конце профазы оболочка разрушается и хромосомы выходят в цитоплазму.

Метафаза. Хромосомы заметно укорачиваются и утолщаются, приобретая вид сильно изогнутых палочковидных структур. Постарайтесь найти клетку, в которой хромосомы располагаются в экваториальной плоскости, образуя звезду.

Анафаза. Сестринские хромосомы перемещаются к полюсам, поэтому в клетке можно увидеть фигуры, напоминающие две звезды. Обратите внимание, что хромосомы имеют вид шпильки. Центромеры направлены к полюсам, а плечи расходятся под углом друг к другу.

Телофаза. У противоположных полюсов клетки видны рыхлые клубки из частично деспирализованных хромосом. В центре клетки начинает формироваться перегородка, которая постепенно делит материнскую клетку на две дочерних.

6. Зарисуйте клетки на различных стадиях митоза и в интерфаза. На рисунке должны быть обозначены: ядро, цитоплазма, хроматин (интерфаза); хромосомы (профаза); материнская звезда (метафаза); дочерние звезды (анафаза); ядра дочерних клеток (телофаза).

7. **Определение частоты митотического индекса.** Определите общее число клеток, находящееся в поле зрения. Определите среди этих клеток число клеток, находящихся на любой стадии митоза (профаза, метафаза, анафаза, телофаза). Рассчитайте частоту митотического индекса по формуле:

$$M = [m/N] \times 100\%,$$

где M – частота митотического индекса; m – число клеток, делящихся митозом; N – общее число клеток.

8. Таким же образом определить профазный и метафазный индексы.

9. Сформулируйте и запишите общие выводы по лабораторной работе.

Литература:

1. Мандель, Б. Р. Основы современной генетики: учебное пособие для учащихся высших учебных заведений (бакалавриат) / Б. Р. Мандель. – Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2016. – 334 с.
2. Ченцов, Ю. С. Введение в клеточную биологию: [учеб. для студентов ун-тов] / Ю. С. Ченцов. - Изд. 4-е; перераб. и доп., стер. - Москва: Альянс, 2015.

Лабораторная работа №2

Тема: Приготовление временных препаратов политенных хромосом из слюнных желез комара-звонца (*Chironomidae*)

Теоретические вопросы

1. Гигантские хромосомы.
2. Механизм образования гигантских хромосом.
3. Биологическая роль политении.

Цель работы: самостоятельно приготовить препарат политенных хромосом слюнных желез комара-звонца, убедиться в наличии гигантских хромосом.

Задачи:

1. Освоить технику приготовления микропрепаратов для изучения полиении у животных объектов.
2. Рассмотреть гигантские хромосомы в слюнных железах.
3. Определить морфологию полиенных хромосом и связать с их функциональным значением для насекомых.

Оборудование и материалы: бинокляр, микроскоп, спиртовка, ванночка, предметные и покровные стекла, пинцет, лезвие, иглы препаровальные, лезвие, вата.

Реактивы: 2% ацетокармин, 96% этиловый спирт.

Ход работы:

1. Предметные стекла обезжирить смоченным в этиловом спирте ватным тампоном
2. Предметное стекло поместить под бинокляр и зафиксировать зажимами
3. На сухое обезжиренное стекло поместить личинку комара звонца
4. Под бинокляром определить положение головы и хвоста. Найти 2-й и 3-й сегменты со стороны головы
5. Придерживая голову пинцетом, сделать с помощью лезвия надрез между 2-м и 3-м сегментами и сразу же отделить переднюю часть от остального тела
6. Препаровальной иглой аккуратно извлечь слюнную железу. Слюнные железы комара-звонца представляют собой парные образования, похожие на виноградную гроздь, расположенные по обе стороны пищевода
7. Удаляем части тела с предметного стекла. На стекле оставить слюнные железы в собственной гемолимфе
8. Проверить целостность слюнной железы под микроскопом при 4-кратном увеличении. На препарате хорошо видны секреторные клетки с ядрами.
9. Провести окрашивание и фиксацию препарата:
 - 9.1. на предметное стекло с слюнной железой капнуть 5-7 капель 2% ацетокармина
 - 9.2. нагревать препарат на пламени спиртовки в течении 2-х минут, не допуская перегревания и высыхания красителя
10. Накрыть препарат сухим покровным стеклом так, чтобы не занести пузырьков воздуха. Поверх стекла положить фильтровальную бумагу и слегка надавить пальцем
11. Рассмотреть и зарисовать окрашенный препарат под микроскопом при 4-кратном увеличении объектива. На препарате хорошо видны секреторные клетки с ядрами. Зарисовать общий вид слюнной железы комара-звонца
12. Перевести микроскоп на 10-кратное увеличение объектива, рассмотреть и зарисовать ядра секреторных клеток слюнной железы
13. Перевести микроскоп на 40-кратное увеличение объектива, рассмотреть и зарисовать в ядрах ленточки полиенных хромосом с эухроматиновыми и гетерохроматиновыми районами
14. Сделать выводы по лабораторной работе

Литература:

1. Мандель, Б. Р. Основы современной генетики: учебное пособие для учащихся высших учебных заведений (бакалавриат) / Б. Р. Мандель. – Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2016. – 334 с.
2. Ченцов, Ю. С. Введение в клеточную биологию: [учеб. для студентов ун-тов] / Ю. С. Ченцов. - Изд. 4-е; перераб. и доп., стер. - Москва: Альянс, 2015.

Лабораторная работа №3

Тема: Изучение мейоза в пыльниках цветковых растений

Большинство высших растений размножается половым путем. Половое размножение связано с образованием гаплоидных клеток и с последующим слиянием мужских и женских гамет. Для образования гаплоидных клеток существует механизм, при помощи которого число хромосом уменьшается вдвое, т.е. клетка из диплоидного состояния переходит в гаплоидное. Этот механизм осуществляется во время особого деления – **мейоза**. Его определяют как специальный тип деления дифференцирующихся половых клеток или спор.

Мейоз состоит из двух последующих делений: **редукционного** (уменьшительного) и **эквационного** (уравнительного). Они неравноценны, хотя и имеют одинаковые фазы: профазу, метафазу, анафазу и телофазу. В ходе этих делений из одной диплоидной клетки образуется четыре гаплоидные клетки, а хромосомы удваиваются только один раз. В сравнении с митозом мейоз имеет ряд отличительных особенностей. Одна из них заключается в том, что 99,7% ДНК синтезируется в предмейотической интерфазе (в результате чего каждая хромосома становится дихроматидной), а остальное её количество образуется в профазе редукционного деления мейоза – профазе I. В эту же фазу мейоза происходит конъюгация (временное сближение) гомологичных хромосом, приводящая к образованию гомологичных пар хромосом – бивалентов. В анафазу I, таким образом, к полюсам клетки расходятся члены каждой пары гомологичных хромосом. На каждом полюсе оказывается по одному гомологу от пары, а в совокупности – гаплоидное число дихроматидных хромосом. Процесс расхождения каждой пары хромосом протекает независимо от других, что создает возможность различной комбинации хромосом исходной диплоидной клетки в гаметах.

В профазе первого мейотического деления происходит ещё один важный процесс – **кроссинговер** – обмен гомологичными участками несестринских хроматид гомологичных хромосом. Кроссинговер приводит к существенному изменению их генного состава, в результате чего хроматиды оказываются комбинированными, что создает возможность наследственного варьирования в потомстве.

Таким образом, благодаря мейозу клетки переходят с диплоидного уровня на гаплоидный и, кроме того, обеспечивается наследственная

вариабельность гамет за счет различных комбинаций хромосом, а также процесса кроссинговера.

Цель работы: изучить фазы и стадии мейоза во время формирования половых клеток у растений.

Задачи:

1. Очертить круг объектов, наиболее удобных для изучения мейоза.
2. Научиться готовить временные микропрепараты для наблюдения мейотического деления.
3. Идентифицировать с использованием таблиц (инструктивных карточек, фотографий) 2-3 фазы мейоза.
4. Сравнить редукционное и эквационное деление мейоза с митозом.

Биологический материал: зафиксированные уксусным алкоголем (время фиксации 10-12 ч) бутончики лилейника, лука, люпина, традесканции, хранившиеся в 70 % спирте.

Оборудование: микроскопы, препаровальные иглы, предметные и покровные стекла, пипетки, полоски фильтровальной бумаги, спички, пинцеты, фарфоровые чашечки для раздачи растительных объектов, чашки Петри.

Реактивы: краситель (ацетокармин).

Ход работы:

1. Возьмите бутон, с помощью препаровальной иглы и пинцеты вычлените из него пыльник длиной около 2 мм.
2. Поместите пыльник в центр предметного стекла и тщательно измельчите до порошкообразного состояния кончиком препаровальной иглы.
3. На измельченный пыльник капните 2-3 капли красителя и для предотвращения испарения красителя закрыть препарат чашкой Петри.
4. Окрашивать 8-10 минут.
5. Накрыть объект покровным стеклом. Для однослойного расположения клеток археспория следует осторожно надавить на покровное стекло концом спички.
6. Излишки красителя удалить полоской фильтровальной бумаги. Ни в коем случае нельзя вытягивать краситель из-под покровного стекла.
7. Поместить готовый микропрепарат под бинокляр микроскопа.
8. Пользуясь инструктивной карточкой стадий мейоза в пыльниках лука, найти несколько фаз деления на своих микропрепаратах. Зарисовать в тетрадах, дополнив подписями.
9. Заполнить таблицу 3 «Отличие фаз редукционного деления мейоза от фаз мейоза».

Отличие фаз редукционного деления мейоза от фаз мейоза

Фаза митоза	Событие	Фаза мейоза I	Событие
Профаза		Профаза I	
Метафаза		Метафаза I	
Анафаза		Анафаза I	
Телофаза		Телофаза I	

Литература:

1. Мандель, Б. Р. Основы современной генетики: учебное пособие для учащихся высших учебных заведений (бакалавриат) / Б. Р. Мандель. – Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2016. – 334 с.
2. Ченцов, Ю. С. Введение в клеточную биологию: [учеб. для студентов университетов] / Ю. С. Ченцов. - Изд. 4-е; перераб. и доп., стер. - Москва: Альянс, 2015.

РАЗДЕЛ II. ДНК КАК НОСИТЕЛЬ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ

Открытие нуклеиновых кислот связано с именем Фридриха Мишера, который выделил ядра из гнойных клеток, и показал, что в материале ядер содержится необычное соединение, которое он назвал "нуклеином", известное теперь как нуклеиновая кислота. Дальнейшие исследования показали, что одним из лучших источников нуклеиновой кислоты оказались вилочковая железа (тимус) и дрожжи. Продуктами гидролиза тимонуклеиновой кислоты являются азотистые основания: аденин, гуанин, тимин и цитозин, сахар D-дезоксирибоза и фосфорная кислота. Позднее тимонуклеиновую кислоту стали называть дезоксирибонуклеиновой кислотой, или ДНК.

Молекулы ДНК представляют собой биополимер, мономером которого является нуклеотид. В состав отдельного нуклеотида входит одно из четырех азотистых оснований – аденин, гуанин, тимин или цитозин, – пятиуглеродный сахар дезоксирибоза и остаток фосфорной кислоты. Два азотистых основания – аденин и гуанин – относятся к классу пуринов, а два других – тимин и цитозин – к пиримидинам.

Азотистое основание при помощи гликозидной связи присоединяется к первому углеродному атому дезоксирибозы. Соединения, включающие азотистое основание и сахар пентозу, называются нуклеозидами. Нуклеозиды, содержащие сахар дезоксирибозу, носят название дезоксиаденозин, дезоксигуанозин, дезоксицитидин и тимидин.

Остаток фосфорной кислоты эфирной связью присоединяется либо к третьему, либо к пятому углеродному атому дезоксирибозы. Нуклеозид с присоединенным остатком фосфорной кислоты будет называться нуклеотидом.

Лабораторная работа №4

Тема: Моделирование структуры ДНК

Цель работы: провести моделирование структуры ДНК с целью закрепления знаний о строении нуклеотидов, строении нуклеиновых кислот и процессе образования водородной связи.

Задачи:

1. Опираясь на схему 1 и 2 с помощью пластилина смоделировать цепочку ДНК, состоящую из 4 нуклеотидов тщательно прописывая каждый атом, причем разные атомы необходимо отмечать разными цветами

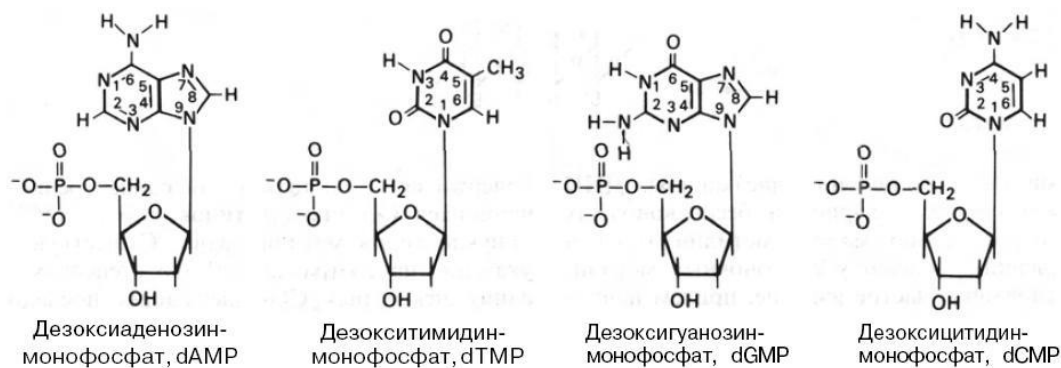


Схема 1. Строение нуклеотидов

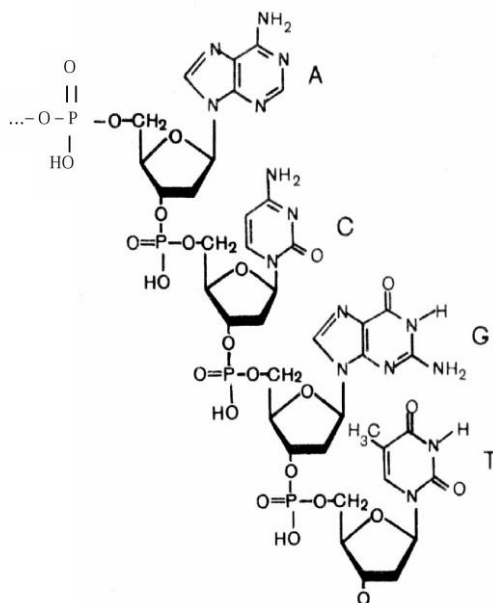


Схема 2. Строение одноцепочечной молекулы ДНК

2. Опираясь на схему 3 с помощью пластилина смоделировать комплементарную цепочку ДНК, обозначив водородные связи прерывистыми линиями.

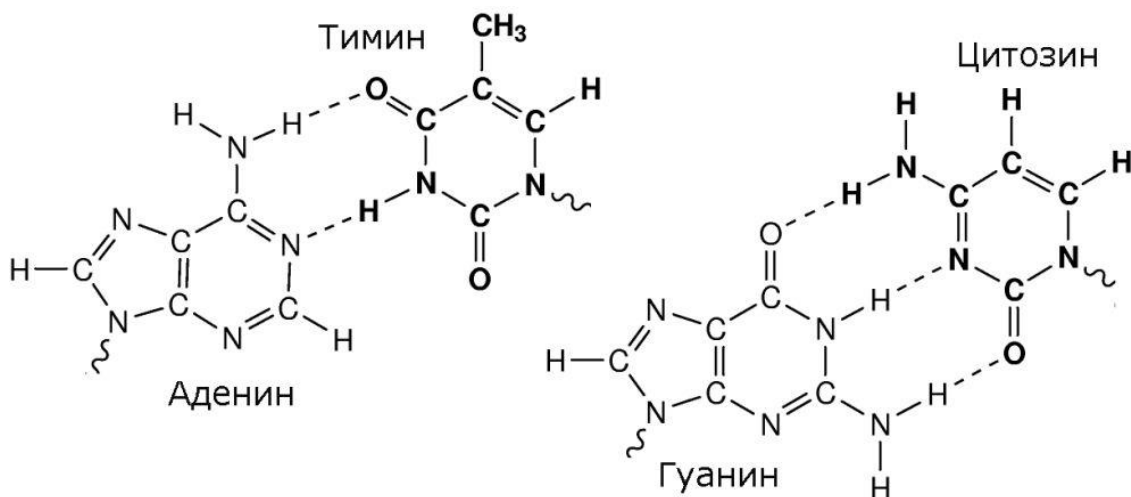


Схема 3. Образование водородной связи между азотистыми основаниями

Задание на СРС:

1) На фрагменте одной нити ДНК нуклеотиды расположены в последовательности:

А–Г–Г–Ц–Ц–Ц–А–Ц–Г–Т–Т–Т

Постройте комплементарную цепочку ДНК

2) Постройте первичную структуру фрагмента ДНК из предыдущего задания.

Литература:

1. Мандель, Б. Р. Основы современной генетики: учебное пособие для учащихся высших учебных заведений (бакалавриат) / Б. Р. Мандель. – Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2016. – 334 с.
2. Молекулярная биология: учебное пособие / О. В. Кригер, С. А. Сухих, О. О. Бабич [и др.]. — Кемерово: КемГУ, 2017. — 93 с.

Лабораторная работа № 5

Тема: Ознакомление с основными приборами и оборудованием

Цель: ознакомиться с основными приборами и оборудованием необходимых для проведения лабораторных работ

Задачи: Используя ниже представленные данные сделайте запись в тетради о целевом назначении каждого прибора, особенностях работы с ним и технике безопасности.

Термоциклер (ДНК-амплификатор, программируемый термостат)

Предназначен для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) и других термоциклических процессов.



Прибор имеет встроенный микрокомпьютер и может программироваться на поддержание определенной температуры в течении заданного времени, переход к другому температурному шагу и повторение температурных циклов необходимое число раз. Программное обеспечение позволяет контролировать состояние прибора, регистрировать процесс амплификации в реальном времени, сохранять и редактировать рабочие программы управления термоциклическими процессами.

Меры безопасности:

1. Перекрывать вентиляционные отверстия;
2. Прикасаться к термоблоку (во избежание ожогов).

Термостат твердотельный

Предназначен для термостатирования микропробирок



Прибор относится к термостатам, в котором рабочий нагревательный модуль выполнен из металла и имеет отверстия для установки микропробирок определенного размера и формы чаще всего 0,5 мл и 1,5 мл и обеспечивает термостатирование в диапазоне температур: от комнатной (или ниже комнатной при наличии функции охлаждения) до 99-120°C.

Меры безопасности: не дотрагиваться до нагревательного модуля (во избежание ожогов).

Камера для горизонтального электрофореза

Предназначен для разделения молекул нуклеиновых кислот, белков и их фрагментов в агарозном геле в постоянном электрическом поле.



В комплект входят: кювета для заливки геля, аппликаторы (гребенки) для формирования лунок в геле. Имеет встроенные электроды и клеммы для подключения к источнику постоянного тока.

Меры безопасности:

1. В кювету для заливки геля нельзя наливать горячий расплав агарозы, во избежание ее деформации.
2. При проведении электрофореза нельзя открывать крышку камеры без предварительного отключения от источника тока.

Камера для вертикального электрофореза



Предназначен для разделения молекул нуклеиновых кислот, белков и их фрагментов в полиакриламидном геле в постоянном электрическом поле.

Электрофорез в полиакриламидном геле имеет большую разрешающую способность по сравнению с агарозным и позволяет различать молекулы ДНК разных размеров с точностью до одного нуклеотида.

В комплект входят специальные камеры различающиеся по:

- количеству гелей (от 1 до 12),
- по размеру геля (от 7 до 20 см),
- по толщине геля (0,75; 1,0; 1,5 мм),
- по количеству образцов на гель (от 1 до 120),
- по требованию к объему буфера (от 200 до 6000 мл).

Подбор нужной камеры следует проводить, исходя из указанных характеристик. Есть модели как со встроенной охлаждаемой ячейкой (теплообменником), так и с возможностью охлаждения в качестве опции. В некоторых моделях с помощью специального модуля возможно выполнение блоттинга в этой же камере. Также есть модели, рассчитанные на загрузку 2-х кассет с гелем одновременно, каждый отсек изолирован друг от друга, и как следствие, тратится меньшее количество буфера. Имеются и многокамерные модели для постановки одновременно до 12 гелей.

Меры безопасности: при проведении электрофореза нельзя открывать крышку камеры без предварительного отключения от источника тока.

Источник постоянного тока

Предназначен для подачи электрического тока к прибору для электрофореза.

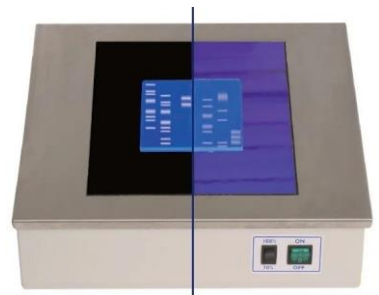


Прибор регулируется в режиме стабилизации напряжения, тока или мощности независимо от изменения сопротивления нагрузки. Как правило, имеет сигнализацию о перегрузке.

Меры безопасности: не включать без нагрузки.

Трансиллюминатор

Предназначен для подсветки геля после электрофореза светом определенного спектра и визуализации фрагментов нуклеиновых кислот и белков.



Конструкция прибора обеспечивает равномерную освещенность, а чрезвычайно малый прогрев светофильтра позволяет достаточно долго рассматривать гель, не опасаясь «расплывания» зон. Прибор имеет настроенный таймер, комплектуется кабинетом для непосредственного наблюдения гелей с защитным экраном.

Меры безопасности:

1. После просмотра геля светофильтр трансиллюминатора необходимо досуха протирать мягкой салфеткой;
2. Запрещено рассматривать гель с открытой крышкой трансиллюминатора (можно получить ожог сетчатки глаза).

Гель-документирующая видеосистема

Предназначена для получения цифрового изображения гелей, их первичной обработки и хранения в памяти ПК.



Система снабжена цифровой фото-видеокамерой, позволяющей наблюдать гель через ПО на мониторе ПК и делать его цифровые фотографические изображения. В первую очередь применяется для визуализации фрагментов ДНК в ультрафиолетовом свете, небезопасном для глаз.

Меры безопасности: при работе с видеосистемой необходимо следить за правильностью ее подключения, не допускать загрязнения светофильтра и объектива

Микроцентрифуга – вортекс

Предназначена для встряхивания, перемешивания и центрифугирования микропробирок (0,5-2,0 мл) на небольших скоростях вращения ротора (до 2 тыс. об/мин).



Устройство представляет собой центрифугу для малых объемов жидкости с функцией встряхивания.

Меры безопасности:

1. Включать прибор только при уравновешенном роторе;
2. Нельзя прикасаться к ротору во время центрифугирования.

Высокоскоростная микроцентрифуга

Предназначена для центрифугирования микропробирок (0,5-2,0 мл) на больших скоростях (до 15-20 тыс. об/мин и выше).



Устройство представляет собой центрифугу для малых объемов жидкости. Скорость вращения регулируется плавно, имеется встроенный таймер, часто снабжена функцией охлаждения и регулировкой плавности разгона и торможения ротора.

Меры безопасности: включать прибор только при уравновешенном роторе и закрытой крышке центрифуги.

Автоматические дозаторы переменного объема

Предназначены для отбора и внесения необходимых объемов жидкости.



Дозаторы (автоматические пипетки) позволяют с высокой точностью отбирать и вносить объемы различных жидкостей при использовании одноразовых наконечников соответствующего объема, снабжены механизмом сбрасывания отработанного наконечника.

Использовать только в пределах объема, указанных на корпусе дозатора, и с предназначенными для него наконечниками.

Лабораторная работа №6

Тема: Выделение ДНК из биологического материала

Нуклеопротеидами богаты печень, селезенка, поджелудочная железа, почки, дрожжи. Они растворяются в разбавленных растворах щелочей и выпадают в осадок при подкислении раствора. Дезоксинуклеопротеид хорошо растворяется также в соляных растворах.

Наличие ДНК определяют по цветным реакциям, характерным для дезоксирибозы. Часто применяется реакция с дифениламином, который при взаимодействии с ДНК образует соединение синего цвета.

Цель работы: провести гидролиз дезоксинуклеопротеида и освоить качественные реакции определения продуктов гидролиза.

Задачи:

1. Изучить основные этапы выделения дезоксирибонуклеиновой кислоты ДНК из биологического материала.
2. Освоить методику выделения ДНК из клеток печени и селезенки.
3. Освоить методику выделения ДНК из банана.
4. Провести сравнительный анализ изученных методик.

Биологический материал: 2-2,5 грамма печени или селезенки, банан.

Оборудование: стеклянные пробирки, центрифужные пробирки, центрифуга, мерный цилиндр, нож, ступка, пестик, стеклянная палочка, фильтровальная бумага, плитка, медицинский шприц.

Реактивы: 5% -ный раствор хлористого натрия, 0.4% - ный раствор гидроксида натрия, стеклянный порошок (можно использовать мелкий песок), дистиллированная вода, дифениламиновый реактив (1 г. дифениламина растворяют в 100 мл ледяной уксусной кислоты и добавляют 2.75 мл концентрированной серной кислоты), поваренная соль, шампунь, охлажденный этанол.

Ход работы:

1. Разобрать с использованием рис. 4 основные этапы выделения ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции. Зарисовать схему, проанализировать и записать каждый этап.

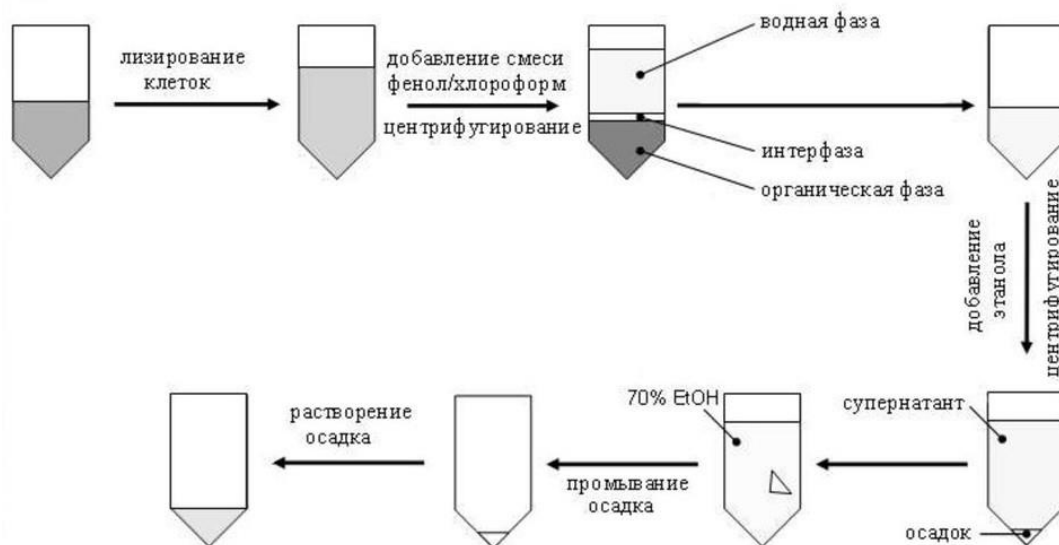


Рис.4 Схема выделения ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции

2. Выделение ДНК из печени или селезенки (проводится лабораторно).

2.1. 2-2,5 грамма печени или селезенки нарезают на маленькие кусочки и растирают в ступке с 5% -ным раствором хлористого натрия, добавив немного стеклянного порошка. Раствор соли добавляют небольшими порциями по 10-15 мл. Всего расходуют около 80 мл.

2.2. Растирают массу в течение 10-15 минут до получения гомогенной массы.

2.3. Содержимое ступки разливают в центрифужные пробирки и центрифугируют 10-15 минут при 2500 оборотов в минуту.

2.4. Центрифугат сливают в мерный цилиндр, стараясь не затронуть осадок, и измеряют его объем.

В стакан наливают дистиллированную воду (объем воды должен быть в 6 раз больше объема центрифугата). Затем, медленно помешивая стеклянной палочкой, вливают в воду центрифугат. Дезоксинуклеопротейды (ДНП) выпадают в виде нитей, которые наматываются на палочку. Выделенные ДНП осторожно вынимают вместе с палочкой, переносят в чистую пробирку и растворяют в 1-2 мл 0,4% -ного раствора гидроксида натрия.

ПРИМЕЧАНИЕ. Если нити ДНП не образовались, а выделился хлопьевидный осадок, то ему дают отстояться, после чего большую часть жидкости из стакана осторожно сливают, оставшуюся часть центрифугируют.

3.Выделение ДНК из банана (проводится самостоятельно).

3.1.Небольшой кусочек банана растолочь в ступке до получения гомогенной массы.

3.2.Добавить в ступку соль на кончике ножа (буфер) и детергент (шампунь). В данном случае буфер осаждает ДНК, а детергент (шампунь) растворяет липидные мембраны, в том числе и ядерные, что дает возможность ДНК перейти в раствор.

3.3.Раствор хорошо перемешать и отфильтровать через 2-х слойный фильтр.

3.4.В чистую пробирку перенести 1 мл фильтрата и мл дистиллированной воды. Тщательно перемешать.

3.5.По стеночке пробирки осторожно влить охлажденный этанол так, что бы спирт собрался шаром на поверхности смеси.

3.6.Дать смеси отстояться 2-3 мин., после этого можно наблюдать, как на границе двух сред образовалась белая масса в виде кольца. Спирт осаждает ДНК, но она не растворяется в этаноле и поэтому в виде кольца плавает на поверхности.

3.7.Осторожно поддеть кольцо ДНК и вытянуть из пробирки.

4. Проведение качественной реакции на ДНК.

1.1.К 10 каплям раствора ДНП добавить 20 капель дифениламинового реактива (дифениламин, растворенный в ледяной уксусной кислоте с добавлением концентрированной серной кислоты) и перемешать.

4.3. Нагревать раствор в течение 5-10 минут на кипящей водяной бане. В случае наличия в растворе ДНК раствор должен окраситься в синий цвет, обусловленный реакцией дифениламина с дезоксирибозой.

5. Проанализировать и записать результаты лабораторной работы. Зарисовать цвет растворов после проведения качественной реакции. Сформулировать выводы о качестве полученного дезоксинуклеопотеида.

Задание на СРС:

1. Пользуясь приведенной методикой, выделить ДНК из банана.
2. Провести с полученным осадком качественную реакцию на ДНК.

Литература:

1. Кутлунина, Н. А. Молекулярно-генетические методы в исследовании растений: учебно-методическое пособие / Н. А. Кутлунина, А. А. Ермошин. — Екатеринбург: УрФУ, 2017. — 142 с.
2. Молекулярная биология: учебное пособие / О. В. Кригер, С. А. Сухих, О. О. Бабич [и др.]. — Кемерово: КемГУ, 2017. — 93 с.

Лабораторная работа №7

Тема: Определение концентрации и качества препаратов нуклеиновых кислот

Цель: Освоить метод определения концентрации и степени чистоты растворов нуклеиновых кислот методом спектрофотометрии. Принцип метода. Метод основан на регистрации максимума светопоглощения нуклеиновыми кислотами при длине волны 260 нм, который обусловлен присутствием в них азотистых оснований.

Оборудование:

1. Спектрофотометр с комплектом кварцевых кювет вместимостью 1 мл (длина оптического пути 1 см).
2. Растворы ДНК, олигонуклеотидов (можно использовать, например, препараты, полученные выделением нуклеиновых кислот из природных объектов; смеси олигонуклеотидных праймеров для ПЦР).
3. Коммерческие препараты высокомолекулярных ДНК.
4. Стерильная деионизованная вода.

Ход работы:

1. Для разведения образца геномной ДНК в 50 раз в чистую микропробирку вместимостью 1,5 мл вносят 20 мкл раствора ДНК, добавляют 980 мкл стерильной деионизованной воды и осторожно перемешивают.
2. Переносят разбавленный раствор ДНК в кварцевую кювету спектрофотометра, в другую (контрольную) кювету вносят стерильную деионизованную воду, использованную для разведения образца ДНК.
3. Производят измерение оптической плотности (поглощения, абсорбции) раствора ДНК против растворителя (воды) при 260 нм (ΔA_{260}).
4. Изменяют длину волны спектрофотометра на 280 нм и вновь производят измерение оптической плотности раствора ДНК (ΔA_{280}).
5. Рассчитывают концентрацию ДНК в растворе, мкг/мкл, по формуле: $C = \Delta A_{260} \times \text{разбавление} \times 50/1000$.
6. Определяют чистоту препарата ДНК по формуле $\Delta A_{260}/\Delta A_{280}$ и делают вывод о возможности использования препарата в дальнейшем.

Примечание. 1. На спектрофотометре любого типа, прежде чем измерять концентрацию в образцах, необходимо задать «точку отсчёта». Для этого нужно промерить концентрацию буфера, в котором были растворены образцы нуклеиновых кислот. Этот показатель будет зафиксирован прибором, как «ноль».

2. В процессе измерения необходимо обращать внимание на показатель диапазона поглощения для контролирования наличия белков в растворе.

3. Чистоту препарата ДНК показывает отношение поглощения при длинах волн 260 нм и 280 нм (260нм/280нм).

Литература:

1. Кутлунина, Н. А. Молекулярно-генетические методы в исследовании растений: учебно-методическое пособие / Н. А. Кутлунина, А. А. Ермошин. — Екатеринбург: УрФУ, 2017. — 142 с.

2. Молекулярная биология: учебное пособие / О. В. Кригер, С. А. Сухих, О. О. Бабич [и др.]. — Кемерово: КемГУ, 2017. — 93 с.

Лабораторная работа №8

Тема: Постановка полимеразной цепной реакции

Цель работы: Ознакомиться с методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Принцип метода: Специфическая амплификация ДНК с помощью полимеразы, осуществляющей избирательный синтез взаимно комплементарных цепей ДНК, начиная с двух праймеров (затравок) *- принцип метода был разработан Кэри Мюллисом (фирма “Cetus”, США) в 1983г.

Оборудование и материалы:

1. Термоциклер (ДНК-амплификатор).
2. Микроцентрифуга-вортекс (до 2000 g).
3. Термостат твердотельный с функцией охлаждения для микропробирок вместимостью 0,5-1,5 мл.
4. УФ-бокс.
5. Автоматические дозаторы переменного объема с наконечниками.
6. Набор реагентов для амплификации ДНК: микропробирки, содержащие лиофилизированную амплификационную смесь «ПЦР-ядро»; ПЦР-растворитель; смесь праймеров готовят самостоятельно или она входит в состав смеси; положительный контроль (раствор стандартной ДНК) подбирается самостоятельно или входит в состав смеси; масло минеральное.
7. Растворы ДНК-матрицы (образцы ДНК, выделенные из прокариот или эукариот).
8. Вода дистиллированная.
9. Перчатки резиновые или латексные, неопудренные.

Ход работы:

Внимание! Все манипуляции производить только в перчатках! Наконечники для автоматического дозатора необходимо использовать однократно!

1. Извлекают из пакета необходимое количество пробирок ПЦР-ядро (оно равно числу анализируемых проб плюс положительный и отрицательный контроль), размещают их в штативе и маркируют. Обратите внимание, на дне каждой пробирки находится лиофилизированная смесь, которая затем должна быть полностью растворена.

Положительным контролем (К⁺) служит раствор, образуемый стандартной ДНК.

Отрицательный контроль (К⁻) - ТЕ-буфер из комплекта, использованного для выделения ДНК.

2. Добавляют в каждую пробирку ПЦР-ядро по 10 мкл ПЦР-растворителя.

3. Добавляют в каждую пробирку ПЦР-ядро 5 мкл смеси прямого и обратного праймеров.

Аналогично приготовить положительный контроль, используя раствор ДНК (20- 50 нг/мкл), выделенной из растительной или животной ткани любым из приведенных ранее способов.

4. Содержимое пробирок перемешивают, встряхивая на вортексе, до полного растворения сухих компонентов смеси. Обычно для этого требуется 5-10 мин.

5. Добавляют в пробирки с амплификационной смесью:

-в пробирку с маркировкой К⁻ (отрицательный контроль) - 5 мкл ТЕбуфера из комплекта, использованного для выделения ДНК;

-в пробирки с маркировкой № ... (исследуемые образцы) - по 5 мкл пробы соответствующей ДНК-матрицы;

-в пробирку с маркировкой К⁺ (положительный контроль) - 5 мкл раствора стандартной ДНК.

6. Содержимое всех пробирок еще раз аккуратно перемешивают.

7. Во все пробирки добавляют по 20-25 мкл (две капли) минерального масла, пробирки плотно закрывают крышечками.

8. Пробирки центрифугируют 5-7 с при 2000 об/мин. При этом отдельные капли ПЦР-смеси, оказавшиеся при ее перемешивании на стенках и крышке пробирки, должны быть сброшены на дно, а сверху ровно наслоено минеральное масло.

9. Пробирки с готовой ПЦР-смесью помещают в амплификатор и запускают программу амплификации (контроль температуры в термоблоке амплификатора должен осуществляться в режиме активного реагирования температуры):

94°C - 3 мин;

35 циклов, включающих:

94°C (денатурация) - 40 с,

58 °C (отжиг праймеров) - 30 с,

72°C (элонгация) - 40 с;

72°C- 4 мин.

10. По окончании амплификации пробирки извлекают из амплификатора,

помещают в штатив и переносят в зону для электрофореза продуктов ПЦР. ПЦР-продукты (ампликоны) можно использовать в других практических работах и хранить в течение 1-2 нед при - 18°C.

11. Детекцию результатов ПЦР производят с помощью электрофореза в агарозном геле (практическая работа № 5).

12. Полученные результаты регистрируют визуально или с помощью видеосистемы.

Литература:

3. Кутлунина, Н. А. Молекулярно-генетические методы в исследовании растений: учебно-методическое пособие / Н. А. Кутлунина, А. А. Ермошин. — Екатеринбург: УрФУ, 2017. — 142 с.

4. Молекулярная биология: учебное пособие / О. В. Кригер, С. А. Сухих, О. О. Бабич [и др.]. — Кемерово: КемГУ, 2017. — 93 с.

Лабораторная работа №9

Тема: Анализ ДНК методом электрофореза в агарозном геле

Цель работы: Ознакомиться с методом горизонтального электрофореза ДНК в агарозном геле.

Принцип метода: Метод основан на миграции заряженной молекулы ДНК под действием электрического поля.

Оборудование и материалы:

1. Прибор для горизонтального электрофореза.
2. Источник постоянного тока.
3. Электрическая плитка или СВЧ-печь.
4. Гель документирующая видеосистема.
5. Автоматические дозаторы переменного объема с наконечниками.
6. Колба мерная вместимостью 1 л.
7. Колба коническая вместимостью 0,5 л.
8. Цилиндр мерный вместимостью 250 мл.
9. Набор реагентов для электрофореза включает: смесь для приготовления электродного буфера; навеску агарозы; раствор бромида этидия; раствор краски лидера (бромфеноловый синий).
10. Проба исследуемой ДНК.
11. ДНК-маркер молекулярных масс.
12. Перчатки резиновые или латексные неопудренные.
13. Теплоизолирующая рукавица.
14. Вода дистиллированная.

Ход работы:

I. Подготовка прибора для электрофореза к работе

1. Пользуясь встроенными уровнями и винтовыми ножками, прибор устанавливают строго горизонтально.
2. В рабочую камеру наливают буфер для электрофореза.

3. Для формирования гелевой пластины собирают кювету, в нее помещают аппликатор (гребенку) для формирования лунок в толще геля.

4. Регулируемую высоту аппликатора выставляют таким образом, чтобы расстояние от дна кюветы до каждого из зубцов составляло 1-2 мм.

5. В зависимости от числа анализируемых проб одновременно можно установить одну, две или три гребенки.

II. Приготовление агарозного геля

1. Навеску агарозы, необходимую для приготовления 1%-ного геля, полностью переносят в коническую стеклянную колбу вместимостью 250-500 мл, добавляют 150 мл рабочего раствора буфера для электрофореза и перемешивают.

2. Суспензию агарозы в колбе доводят до кипения в СВЧ-печи или на электроплитке, периодически помешивая (колбу держать, только надев на руку теплоизолирующую рукавицу).

3. Продолжают нагревание до тех пор, пока содержимое колбы не станет совершенно прозрачным (обычно еще 1 мин).

4. Расплав охлаждают до 55-60°C, добавляют 10мкл раствора бромида этидия, перемешивают (работу проводят в латексных или резиновых перчатках) и наливают на столик для заливки геля, не допуская образования воздушных пузырьков, так, чтобы толщина слоя была не менее 5 мм, а зубцы гребенок были погружены в гель не менее чем на 4 мм.

5. Гель полностью застывает через 15-20 мин.

6. Столик с готовым агарозным гелем и гребенками переносят в камеру для электрофореза, в которую наливают рабочий раствор буфера для электрофореза так, чтобы покрыть гелевую пластину слоем в 2-3 мм. Извлекают гребенки из агарозного геля легким и плавным движением вверх, стараясь не повредить образовавшиеся лунки.

III. Проведение электрофореза

1. В лунки застывшего агарозного геля (под слой буфера!) осторожно вносят по 3 мкл раствора исследуемых образцов ДНК.

2. В соседнюю лунку геля вносят 3 мкл маркера молекулярных масс фрагментов ДНК. В одну или две (по краям пластины геля) свободные лунки вносят 2-3 мкл краски лидера.

3. Закрывают крышку прибора для электрофореза и подключают его к источнику постоянного тока, строго соблюдая полярность электродов и учитывая, что движение фрагментов ДНК происходит в направлении от катода к аноду (от «минуса» к «плюсу»).

4. На вольтметре источника постоянного тока устанавливают напряжение 120-150 В. В таком режиме процесс электрофореза продолжают около 30 мин, ориентируясь на фронт пробега краски-лидера (приблизительно на 3 см).

5. По окончании электрофореза источник напряжения отключают, снимают крышку прибора, пластину агарозного геля осторожно переносят на светофильтр (просмотровый столик) УФ-транслюминатора для детекции (работу проводят в перчатках!).

6. Включают трансиллюминатор. Зоны ДНК, окрашенные бромидом этидия, светятся при УФ-облучении.

Внимание! Во избежание повреждения сетчатки глаз ультрафиолетовым излучением наблюдать зоны ДНК следует только через защитное стекло из комплекта трансиллюминатора или защитные (стеклянные) очки. Полученные результаты регистрируют визуально или с использованием геле документирующей видеосистемы, пользуясь инструкцией к ней.

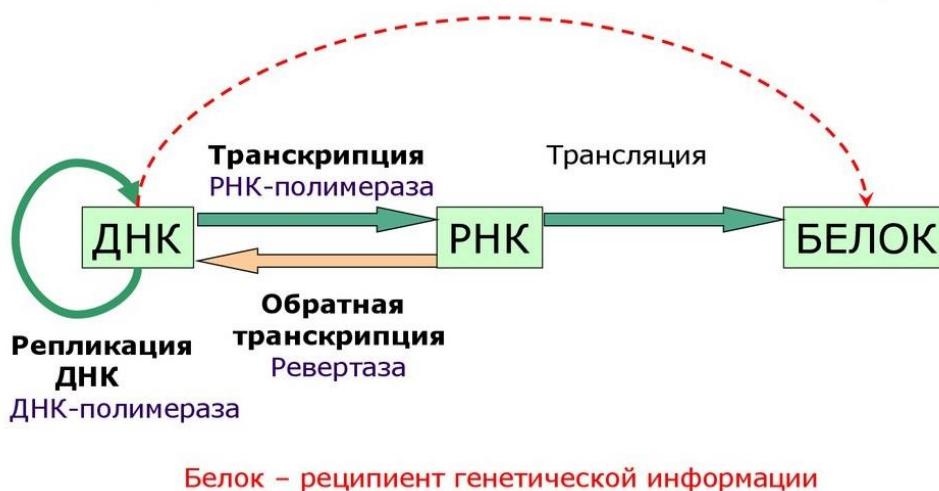
Литература:

1. Кутлунина, Н. А. Молекулярно-генетические методы в исследовании растений: учебно-методическое пособие / Н. А. Кутлунина, А. А. Ермошин. — Екатеринбург: УрФУ, 2017. — 142 с.
2. Молекулярная биология: учебное пособие / О. В. Кригер, С. А. Сухих, О. О. Бабич [и др.]. — Кемерово: КемГУ, 2017. — 93 с.

Лабораторная работа №10 Тема: Матричные процессы в клетке

Передача генетической информации при делении клетки, от родителя к потомству, либо через векторы происходит благодаря *матричным процессам* – синтезе одной биомолекулы, несущей информацию, на основе матрицы другой биомолекулы.

Центральная догма молекулярной биологии – обобщающее наблюдаемое в природе правило реализации генетической информации: информация передаётся от нуклеиновых кислот к белку, но не в обратном направлении. Правило было сформулировано Френсисом Криком в 1958 году.



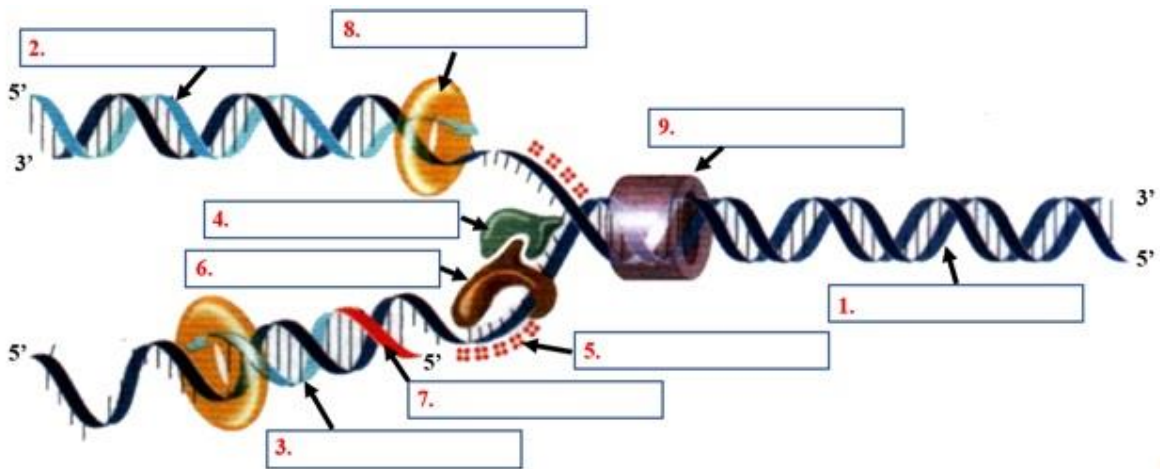
Переход генетической информации последовательно от ДНК к РНК и затем от РНК к белку является универсальным для всех без исключения

клеточных организмов, лежит в основе биосинтеза макромолекул. Репликации генома соответствует информационный переход ДНК → ДНК.

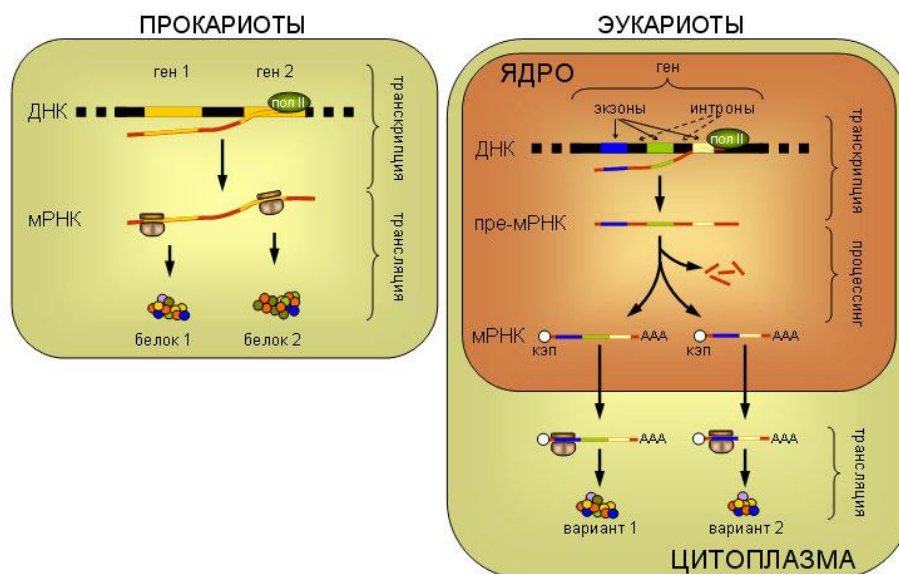
В природе встречаются также переходы РНК → РНК и РНК → ДНК (например, у некоторых вирусов), а также изменение конформации белков, передаваемое от молекулы к молекуле.

Цель и задачи: рассмотреть молекулярные механизмы матричных процессов. Провести моделирование матричных процессов.

Задание 1. Обозначьте основные компоненты и ферменты репликации, кратко опишите их функции. С помощью пластилина смоделируйте репликационную вилку эукариот.



Задание 2. Укажите особенности в транскрипции и трансляции у про- и эукариот, данные занесите в таблицу.



Прокариоты	Эукариоты
Транскрипция	
Трансляция	

Задание 3. Известно, что все виды РНК синтезируются на ДНК. Определите последовательность нуклеотидов в молекуле тРНК, если последовательность нуклеотидов фрагмента цепи ДНК: ЦЦАГТАЦГТАГГАЦТ. Определите кодон иРНК, к которому присоединяется эта тРНК, и аминокислоту, переносимую этой тРНК, если известно, что третий триплет ДНК шифрует ее антикодон. Для выполнения задания используйте таблицу генетического кода.

ДНК	ЦЦАГТАЦГТАГГАЦТ
т-РНК	
Кодон и-РНК	
Аминокислота	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД						
Н У К Л Е О Т И Д Ы						
Матричная РНК	1-й	2-й	3-й	4-й	5-й	6-й
у	у	ц	а	г	у	ц
ууу	Фенилаланин	уцу	уау	Тирозин	угу	Цистеин
ууц	Лейцин	уцц	уац	стоп-кодон	угц	стоп-кодон
ууа	Лейцин	уца	уаа	стоп-кодон	уга	Триптофан
ууг	Лейцин	уцг	уаг	стоп-кодон	угг	Триптофан
ц	у	ц	а	г	у	ц
цуу	Лейцин	ццу	цау	Гистидин	цгу	Аргинин
цуц	Лейцин	ццц	цац	Глютамин	цгц	Аргинин
цуа	Лейцин	цца	цаа	Глютамин	цга	Аргинин
цуг	Лейцин	ццг	цаг	Глютамин	цгг	Аргинин
а	у	ц	а	г	у	ц
ауу	Изолейцин	ацу	аау	Аспарагин	агу	Серин
ауц	Изолейцин	ацц	аац	Лизин	агц	Серин
ауа	Изолейцин	аца	ааа	Лизин	ага	Серин
ауг	Метионин	ацг	ааг	Лизин	агг	Серин
г	у	ц	а	г	у	ц
гуу	Валин	гцу	гау	Аспарагиновая кислота	ггу	Глицин
гуц	Валин	гцц	гац	Глутаминовая кислота	ггц	Глицин
гуа	Валин	гца	гаа	Глутаминовая кислота	гга	Глицин
гуг	Валин	гцг	гаг	Глутаминовая кислота	ггг	Глицин

Задание 4. Фрагмент цепи иРНК имеет следующую последовательность нуклеотидов: 5'-ЦУГГАЦЦАУУГГАУГ-3'. Определите последовательность

нуклеотидов на ДНК, антикодоны соответствующих тРНК и последовательность аминокислот во фрагменте молекулы белка, используя таблицу генетического кода.

и-РНК	5'-ЦУГГАЦЦАУУГГАУГ-3'
ДНК	5'-.....-3'
	3'- - 5'
Антикодоны т-РНК	3'-...-5'; 3'-...-5'; 3'-...-5'; 3'-...-5'; 3'-...-5';
Белок	

Задание 5. В биосинтезе фрагмента молекулы белка участвовали последовательно молекулы тРНК с антикодонами ЦГА, АГА, ГЦА, УЦЦ, ЦГЦ. Определите аминокислотную последовательность синтезируемого фрагмента молекулы белка и нуклеотидную последовательность участка двухцепочечной молекулы ДНК, в которой закодирована информация о первичной структуре фрагмента белка. Объясните последовательность Ваших действий. Для выполнения задания используйте таблицу генетического кода.

Антикодоны т-РНК	5'-ЦГА-3', 5'-АГА-3', 5'-ГЦА-3', 5'-УЦЦ-3', 5'-ЦГЦ-3'
Кодоны иРНК	
ДНК	
Белок	

Литература:

1. Мандель, Б. Р. Основы современной генетики: учебное пособие для учащихся высших учебных заведений (бакалавриат) / Б. Р. Мандель. – Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2016. – 334 с.
2. Молекулярная биология: учебное пособие / О. В. Кригер, С. А. Сухих, О. О. Бабич [и др.]. — Кемерово: КемГУ, 2017. — 93 с.

РАЗДЕЛ III. МЕНДЕЛЕВСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ

В *моногибридном скрещивании* родительские организмы отличаются по одной паре контрастных альтернативных признаков. Так, например, окрашенные и неокрашенные семена фасоли, серое и черное тело у дрозофилы. В первом поколении от этого скрещивания появляются гибридные особи. Из двух альтернативных вариантов аллелей у гибридов

первого поколения развивается только один (окрашенные семена у фасоли, серое тело у дрозофилы), второй не проявляется (неокрашенные семена фасоли и черное тело у дрозофилы). Преобладание у гибрида первого поколения признака одного из родителей Мендель назвал **доминированием**, а закон получил название **первого закона Менделя или единообразия гибридов первого поколения**.

При скрещивании гибридных особей первого поколения между собой во втором поколении наблюдается появление потомков с признаками обоих родителей. Причем, расщепление признаков подчиняется строгим количественным закономерностям: $\frac{3}{4}$ всех гибридов второго поколения несут доминантный признак (окрашенные семена фасоли, серое тело дрозофилы), а $\frac{1}{4}$ – рецессивный (неокрашенные семена фасоли, черное тело дрозофилы). Расщепление во втором поколении в определенном количественном соотношении доминантных и рецессивных форм называется **законом расщепления или вторым законом Менделя**.

Скрещивание особей, различающихся по двум парам альтернативных признаков, получило название **дигибридного**. Если признаков больше двух, то скрещивание называют **полигибридным**. Гены, отвечающие за развитие этих признаков, должны быть неаллельными, т.е. находиться в разных парах хромосом. При скрещивании двух чистых линий, отличающихся по двум парам альтернативных признаков, дигетерозиготные особи первого поколения, в соответствии с 1-ым законом Менделя, будут единообразные и по генотипу, и по фенотипу. Признаки, проявившиеся у гибридов первого поколения, являются доминантными. Во втором поколении расщепление по двум признакам составит 9А-В- (особи с двумя доминантными признаками) : 3А-bb (особи с доминантным признаком А) : 3ааВ- (особи с доминантным признаком В) : 1aabb (особи с рецессивными признаками).

Если подсчитать количество особей по каждой паре признаков отдельно, то окажется, что соотношение 9А-В- + 3А-bb + 3ааВ- + 1aabb соответствует независимой комбинации результатов двух скрещиваний (3А- + 1аа) x (3В- + 1 bb). Очевидно, что в дигибридном скрещивании каждая пара признаков при расщеплении в потомстве ведет себя так же, как в моногибридном скрещивании, т.е. независимо от другой пары признаков. То есть и задатки признаков этих пар комбинируются независимо. Таким образом, Мендель объективно установил существование 3-го закона наследования – **закона независимого комбинирования признаков** – при скрещивании 2-х гомозиготных особей, различающихся по 2-ум парам альтернативных признаков, гены и соответствующие им признаки наследуются независимо друг от друга и комбинируются во всех возможных сочетаниях.

Теоретические вопросы

1. Особенности гибридологического метода Г.Менделя.
2. Моногенное наследование признаков. Закон единообразия гибридов первого поколения. Правило доминирования.

3. Моногенное наследование признаков. Закон расщепления. Правило чистоты гамет.
4. Статистический характер расщепления. Метод χ^2
5. 3-ий закон Менделя. Независимое комбинирование генов.
6. Условия, необходимые для выполнения законов Менделя.
7. Ограничения действия законов Менделя.
8. Дигибридное скрещивание.
9. Цитологические основы независимого комбинирования.
10. Полигибридные скрещивания. Формулы расщеплений.

Лабораторная работа №11

Тема: Моногибридное скрещивание узамбарских (африканских) фиалок

Сенполия впервые была обнаружена в 1892 году в Восточной Африке, в Танзании и Кении в районе Узамбарских гор Вальтером Фон Сен-Полем. В 1893 году Венланд описывает вид сенполия и называет его в честь первооткрывателя *Saintpaulia*. Видовое название *ionantha* было дано из-за некоторого сходства его цветков с цветками фиалок (*Viola*). Это же сходство обусловлено появлением бытового названия «узамбарская или африканская фиалка».

Сенполии являются очень удобным объектом для работ по изучению наследования окраски венчика. Большое разнообразие фиалок по окраске лепестков обеспечивает необходимый материал для исследования. Знание типа наследования окраски венчика позволяет получить новые сочетания признаков, улучшить эстетические качества, а также получить новый сорт. Знания о том, какие признаки доминируют, какие передаются от материнского растения, а какие от отцовского растения, позволяют целенаправленно получать гибриды с желаемыми признаками. Это позволит сократить время, необходимое для получения растений с новыми комбинациями признаков и проводить целенаправленный подбор родительских пар, который увеличит вероятность появления растений с нужным набором признаков.

Для того, чтобы произвести опыление цветка материнского растения, осторожно пинцетом выщипывают у отцовского растения пыльник за 5-6 дней до опыления, затем иголкой вскрывают его, место вскрытия расширяют так, чтобы не просыпать пыльцу, и кисточкой переносят пыльцу на пестик материнского растения. Простым глазом заметно, как жёлтая пыльца прилипла на рыльце, чтобы произошло оплодотворение. Прорастает пыльца, образуя трубку, достигает завязи, в которой образуются семена. На другой день проверяют опыление. Если пыльца облетела, опыление повторяют снова.

Чтобы не забыть, когда и какие родительские пары скрещивались, на цветоножке материнского растения осторожно, чтобы не повредить, ниткой

прикрепляется бумажная бирка с данными, когда проводилось опыление и название сорта отцовского растения.

Опыление сенполий можно проводить в течение года, если в осенне-зимний сезон дать растениям подсветку люминесцентными лампами. Без подсветки лучшим временем года являются март - июль месяцы, время суток между 11 и 15 часами, когда в комнате хорошо прогреется воздух, температура воздуха должна быть не ниже 22*С. При такой температуре хорошо прорастает пыльца. Если произошло оплодотворение, то через 7 дней начинает развиваться семенная коробочка. Для простых форм цветков характерным признаком оплодотворения служит опадение цветка, для махровых и полумахровых, а также форм с неоппадающими цветками - увядание с последующим засыханием.

Цель работы: ознакомиться с правилами постановки скрещиваний на растительных объектах.

Задачи:

1. Освоить методику постановки скрещиваний на растительных объектах на примере узамбарской фиалки.
2. Ознакомиться с морфологическими характеристиками сенполии узамбарской.

Биологический материал: цветущие растения сенполии узамбарской с различной окраской венчиков (например, белые и синие).

Оборудование: лупы, пинцеты, кисти, калька, простые карандаши, нитки.

Ход работы:

1. Ознакомиться с историей и морфологической характеристикой вида сенполия узамбарская.
2. Ознакомиться с методикой постановки скрещиваний на растительных объектах. Скрещивание растительных объектов включает следующие этапы:
 - выбор пар для скрещивания;
 - кастрация;
 - опыление;
 - этикетирование.
3. Произвести скрещивание растений, различающихся по одной паре альтернативных признаков, например, цвету венчика.
 - 3.1. Выбрать пары для скрещивания: здоровые растения с венчиками белого и синего (чернильного) цвета.
 - 3.2. Проверить готовность рыльца к оплодотворению, для чего рассмотреть рыльце под лупой. Оно должно быть увлажненное, с капельками жидкости на рыльце.
 - 3.3. Пинцетом убрать у цветка выбранного растения (например, с белым венчиком) собственные пыльники, т.е. произвести кастрацию.
 - 3.4. Провести опыление: на рыльце пестика кисточкой наносят пыльцу выбранного сорта (с венчиком чернильного цвета). Пыльцу следует собрать

за 5-6 дней до работы. Способность к оплодотворению у пыльцы сохраняется до 3-х месяцев.

3.5. Провести этикетирование. Все записи проводятся на кальке простыми карандашами и привязываются к стебельку.

4. Записать схему скрещивания и проанализировать возможные фенотипы потомства. При опылении материнского растения с белыми цветами пылью растения с чернильными цветами ожидаем проявления у гибридов доминантного признака – чернильной окраски венчика. Схема скрещивания будет выглядеть следующим образом:

Признак	Ген	Генотип
Чернильный цвет венчика	A	AA, Aa
Белый цвет венчика	a	aa

P ♀aa x ♂AA

белый чернильный

G aA

F1Aa

чернильный

Литература:

1. Генетический анализ дрософилы: практикум: учебное пособие / составители О. В. Гумерова, Г. Ф. Галикеева. — Уфа: БГПУ имени М. Акмуллы, 2020. — 55 с. — ISBN 978-5-907176-71-3. — Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/170430> (
2. Общая генетика: практикум: [16+] / авт.-сост. М. В. Ульянова, В. Г. Дружинин, М. Б. Лавряшина; Кемеровский государственный университет. — 2-е изд., перераб. и доп. — Кемерово: Кемеровский государственный университет, 2019. — 78 с.

Лабораторная работа №12

Тема: Статистический характер расщепления. Метод χ^2

Специальные математические методы позволяют решать, являются ли отклонения в опыте от теоретически ожидаемого расщепления (3:1) закономерным или случайным. Наиболее прост и удобен **метод χ^2 (хи-квадрат)** или метод соответствия наблюдаемых данных теоретически ожидаемым. Применение этого метода сводится к расчету величины χ^2 и её оценке. Однако следует уточнить, что этот метод применим только для выборок с минимальным объемом не менее 50 особей, а теоретически ожидаемые частоты в классах должны быть не менее 5. Кроме того, оценка отклонения по критерию χ^2 ничего не говорит в пользу гипотезы, но на её основе отвергаются ложные гипотезы.

Цель работы: знакомство с основным приёмом гибридологического анализа – методом статистической проверки гипотез (метод).

Задачи:

1. Изучить закономерности моногибридного скрещивания.
2. Смоделировать опыты Менделя по моногибридному скрещиванию в лабораторных условиях.
3. Освоить метод χ^2 для статистического анализа данных.

Биологический материал: семена фасоли (окрашенные и неокрашенные).

Оборудование: чашки Петри.

Ход работы:

1. Смоделировать результаты опыта Менделя по наследованию моногенного признака «окраска семян» у фасоли. Для этого:
 - 1.1. В чашку Петри поместить по 20 окрашенных и неокрашенных семян фасоли;
 - 1.2. Из чашки Петри с семенами фасоли, не глядя, одновременно достать два семени разными руками. Предполагая, что каждое семя – это один аллель гена, контролирующего изучаемый признак, определить и записать получившийся генотип. Окрашенное семя считаем доминантным аллелем гена, неокрашенное – рецессивным. Эти семена оставляем в чашке Петри. Перед каждым выбором перемешиваем.
2. Повторяем эксперимент 60 раз. Полученные данные заносим в таблицу 1.1:

Таблица 1.1

Генотип	Данные
AA	15
Aa	32
Aa	13

3. Анализируем результаты эксперимента. Определяем расщепление в опыте по генотипу и фенотипу.
4. Выдвигаем нулевую гипотезу о генетической детерминации признака «окраска семян» и теоретическом расщеплении: моногенное наследование, расщепление во втором поколении 1:2:1 по генотипу и 3:1 по фенотипу.
5. Проводим статистическую проверку гипотезы методом χ^2 .
 - 5.1. Определяем теоретически ожидаемую величину для каждого генотипического класса расщепления: суммарное значение потомков (столбец 3) делим на суммарное число возможных генотипических классов (столбец 2) и умножаем получившуюся величину для каждого класса в соответствии с предполагаемой формулой расщепления (1:2:1 в данном случае). Полученные значения заносим в таблицу 1.2.

Таблица 1.2

Генотип	H _o	Наблюдаемые данные	Ожидаемые данные
AA	1	15	15
Aa	2	32	30
Aa	1	13	15
Σ	4	60	60

5.2. Определяем отклонение экспериментальных (наблюдаемых – н) данных от теоретических (ожидаемых - о) по формуле:

$$\chi^2 = \Sigma(o-n)^2/o$$

$$\chi^2 = (15-15)^2/15 + (30-32)^2/30 + (15-13)^2/15 = 0,4$$

5.3. Оцениваем величину χ^2 по таблице Фишера с учетом степеней свободы и допустимой вероятностью (табл. 1.3). Число степеней свободы – это число независимо рассчитанных теоретически ожидаемых величин. Число степеней свободы определяется как число фенотипических классов минус один (в данном опыте число степеней свободы равно 2).

Вероятность (р) есть не что иное, как вероятность данной нулевой гипотезы. Для биологических дисциплин принята вероятность 95%, поэтому допустимой границей вероятности является величина 0,05. Это означает, что на каждые 20 показателей допускается 1 ошибка.

Таблица 1.3

Таблица Фишера с учетом степеней свободы и допустимой вероятностью

Число степеней свободы (n)	Вероятность (P)									
	0,99	0,95	0,90	0,75	0,50	0,25	0,10	0,05	0,025	0,01
1	0,00	0,00	0,02	0,10	0,45	1,32	2,71	3,84	5,02	6,63
2	0,02	0,10	0,21	0,58	1,39	2,77	4,61	5,99	7,38	9,21
3	0,11	0,35	0,58	1,21	2,37	4,11	6,25	7,81	9,35	11,34
4	0,30	0,71	1,06	1,92	3,36	5,39	7,78	9,49	11,14	13,28
5	0,55	1,15	1,61	2,67	4,35	6,63	9,24	11,07	12,83	15,09

5.4. Формулируем и записываем выводы о соответствии экспериментальных данных выдвинутой нулевой гипотезе.

Если величина χ^2 в опыте меньше теоретической, то отклонения между наблюдаемыми и ожидаемыми данными случайны и гипотеза не отвергается. Нулевая гипотеза отвергается, если значение χ^2 выше того, что дано в графе $P=0,05$ при соответствующем числе степеней свободы.

В данном примере χ^2 наблюдаемое (0,4) < чем χ^2 ожидаемое (5,99), следовательно, гипотеза о расщеплении по генотипу по признаку «цвет семян фасоли» в соотношении 1 AA: 2Aa:1aa верна при 2-х степенях свободы.

6. Рассчитываем χ^2 по суммарным значениям подгруппы.

6.1. Заносим данные по всей подгруппе в таблицу 1.4

Таблица 1.4

№ Эксперимента	Генотип			Величина χ^2
	AA	Aa	aa	
1	15	32	13	0,4
2	14	31	15	0,1
3	16	29	15	0,1
Сумма	45	92	43	0,13

6.2. Определяем χ^2 по суммарным значениям подгруппы:

$$\chi^2 = (45-45)^2/45 + (90-92)^2/90 + (45-43)^2/45 = 0,13$$

Формулируем выводы. Обратить внимание на уменьшение величины χ^2 с увеличением выборки.

6.3. Проводим расчет χ^2 при расщеплении по фенотипу. В соответствии с законом расщепления (2-ым законом Менделя) расщепление по фенотипу при скрещивании 2-х гетерозигот составляет 3A-:1aa. Определяем теоретически ожидаемую величину для каждого фенотипического класса расщепления: суммарное значение потомков (столбец 3) делим на суммарное число возможных генотипических классов (столбец 2) и умножаем получившуюся величину для каждого класса в соответствии с предполагаемой формулой расщепления (3:1 по фенотипу, табл. 1.5).

Таблица 1.5

Фенотип	Н _о	Наблюдаемые данные	Ожидаемые данные
Окрашенные семена	3A-	47	45
Неокрашенные семена	1aa	13	15
Σ	4	60	60

6.3. Определяем отклонение экспериментальных (наблюдаемых) данных от теоретических (ожидаемых) по формуле:

$$\chi^2 = \sum (o-n)^2/o$$

$$\chi^2 = (47-45)^2/45 + (13-15)^2/15 = 0,36$$

7. Заносим данные по всей подгруппе в таблицу 1.6 и определяем χ^2 по суммарным значениям подгруппы:

Таблица 1.6

№ эксперимента	Фенотип		Величина χ^2
	Окрашенные семена (А-)	Неокрашенные семена (аа)	
1	47	13	0,36
2	45	15	0
3	45	15	0
Сумма	137	43	0,119

$$\chi^2 = (135-137)^2/135 + (45-43)^2/45 = 0,119$$

8. Сформулировать и записать общие выводы о соответствии нулевой гипотезы фактическим данным. Проанализировать индивидуальные и групповые результаты.

Задания на СРС:

1. Завершить оформление лабораторной работы.
2. Решить 5 генетических задач с использованием метода χ^2 .

Литература:

1. Алферова, Г. А. Генетика: учеб. Галина Александровна, Галина Петровна, Татьяна Ильинична; Г. А. Алферова, Г. П. Подгорнова, Т. И. Кондаурова; под ред. Г. А. Алферовой. - 3-е изд.; испр. и доп. - Москва: Юрайт, 2018
2. Нахаева, В. И. Общая генетика. Практический курс: учебное пособие для вузов / В. И. Нахаева. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2021. — 276 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-06631-9.
3. Осипова, Л. А. Генетика в 2 ч. Часть 1: учебное пособие для вузов / Л. А. Осипова. — 2-е изд., испр. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2021. — 243 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-07721-6.
4. Карманова, Е. П. Практикум по генетике: учебное пособие для вузов / Е. П. Карманова, А. Е. Болгов, В. И. Митюлько. — 2-е изд., стер. — Санкт-Петербург: Лань, 2021. — 228 с.

Лабораторная работа №13

Тема: Дрозофила как объект генетических исследований. Постановка моногибридного скрещивания у *Drosophila melanogaster*

Целый ряд важнейших научных открытий был совершен при использовании в качестве генетического объекта мухи *Drosophila melanogaster*. В частности, работы Т. Моргана по разработке хромосомной теории наследственности, изучению генетики пола и сцепленного с полом наследования, также исследования по искусственному получению мутаций, вопросам природы гена, экспрессии гена, выяснение некоторых генетических

механизмов эволюционных процессов и др. Муха дрозофила является чрезвычайно удобным объектом для генетических исследований. Она неприхотлива в содержании, исключительно плодовита, имеет короткий период развития от яйца до взрослого насекомого, обладает чётко выраженными морфологическими признаками, большим разнообразием мутационных рас с чётким фенотипическим проявлением и малым числом хромосом.

Drosophila melanogaster, иначе муха плодовая, или уксусная, принадлежит к семейству *Drosophilidae* из отряда *Diptera*. Родиной *Drosophila melanogaster* считается Индо-малайская область. В настоящее время она космополит, населяет Северную и Южную Америку, Африку, Австралию, Японию и Южную Европу. Питается дрозофила ферментируемыми фруктами, овощами и древесным соком. Раса дрозофилы, которая обитает в природе, носит название дикий тип (wild type), или нормальная (normal). Это мушка величиной 2-3 мм с ярко-красными глазами и серым телом. Самки и самцы *D. melanogaster* отличаются по ряду морфологических признаков:

- 1) Самки несколько **крупнее** самцов.
- 2) **Брюшко** у самки округлое с заостренным концом, у самца – более цилиндрическое с притупленным концом и сильно пигментированными (черными) последними тергитами (скелетные хитиновые пластинки брюшка со спинной стороны);
- 3) У самки 8 хорошо развитых **тергитов**, у самца – 6;
- 4) У самки 4 хорошо развитых **стернита** (хитиновые пластинки с брюшной стороны), у самца – 3;
- 5) У самца присутствуют **половые гребешки** (ряд хитиновых щетинок на первом членике лапки передних ног).

Все манипуляции с мухами выполняют под наркозом. В качестве наркотизирующего вещества употребляют серный эфир. Как только мухи перестали двигаться, их сразу нужно встряхнуть из морилки. От большой дозы дрозофилы погибают через 3-5 мин. Характерный признак погибших от эфира мух – растопыренные вверх и в стороны крылья и безжизненно вытянутые лапки. Изучение морфологических особенностей дрозофил, а также сравнение мутационных рас удобно проводить, расположив наркотизированных мух на молочно-белом стекле. Брать мух можно только пинцетом за крылышки или ножки, либо перемещать их мягкой кисточкой. Если во время просмотра мухи начинают просыпаться от наркоза, их следует вновь на некоторое время накрыть крышкой от морилки.

Для скрещиваний необходимо использовать заведомо девственных (виргинных) самок не старше 10-12 часов после вылупления. Поскольку жизнеспособная сперма может сохраняться в половых путях самки в течение нескольких суток после спаривания, и оплодотворённая самка может содержать в семяприёмнике некоторое количество спермы от предыдущей

копуляции. Для этой цели из культур за несколько часов до массового вылупления удаляют недееспособных мух. После этого культуру просматривают через 8-10 часовые интервалы. Вылупляющихся дееспособных самок изолируют от самцов и используют для скрещиваний.

Цель работы: ознакомиться с одним из наиболее удобных объектов генетического исследования плодовой (уксусной) мухой *Drosophila melanogaster*, освоить правила постановки скрещиваний.

Задачи:

1. Освоить основные правила работы с дрозофилой, а также методику постановки скрещиваний.
2. Ознакомиться с морфологическими характеристиками дрозофил дикого типа (Normal), а также мутантных линий (white, cut, ebony).
3. Произвести тригибридное скрещивание дрозофил.
4. Провести статистический анализ моногенного наследования признаков на примере наследования мутации ebony.

Биологический материал: линии *Drosophila melanogaster normal* (серое тело), ebony (черное тело).

Оборудование: стаканчики или широкие пробирки диаметром 4 см со свежеприготовленной средой; ватные пробки; эфир и морилки; молочно-белое стекло; лупа; пинцеты; кисти.

Ход работы:

1. Ознакомиться с правилами наркотизации мух.
 - 1.1. Возьмите пробирку с дрозофилами. Осторожно постучите по пробирке, осадив мух на дно.
 - 1.2. Нанесите 2-3 капли серного эфира (в крайнем случае, хлороформа) на вату и поместите в морилку.
 - 1.3. Выньте пробку из морилки и ватный тампон из пробирки с мухами. Приложите морилку и пробирку горлышками друг к другу (морилка внизу). Слегка постучите по пробирке, чтобы мушки высыпались из пробирки в морилку.
 - 1.4. Закройте морилку и пробирку. Слегка постукивая пальцем по морилке, наблюдайте за мушками, пока они не перестанут двигаться и не упадут на дно.
2. Изучение морфологии дрозофилы.
 - 2.1. Высыпьте наркотизированных мух из морилки на молочно-белое стекло или белый лист бумаги.
 - 2.2. Рассмотрите под лупой мух, имеющих серое тело, нормальные крылья и красные глаза. Это признаки дикого типа.
 - 2.3. Рассмотрите под лупой мух, имеющих черное тело, красные глаза и нормальные крылья. Это мухи линии ebony, гомозиготные по рецессивной мутации, вследствие которой их тело имеет черный цвет. В природе такие линии встречаются крайне редко, их разводят в лаборатории.
3. Постановка скрещивания дрозофилы.

- 3.1. Отобрать 2-3 виргинные самки *black* и поместить в стаканчик со средой с 3-5 самцами линии *Normal*.
- 3.2. Отобрать 2-3 виргинные самки *Normal* и поместить в стаканчик со средой с 3-5 самцами *black*.
- 3.3. Через 10-12 суток после постановки скрещивания, когда в стаканчике начнется массовое вылупление мух F_1 , их следует усыпить и проанализировать. Результаты подсчета следует записать в таблицу.
- 3.4. Среди гибридов F_1 следует отобрать 2-3 женские особи и 5-6 мужских и поместить их в чистые пробирки с питательной средой для получения F_2 .
- 3.5. Через 10-12 дней в стаканчиках начнется массовое вылупление мух F_2 . Их следует усыпить и анализировать на матово-белом стекле. Результаты занести в таблицу 1.7.

Таблица 1.7

Результаты гибридологического анализа при скрещивании дрозофил линий *black* и *Normal*

Фенотипы гибридов	Прямое скрещивание ♀ <i>black</i> x ♂ <i>Normal</i>			Обратное скрещивание ♀ <i>Normal</i> x ♂ <i>black</i>		
	Всего	В том числе		Всего	В том числе	
		♀	♂		♀	♂
Гибриды F_1 :						
Гибриды F_2 :						

4. Анализ результатов моногибридного скрещивания дрозофилы (на примере наследования мутации *ebony*).

4.1. Для того, чтобы рассмотреть закономерности моногибридного скрещивания, нужно проанализировать характер наследования мутации *ebony*, определяющей черный цвет тела *Drosophila melanogaster*.

4.2. Составьте схему скрещивания и определите ожидаемое расщепление по фенотипу и генотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая рецессивный характер мутации *ebony*. Формулируйте нулевую гипотезу о характере наследования данной мутации.

4.3. Пользуясь таблицей 1.7, проанализируйте фенотипы гибридов первого поколения прямого и обратного скрещиваний относительно цвета тела и подсчитайте точное число потомков. Результаты занесите в таблицу 1.8.

4.4. Проанализируйте фенотипы гибридов второго поколения относительно цвета тела. Подсчитайте число потомков и занесите результаты в таблицу 1.8. Согласно закону расщепления Менделя у $\frac{1}{4}$ гибридов второго поколения, как от прямого, так и от обратного скрещивания дрозофил, должна проявиться рецессивная мутация – черное тело. Пользуясь методом соответствия (χ^2) найти теоретически ожидаемое число потомков каждого фенотипического класса у гибридов второго поколения и определить величину χ^2 .

4.5. Сформулируйте выводы о правильности нулевой гипотезы о характере наследования мутации *ebony*.

Таблица 1.8

**Результаты гибридологического анализа при моногибридном скрещивании
дрозофил линий black и Normal**

Линии и гибриды	Получено мух		Расщепление		
	Всего	В том числе		Теоретически ожидаемое	Фактически полученное
		Normal	black		
F ₁ ♀ black- ♂Normal F ₁ ♀ Norma- ♂black F ₂ ♀ black- ♂Normal F ₂ ♀ Normal- ♂black					

Задания на СРС:

Решить 5 генетических задач на моногенное наследование признаков с использованием метода χ^2 .

Литература:

1. Алферова, Г. А. Генетика: учеб. Галина Александровна, Галина Петровна, Татьяна Ильинична; Г. А. Алферова, Г. П. Подгорнова, Т. И. Кондаурова; под ред. Г. А. Алферовой. - 3-е изд.; испр. и доп. - Москва: Юрайт, 2018
2. Мандель, Б. Р. Основы современной генетики: учебное пособие для учащихся высших учебных заведений (бакалавриат) / Б.Р. Мандель. – Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2016. – 334 с.:
3. Осипова, Л. А. Генетика в 2 ч. Часть 1: учебное пособие для вузов / Л. А. Осипова.— 2-е изд., испр. и доп.— Москва: Издательство Юрайт, 2021.— 243 с.— (Высшее образование).
4. Генетика: учебник для вузов / Н. М. Макрушин, Ю. В. Плугатарь, Е. М. Макрушина [и др.]; под редакцией д. с.-х. н. [и др.]. — 3-е изд., перераб. и доп. — Санкт-Петербург: Лань, 2021. — 432 с.
5. Общая генетика: учебное пособие / составители М. В. Ульянова [и др.]. — 2-е изд., доп. и перераб. — Кемерово: КемГУ, 2019. — 78 с. — ISBN 978-5-8353-2374-6. — Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/134334>

РАЗДЕЛ IV. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НЕАЛЛЕЛЬНЫХ ГЕНОВ

Под взаимодействием неаллельных генов понимается взаимодействие двух и более генов, расположенных в разных парах гомологичных хромосом, контролирующие один признак. Различают три основных типа взаимодействия - это комплементарность, эпистаз и полимерия. Расщепление по фенотипу в F₂ при взаимодействии неаллельных генов складывается из

стандартного расщепления 9:3:3:1, характерного для дигибридного скрещивания особей, гетерозиготных по обоим признакам.

Комплементарность (соответствие) – взаимодействие, при котором два доминантных неаллельных гена, взаимодействуя в гибридном поколении, обуславливают новый признак. Расщепление у гибридов F₂ при комплементарном взаимодействии может быть различным (9:3:3:1, 9:3:4, 9:6:1). Комплементарным взаимодействием обусловлено наследование различных типов окраски у животных и растений, например окраска волнистых попугайчиков. Дикий тип – зеленая окраска оперения получается из смеси двух пигментов – желтого (ген А) и синего (ген В). Если в генотипе отсутствует доминантный аллель гена В, то окраску обуславливает желтый пигмент. И, напротив, отсутствие аллеля А обеспечивает синюю окраску. В случае отсутствия обоих пигментов у особей с генотипом aabb оперение остается неокрашенным, т.е. белым.

P	AAbb	x	aaBB	
	желтая окраска		синяя окраска	
F1	AaBb			
	зеленая окраска			
F2	9/16 A-B-:	3/16 A-bb:	3/16 aaB-:	1/16 aabb
	зеленая	желтая	синяя	белая

Комплементарным взаимодействием генов обусловлено также наследование окраски венчика цветка у душистого горошка. Доминантный аллель гена А обуславливает синтез розового пигмента, который является субстратом для дальнейших реакций синтеза пигментов. Доминантный аллель гена В отвечает за синтез из розового пигмента синего. Поэтому у гетерозигот А-В- венчик окрашен в синий цвет. У растений с генотипом А-bb синтезируется розовый пигмент, но поскольку нет доминантного аллеля В, реакция превращения в синий цвет не протекает и венчик имеет розовую окраску. Растения, имеющие только доминантный аллель гена В (aaB-), будут неокрашены, поскольку у них не вырабатывается розовый пигмент. Гомозиготы по рецессиву (aabb) также имеют белый венчик из-за отсутствия пигментов. В F₂ при скрещивании растений с синими цветками получаем расщепление 9 синих (А-В-): 3 розовых (А-bb-): 4 белых (3aaB-+1aabb). Такие организмы, имеющие одинаковый фенотип при разном генотипе, называются **фенокопиями**.

<u>P</u>	<u>AAbb</u>	x	<u>aaBB</u>	
	розовый венчик		белый венчик	
<u>F1</u>			<u>AaBb</u>	
			синий венчик	
<u>F2</u>	9/16 A-B-:	3/16 A-bb:	3/16 aaB-:	1/16 aabb
	9 синий	3 розовый	4 белый	

Эпистаз - тип взаимодействия неаллельных генов, при котором один ген может подавлять действие другого. При этом ген-эпистатор может быть как в доминантном состоянии (доминантный эпистаз), так и рецессивном состоянии (рецессивный эпистаз). Расщепления по фенотипу у гибридов F₂ составляет 13:3 (окраска оперения у кур), 12:3:1 (окраска плодов тыквы) при доминантном эпистазе и 9:7 (окраска венчика некоторых цветковых) при рецессивном.

Доминантным эпистазом обусловлено наследование окраски плодов тыквы. За синтез пигмента отвечает ген А. Его рецессивный аллель а обеспечивает зеленую окраску плодов, а доминантный аллель А – желтую окраску. Доминантный ген I эпистатирует (подавляет) синтез пигмента и формирует белую окраску. Дигетерозиготные гибриды F₁ с белыми плодами при скрещивании между собой дают расщепление на 12/16 неокрашенных (А-I-за счет действия гена-подавителя, aaI- за счет отсутствия аллеля гена, обеспечивающего синтез пигмента), 3/16 желтых и 1/16 зеленых плодов.

<u>P</u>	<u>aaII</u>	x	<u>AAIi</u>	
	белая окраска			
<u>F1</u>			<u>AaIi</u>	
			белая окраска	
<u>F2</u>	9/16 A-I-:	3/16 aaI-:	3/16 A-ii:	1/16 aaII:
	белая окраска		желтая	зеленая

Взаимодействие генов по типу эпистаза встречается и у человека. Так, за нормальное формирование слуха отвечают доминантные неаллельные гены.

Полимерия – действие одноразмерных генов, при котором наличие признака и его интенсивность определяется доминантными аллелями взаимодействующих генов. Взаимодействующие гены одинаково влияют на один и тот же признак, поэтому их принято обозначать одинаковыми

латинскими буквами с разными индексами: A_1, A_2, A_3, A_4 и т.д. Полимерным взаимодействием определяется наследование окраски зерна у пшеницы.

<u>P</u>	$A_1A_1A_2A_2$	x	$a_1a_1a_2a_2$
	окрашенное		неокрашенное
	зерно		<u>зерно</u>

F_1	$A_1a_1A_2a_2$
	окрашенное зерно

F_2	$9A_1a_1A_2a_2: 3A_1-a_2a_2: 3a_1a_1A_2-: 1a_1a_1a_2a_2$
	15 окрашенных неокрашенное

Из представленной схемы следует, что при наличии в генотипе доминантного аллеля любого из генов, зерно будет окрашено, причем число доминантных аллелей в генотипе здесь значения не имеет. Такой тип полимерии, при котором любая доза гена дает признак, называется **некумулятивная**.

Если же мы, помимо наличия окраски зерна пшеницы, будем учитывать и её интенсивность, то расщепление в F_2 изменится следующим образом:

<u>P</u>	$A_1A_1A_2A_2$	x	$a_1a_1a_2a_2$
	темно-красное		белое
F_1	$A_1a_1A_2a_2$		
	розовое зерно		
F_2	$1/16$ темно-красное зерно $A_1A_1A_2A_2$ $4/16$ красное $A_1A_1A_2a_2/ A_1a_1A_2A_2$ $6/16$ розовое зерно $A_1a_1A_2a_2/ A_1A_1a_2a_2/ a_1a_1A_2A_2$ $4/16$ светло-розовое зерно $A_1a_1a_2a_2/ a_1a_1A_2a_2$ $1/16$ белое зерно $a_1a_1a_2a_2$		

У гибридов F_2 окраска будет тем интенсивнее, чем больше доминантных аллелей в генотипе растения. Тип взаимодействия, при котором степень выраженности признака определяется числом доминантных аллелей взаимодействующих генов, называется *кумулятивная полимерия*. По этому же типу наследуется степень пигментации кожи у человека.

В таблице 2 представлены основные типы расщепления при взаимодействии неаллельных генов.

Таблица 2

Типы расщепления при взаимодействии неаллельных генов

№	Тип взаимодействия	F ₂	F _{ан.}
1	Комплементарное взаимодействие	9AB:3Ab:3aB:1ab	1AB:1Ab:1aB:1ab
		9AB:6(Ab+aB):1ab	1AB:2(Ab+aB):1ab
		9AB:3Ab:4(aB+ab)	1AB:1Ab:2(aB+ab)
		9AB:7(Ab+aB+ab)	1AB:3(Ab+aB+ab)
2	Эпистаз	13(AB+Ab+ab):3aB	3(AB+Ab+ab):1aB
		12(AB+Ab):3aB:1ab	2(AB+Ab):1aB:1ab
3	Полимерия (некумулятивная)	15(9a ₁ A ₂ +3A ₁ a ₂ +3a ₁ A ₂):1a ₁ a ₂	3(A ₁ A ₂ +A ₁ a ₂ +a ₁ A ₂):1a ₁ a ₂

Теоретические вопросы

1. Особенности наследования признаков при взаимодействии неаллельных генов.
2. Отличия этого способа наследования признаков от дигибридного скрещивания и множественного аллелизма.
3. Взаимодействие неаллельных генов по типу комплементарности. Расщепления у гибридов второго поколения.
4. Взаимодействие неаллельных генов по типу эпистаза. Доминантный и рецессивный эпистаз. Особенности расщеплений.
5. Полимерия и её виды. Влияния на расщепления.

Лабораторная работа №14

Тема: Физиолого-генетические аспекты проявления антоциановых окрасок у растений

Формирование окраски цветков обеспечивается, в основном, взаимодействием двух систем генов биосинтеза вторичных метаболитов. При этом первой включается система генов синтеза флавоноидных соединений (К - кемпферол, Q 1 и Q 2-кверцетин, М - мирицетин), затем система генов антоцианов (С и R - пеларгонидин, Sm и Sm 1 - цианидин, Е - дельфинидин). Аллельные и полимерные гены регулируют количество промежуточных метаболитов на каждом из этапов биосинтеза пигментов. При взаимодействии неаллельных генов происходит замедление или ускорение поэтапного превращения предшествующих соединений в конечные. Ингибирование синтеза флавоноидов или антоцианов приводит к перераспределению общего предшественника. Непрерывная изменчивость признака - результат функционирования аллельных и полимерных генов.

Цель работы: изучить генетическую обусловленность антоциановых окрасок у цветковых растений.

Задачи: 1.Познакомиться с различными группами пигментов.

2.Рассмотреть генетический контроль синтеза флавоноидов.

3. Научиться применять теоретические знания по наследованию признаков при взаимодействии неаллельных генов на практических примерах по

определению генетического контроля наследования окраски венчика цветковых растений.

Биологический материал: венчики растений с различными окрасками – фиалка трехцветная, львиный зев, ночная красавица, василек синий, астры, гладиолусы, тюльпаны, комнатные цветущие растений, гербарии.

Оборудование: плитка, 2 химических термостойких стаканчика, штатив с химическими пробирками, пипетки, ложечка, фильтровальная бумага, воронка.

Реактивы: 20 г пищевой соды, разбавленная соляная кислота.

Ход работы:

1. Получение антоциановой вытяжки из венчиков растений.
 - 1.1. 0,5-1 г красных и синих (фиолетовых) лепестков венчика растений поместить в два термостойких стакана.
 - 1.2. Залить 10 мл воды и довести до кипения на плитке до выхода антоцианов в раствор.
 - 1.3. Отфильтровать вытяжки в чистые пробирки через фильтр.
 - 1.4. Полученную антоциановую вытяжку разделить на 3 пробирки в равных соотношениях (образец №1, образец №2 и образец №3). Образец №1 использовать в качестве контрольного.
2. Изменение окраски антоциановой вытяжки под действием соляной кислоты.
 - 2.1. К образцу №2 антоциановой вытяжки добавлять по каплям разбавленную соляную кислоту до изменения цвета раствора.
 - 2.2. Сравнить опытный образец с контрольным. Наблюдать изменение раствора, отметить в тетради.
3. Изменение окраски антоциановой вытяжки под действием щелочи.
 - 3.1. К образцу №3 вытяжки добавить на кончике стеклянной палочки пищевую соду до изменения окраски.
 - 3.2. Сравнить опытный образец с контрольным. Наблюдать изменение раствора, отметить в тетради.
4. Продумать и сформулировать выводы о роли генов в определении антоциановых окрасок у растений, о типах их взаимодействия. Записать в виде таблицы 2.1.

Таблица 2.1

Признак	Фенотип	Ген	Генотип
Цвет водного экстракта	Синий	-	A-B-
Цвет экстракта в щелочной среде	Зеленый	A	A-bb
Цвет экстракта в кислой среде	Малиновый	B	aaB-

Задание на СРС:

Решение 5 генетических задач на взаимодействие неаллельных генов.

Литература:

1. Алферова, Г. А. Генетика: учебник для вузов / Г. А. Алферова, Г. П. Подгорнова, Т. И. Кондаурова; под редакцией Г. А. Алферовой. — 3-е изд., испр. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2021. — 200 с.
2. Инге-Вечтомов, С. Г. Генетика с основами селекции: учеб. для студентов высш. учеб. заведений / Сергей Георгиевич; С. Г. Инге-Вечтомов. - 2-е изд. - СПб.: Издательство Н-Л, 2010.

РАЗДЕЛ V. ЗАКОНОМЕРНОСТИ СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ

Исследования Моргана и его школы показали, что в гомологичных парах хромосом регулярно происходит обмен генами. Два гена, находящиеся в одной хромосоме, не могут наследоваться независимо друг от друга. Совместное наследование генов, расположенных в одной хромосоме, ограничивает их свободное комбинирование. Морган предложил называть такое явление **сцеплением генов**. Сцепленное наследование может быть **полным** – при котором группа сцепления не нарушается, все гены наследуются совместно, и **неполным** – группа сцепления нарушается процессом **кроссинговера**.

Группа сцепления – это совокупность генов, локализованных в одной хромосоме.

Процесс обмена идентичными участками гомологичных хромосом с содержащимися в них генами называют перекрестом хромосом или **кроссинговером**. Кроссинговер обеспечивает новые сочетания генов – рекомбинацию.

Механизм перекреста хромосом связан с поведением гомологичных хромосом в **профазе I мейоза**. Кроссинговер происходит на четырехцепочечной, или тетрадной, стадии мейоза, когда каждая хромосома состоит из двух хроматид и приурочен к образованию **хиазм**.

Процесс кроссинговера обеспечивает генетическую изменчивость организма, которую принято называть **рекомбинационной**.

Теоретические вопросы

1. На чем основано явление сцепленного наследования?
2. С чем связано нарушение законов Менделя при сцепленном наследовании?
3. Что такое кроссинговер и когда он происходит?

Лабораторная работа №15

Тема: Изучение механизма кроссинговера

Цель работы: изучение закономерностей наследования признаков при сцепленном наследовании.

Задачи:

1. Повторение основных закономерностей поведения хромосом на каждой стадии мейоза.
2. Развитие у студентов образного и абстрактного мышления.
3. Изучение особенностей наследования генов, расположенных на одной хромосоме.

Оборудование: пластилин, дощечки для лепки, стеки, таблицы и схемы и фотографии, на которых изображен процесс кроссинговера.

Ход работы:

1. Внимательно рассмотреть таблицы, рисунки и фотографии.
2. Используя пластилин создать модели конъюгации, перекрещивания хроматид и образования хиазм, последующее отталкивание хромосом, начинающееся от центромеры, сползание хиазм и расхождение гомологов.
3. Рассмотреть четыре типа хиазм: одиночные; двойные, затрагивающие пару хроматид; двойные, затрагивающие три хроматиды; двойные, затрагивающие четыре хроматиды.
4. Изучить гипотетическое поведение генов при всех возможных перекрестах.
5. Сделать выводы.

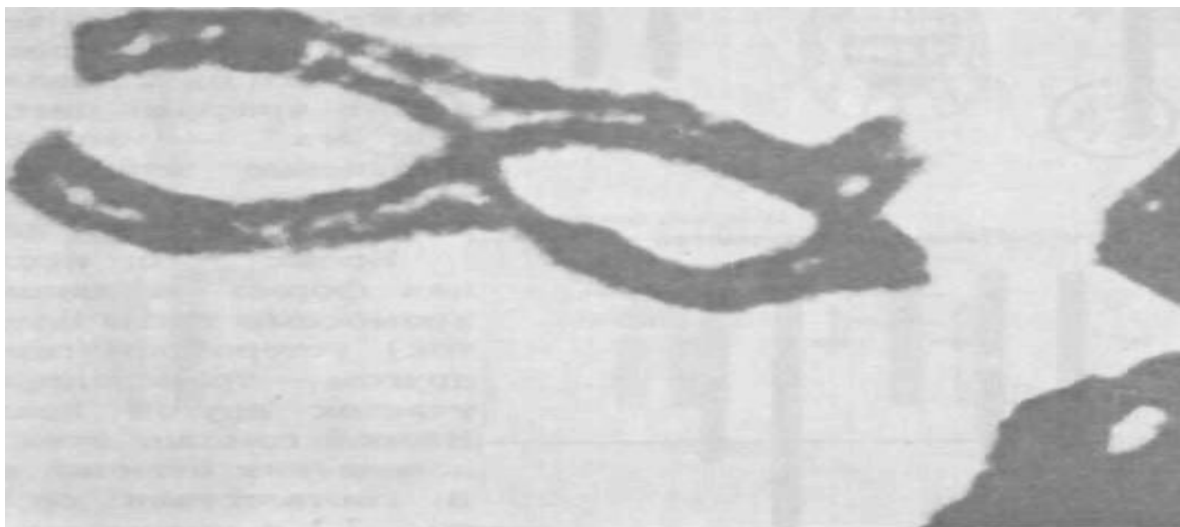


Рис. 1. Хиазмы в диплоте в одном из бивалентов у кузнечика (D. Suzuki, A.Griffiths, R. Levontin, 1981).

Задание на СРС:

Решить 5 генетических задач на сцепление и кроссинговер.

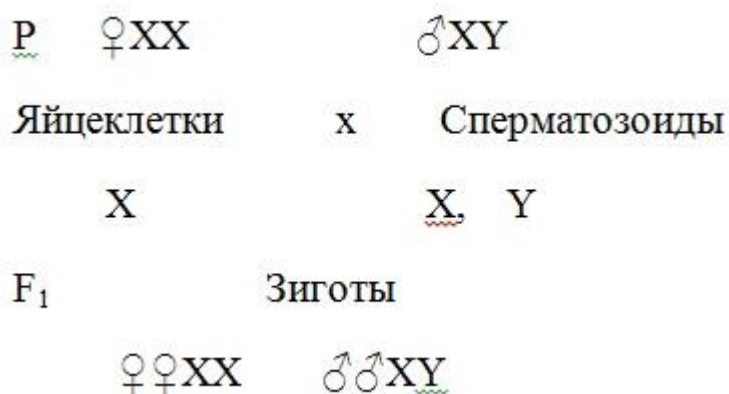
Литература:

1. Давыдова, О. К. Генетика бактерий в вопросах и ответах: учебное пособие / О. К. Давыдова; Оренбургский государственный университет. – Оренбург: Оренбургский государственный университет, 2015. – 178 с.

2. Мандель, Б. Р. Основы современной генетики: учебное пособие для учащихся высших учебных заведений (бакалавриат) / Б. Р. Мандель. – Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2016. – 334с.

РАЗДЕЛ VI. НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКОВ, СЦЕПЛЕННЫХ С ПОЛОМ

Признаки, гены которых локализованы на половых хромосомах, называют **признаками, сцепленными с полом**. Закономерности наследования этих признаков определяются особенностями наследования самих половых хромосом. У большинства живых организмов (в том числе человек и дрозофила) самки являются гомогаметным полом: они содержат две одинаковые X хромосомы. Самцы гетерогаметны, они содержат две хорошо различимые по строению хромосомы: X и Y. Наследование пола осуществляется по следующей схеме:



Гомогаметные по половым хромосомам самки образуют только один тип гамет X, а гетерогаметные самцы образуют 2 типа гамет – X и Y. В результате оплодотворения образуются самцы с генотипом XY и самки с генотипом XX. Такой механизм наследования пола обеспечивает наличие в популяции одинакового числа мужских и женских особей.

В X-хромосоме локализован ряд генов, которые, следовательно, наследуются сцепленно с полом. Учитывая, что у самцов Y-хромосома таких генов не содержит, всякий ген, локализованный в X-хромосоме, независимо от того, доминантный он или рецессивный, проявляется так, как будто он находится в гомозиготном состоянии. Подобное состояние называется **гемизиготным**. Например, все самцы дрозофилы, у которых в X-хромосоме локализован рецессивный ген *white*, будут белоглазыми.

Для изучения наследования признаков, сцепленных с полом, рекомендуется взять мух с генотипом Normal и скрещивать с рецессивным мутантом *white* (ген *white* локализован на X-хромосоме). В F₁ и в F₂ отношение мужских и женских особей будет одинаково – 1:1, наследование окраски глаз зависит от генотипов материнской и отцовской особей. При

скрещивании, когда материнская особь Normal, а отцовская white, все мухи F₁ имеют красные глаза, присущие материнским особям. В F₂ по окраске глаз наблюдается расщепление 3:1. Причем, все самки имеют красные глаза, а у самцов 50% особей красноглазых и 50% - белоглазых. При обратном скрещивании белоглазых самок с красноглазыми самцами в F₁ все самки имеют красные глаза, а самцы - белые. В F₂ по окраске глаз наблюдается расщепление 1:1. Причем, как у самок, так и у самцов 50% имеют красные, 50% - белые глаза.

Теоретические вопросы

- 1.Закономерности наследования признаков, сцепленных с полом.
- 2.Наследование пола. Гомо- и гетерогаметный пол.
- 3.Гемизиготное состояние гена.
- 4.Особенности наследования признаков, сцепленных с X-хромосомой.
- 5.Голандрический тип наследования.

Лабораторная работа №16

Тема: Наследование мутации белые глаза у *Drosophila melanogaster*

Цель работы: Изучить закономерности наследования признаков, сцепленных с полом на примере наследования мутации *white* у дрозофилы.

Задачи:

1. Познакомиться с определением пола у дрозофилы.
2. Провести скрещивание ♀Normal x ♂white, ♂Normal x ♀white.
3. Составить схему теоретически ожидаемого расщепления.
4. Проанализировать F₁ и поставить их на скрещивание для получения F₂.
5. Получить мух F₂ и проанализировать их.

Биологический материал: линии *Drosophila melanogaster* Normal (красные глаза), *white* (белые глаза).

Оборудование: стаканчики или широкие пробирки диаметром 4 см со свежеприготовленной средой; ватные пробки; эфир и морилки; молочно-белое стекло; лупа; пинцеты; кисти.

Ход работы:

- 1.Постановка скрещивания дрозофилы.
 - 1.1. Отобрать 2-3 виргинные самки *white* и поместить в стаканчик со средой с 3-4 самцами линии Normal.
 - 1.2. Отобрать 2-3 виргинные самки Normal и поместить в стаканчик со средой с 3-4 самцами *white*.
 - 1.3. Через 10-12 суток после постановки скрещивания, когда в стаканчике начнется массовое вылупление мух F₁, их следует усыпить и проанализировать. Сначала отделяют самцов от самок, а затем подсчитывают число белоглазых и красноглазых особей в каждой группе. Результаты подсчета следует записать в таблицу 4.

1.4. Среди гибридов F_1 следует отобрать 2-3 женские особи и 3-4 мужских и поместить их в чистые пробирки с питательной средой для получения F_2 .

1.5. Через 10-12 дней в стаканчиках начнется массовое вылупление мух F_2 . Их следует усыпить и анализировать на матово-белом стекле. Результаты занести в таблицу 4.

Таблица 4

Результаты гибридологического анализа при наследовании признаков, сцепленных с полом

Линии и гибриды	Проанализировано мух					Расщепление по окраске глаз	
	Всего о	В том числе				Теоретически ожидаемое	Фактически полученное
		♀	♂	Normal	white		
Прямое скрещивание							
♀ Normal ♂ white F ₁ Normal x white: самки самцы F ₂ Normal x white: самки самцы							
Обратное скрещивание							
♀ white ♂ Normal F ₁ white x Normal: самки самцы F ₂ white x Normal: самки самцы							

2. Анализ наследования мутации *white* у дрозофилы.

2.1. Составьте схему скрещивания и определите ожидаемое расщепление по фенотипу и генотипу у гибридов первого и второго поколения от прямого и обратного скрещивания, учитывая рецессивный характер мутации *white*. В прямом скрещивании, когда материнская особь Normal, а отцовская *white*, все мухи F_1 имеют красные глаза, а у гибридов F_2 наблюдается расщепление в соотношении 3:1. Причем, все самки имеют красные глаза, а у самцов 50%

особей красноглазых и 50% - белоглазых. При обратном скрещивании белоглазых самок с красноглазыми самцами в F_1 все самки имеют красные глаза, а самцы - белые. В F_2 по окраске глаз наблюдается расщепление 1:1. Причем, как у самок, так и у самцов 50% имеют красные, 50% - белые глаза.

2.2. Сформулируйте нулевую гипотезу о характере наследования данной мутации.

2.3. Пользуясь методом соответствия (χ^2) найдите теоретически ожидаемое число потомков каждого фенотипического класса у гибридов первого поколения (обратное скрещивание) и второго поколения и определить величину χ^2 .

2.4. Сформулируйте выводы о правильности нулевой гипотезы о характере наследования мутации *white*.

Задание на СРС:

1. Решение 5 генетических задач на наследование признаков, сцепленных с полом.
2. Оформление таблицы по лабораторной работе.

Литература:

1. Генетический анализ дрозофилы: практикум: учебное пособие / составители О. В. Гуменова, Г. Ф. Галикеева. — Уфа: БГПУ имени М. Акмуллы, 2020. — 55 с. — ISBN 978-5-907176-71-3. — Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/170430>
2. Общая генетика: практикум: [16+] / авт.-сост. М. В. Ульянова, В. Г. Дружинин, М. Б. Лавряшина; Кемеровский государственный университет. — 2-е изд., перераб. и доп. — Кемерово: Кемеровский государственный университет, 2019. — 78 с.

Лабораторная работа №17

Тема: Определение полового X-хроматина

Половой хроматин (тельце Барра) — конденсированный хроматин (гетерохроматин), содержащий ДНК одной из двух X -хромосом в ядрах клеток женского организма. В медицинской практике при экспресс-диагностике половой хроматин определяют в эпителиальных клетках слизистой оболочки щеки или в мазке периферической крови. В ядрах эпителиальных клеток половой хроматин выявляется в виде компактной глыбки хроматина, называемой тельцем Барра. В лейкоцитах периферической крови половой хроматин выявляется в виде «барабанных палочек» — глыбок хроматина, связанных тонкой нитью с ядром клетки. Исследование полового хроматина, кроме половой принадлежности, позволяет также установить аномалии в числе X-хромосом (рис. 2).

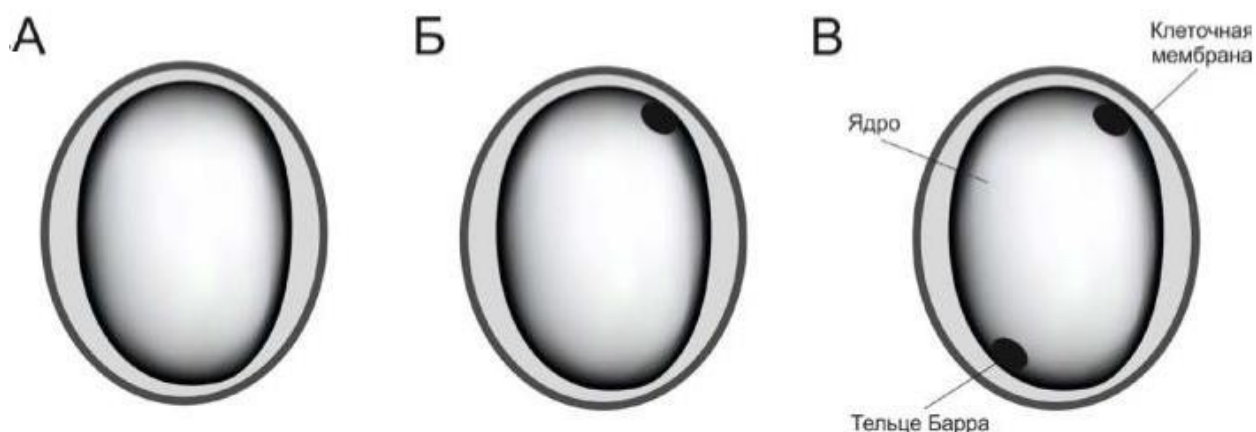


Рис. 2. Половой хроматин в эпителиальной клетке слизистой оболочки щеки человека. А — мужчина; Б — женщина; В — женщина с дополнительной X-хромосомой (47XXX). Овальной формы (0,7–1,2 мкм) тельце Барра локализуется на внутренней ядерной мембране [из: Moor K.L., 1977].

Цель работы: научиться делать препарат буккального эпителия; анализировать препарат под микроскопом; подсчитывать количество клеток, имеющих половой хроматин.

Оборудование: микроскоп, шпатели, спирт, марлевые салфетки, краска - ацетоорсеин, стекла: предметные и покровные.

Ход работы:

- 1) Приготовить предметное и покровное стекло: тщательно протереть их марлевой салфеткой.
- 2) Шпатель обработать спиртом и протереть салфеткой.
- 3) Протереть слизистую щеки и быстрым скользящим движением шпателя произвести соскоб.
- 4) Полученный материал перенести на предметное стекло и сделать тонкий мазок.

5) На мазок капнуть каплю 1 % ацетоорсеина и накрыть покровным стеклом. Сверху положить слой фильтровальной бумаги и слегка надавить пальцем в течение нескольких секунд. Удалить остатки краски. Не допустить сдвигание покровного стекла!

6) Изучение препарата производят в световом микроскопе с иммерсионной системой ($\times 1200 - 1500$).

На препарате половой хроматин виден в виде тельца, окрашенного в тёмный цвет окружённого более светлым ореолом. Размер его около 1 мкм. Расположен чаще всего под ядерной мембраной. Форма полового хроматина может быть чаще всего овальной, треугольной, реже иной.

В норме половой хроматин определяется в среднем у 30 % клеток женщин. Поэтому необходимо просмотреть несколько полей зрения в разных местах препарата и просчитать не менее 100 ядер.

7) Сделать вывод о содержании X-хроматина у обследованного и заполните таблицу.

Название болезни	Количества аутосом	Количество половых хромосом	Кариотип	Количество телец Бара ♂ ♀
Болезнь Дауна				
Синдром Шерешевского – Тернера				
Синдром Клайнфельтера				

Задание на СРС:

Ответьте на следующие вопросы:

1. Почему препарат кладётся покровным стеклом вверх, а не вниз?
2. Чему равно фокусное расстояние объективов 8х и 40х?
3. Для чего необходимо знать фокусное расстояние объективов?
4. Какой структурный компонент клетки содержит хроматин?
5. Что содержится в нуклеоплазме?
6. Как под микроскопом выглядит половой хроматин?
7. Чем образован половой хроматин?

Литература:

1. Мандель, Б. Р. Основы современной генетики: учебное пособие для учащихся высших учебных заведений (бакалавриат) / Б. Р. Мандель. – Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2016. – 334с.
2. Общая генетика: практикум: [16+] / авт.-сост. М. В. Ульянова, В. Г. Дружинин, М. Б. Лавряшина; Кемеровский государственный университет. – 2-е изд., перераб. и доп. – Кемерово: Кемеровский государственный университет, 2019. – 78 с.

РАЗДЕЛ VII. ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ЕЁ ТИПЫ

Изменчивость – это способность организмов утрачивать старые признаки и приобретать новые. Изменчивость делится на два типа: ненаследственная (модификационная), которая не передается потомству, и наследственная, связанная с изменением генотипа. Наследственная изменчивость может быть вызвана комбинацией родительских генов в потомстве (комбинативная изменчивость), комбинацией генов в пределах одного организма за счет процесса кроссинговера и вставки так называемых мобильных генетических элементов (рекомбинативная изменчивость) и, наконец, различными типами мутаций (мутационная изменчивость). Генная изменчивость вызвана мутацией в пределах конкретного гена, хромосомная – мутацией отдельной хромосомы, геномная – изменением числа хромосом в геноме. Все эти мутации закрепляются в генотипе и могут передаваться потомству.



Теоретические вопросы

1. Изменчивость и её типы.
2. Мутации. Виды мутаций.
3. Множественный аллелизм.
4. Критерии аллелизма.
5. Модификационная изменчивость и норма реакции.
6. Вариационный ряд и вариационная кривая.
7. Показатели модификационной изменчивости, характеризующие разнообразие признаков.
8. Свойства средних величин.

Лабораторная работа № 18

Тема: Анализ генных мутаций по типу множественного аллелизма

Мутационная изменчивость – это тип наследственной изменчивости, обусловленной возникновением **мутаций** – внезапных скачкообразных изменений генотипа. Мутации могут затрагивать отдельный ген (**генные мутации**), целую хромосому (**хромосомные мутации**) или изменять количество хромосом в геноме (**геномные мутации**).

К одному из основных из генетических явлений, увеличивающих резерв мутационной изменчивости и широко распространенных в природе, относится **множественный аллелизм**. Это явление связано с наличием в популяции более двух аллелей одного гена и часто возникает в результате генных мутаций. Так, окраску глаз у дрозофилы определяют более 50 генов, локализованных в различных хромосомах и взаимодействующих между собой. Если все эти гены представлены аллелями дикого типа, то при взаимодействии они определяют красную окраску глаз. Мутация даже в одном из генов может привести к изменению окраски глаз. Например, если ген *white* находится в мутантном гомозиготном состоянии, то глаза будут белые, а мутация в гене *vermilion* в гомозиготе определит гвоздичный цвет глаз.

Таким образом, изменение признака, по которому мы судим об изменении генотипа, может быть обусловлено мутациями в разных генах. Возникает вопрос: как определить, произошли две какие-либо независимо возникшие мутации в одном гене, или в разных, т.е. аллельны они, или нет? Каков критерий аллелизма? Ответ на этот вопрос дал еще Т.Морган, предложив функциональный (или комплементарный) критерий аллелизма. В его основе лежит представление о том, что при скрещивании двух мутантных форм, несущих мутации разных генов, определяющих один и тот же признак, возникает дигетерозигота, имеющая дикий фенотип. Аллели дикого типа доминируют в обоих случаях над мутантными и взаимодействуют между собой по типу комплементарности (откуда и произошло название критерия), определяя дикий фенотип гибрида. Если скрещиваются формы, имеющие мутантные аллели одного гена, то у гетерозиготных гибридов дикий тип не проявляется, а в зависимости от характера доминирования имеет место полное или неполное проявление признака одной из скрещиваемых форм. Функциональный тест в ряде случаев не является абсолютным, однако именно он (или аналогичный ему цис-транс тест) используется на практике для установления аллелизма.

Цель работы: познакомиться с генными мутациями и явлением множественного аллелизма, наследованием в серии множественных аллелей, функциональным критерием аллелизма.

Материал: гербарий листьев белого клевера (*Trifolium repens*); коллекция готовых микропрепаратов линий дрозофилы, различающихся по окраске глаз.

Живые объекты: на каждого студента - по три пробирки: в одной F1 от скрещивания дрозофил, имеющих белые и абрикосового цвета глаза; в другой F1 от скрещивания мух с белыми глазами и глазами киноварного цвета и в третьей F1 от скрещивания мух с абрикосовыми глазами и мух с глазами киноварного цвета. Возможно использование готовых цитологических препаратов.

Оборудование: микроскопы, лупы, простые карандаши, эфир, морилка, чашки Петри, ватные пробки, молочно-белое стекло, кисти, пинцеты.

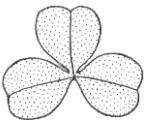
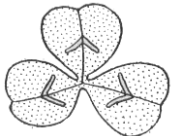
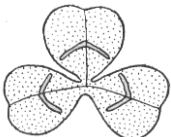
Ход работы:

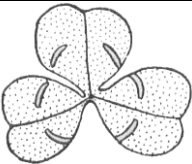
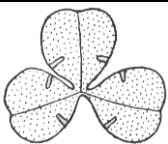
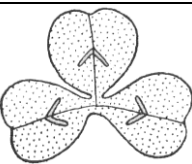
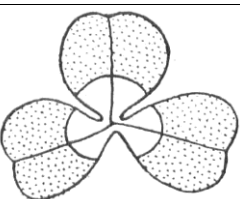
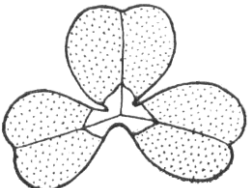
1.1. Ознакомиться с гербарием листьев белого клевера, проанализировать наличие и форму рисунка седых пятен на листьях. Ген, определяющий этот признак, обозначается буквой V с индексами и представлен восемью наиболее часто встречающимися аллелями (табл.5).

1.2. Сравнивая рисунок на листе гербария с рисунками, изображенными в таблице, определите генотип каждого экземпляра. В случае, если рисунки пятен, определяемые двумя аллелями, сливаются или имеет место полное доминирование, что делает невозможным определение генотипа, установите фенотипический радикал. Например, V^BV^H и V^BV^B имеют одинаковый фенотип ($\wedge$ -образное пятно с разрывом), V^BV^P и V^BV^B также фенотипически не различаются, поскольку аллель V^B полностью доминирует над аллелями V^H и V^P . Поэтому в данном случае логично обозначить только фенотипический радикал V^B -. Особи с генотипами V^FV^P и V^FV^L неотличимы от V^FV^F в силу слияния рисунков. Гетерозиготы с аллелем v также не отличаются от доминантных гомозигот.

1.3. Зарисуйте предложенные вам экземпляры и, пользуясь таблицей, определите генотипы или фенотипические радикалы. Запишите символы. Составьте серию всех встретившихся аллелей.

Таблица 5

Рисунок	Фенотип	Ген	Генотип
	Пятно отсутствует	v	vv
	Сплошное $\wedge$ -образное пятно	V	VV, Vv
	Сплошное высокое $\wedge$ -образное пятно	V^H	V^HV^H , V^Hv

	^-образное пятно с разрывом	V^B	$V^B V^B, V^B V, V^B V^H, V^B V^P$
	Высокое ^-образное пятно с разрывом	V^{Bh}	$V^{Bh} V^{Bh}, V^{Bh} V$
	^-образное пятно в центре	V^P	$V^P V^P, V^P V$
	Сплошное треугольное пятно на основании	V^F	$V^F V^F, V^F V$
	Сплошное небольшое треугольное пятно на основании	V^L	$V^L V^L$

2. Изучите коллекцию линий дрозофил, различающихся по окраске глаз, и познакомьтесь с серией множественных аллелей, отвечающих за этот признак. Серия аллелей, определяющих окраску глаз у дрозофилы, обозначается первой буквой от названия признака, впервые описанного: w (white - белый). Индекс указывает название признака, определяемого каждой конкретной аллелью: w^a - абрикосовые глаза, w^e - эозиновые, w^{ch} - вишневые, w^+ - красные (дикий тип), sp - киноварные. Опишите каждую линию. Все фенотипические описания должны сопровождаться указанием генотипа особи.

3. Определение аллельности мутаций в генах, определяющих окраску глаз у дрозофилы с помощью функционального критерия аллелизма. Для решения вопроса о том, аллельны ли мутации, обуславливающие белую, абрикосовую и киноварную окраску глаз у дрозофилы, необходимо провести следующие скрещивания:

Абрикосовые глаза х Белые глаза

Киноварные глаза х Абрикосовые глаза

Киноварные глаза х Белые глаза

3.1. Ознакомьтесь с результатами скрещиваний. Опишите окраску глаз у исходных и гибридных мух в каждом типе скрещивания в виде схемы:

Скрещивание №1 Р ♀ абрикосовые глаза х ♂ белые глаза

F₁ абрикосовые глаза

Скрещивание №2 Р ♀ киноварные глаза х ♂ абрикосовые глаза

F₁ красные глаза (дикий тип)

Скрещивание №3 Р ♀ киноварные глаза х ♂ белые глаза

F₁ красные глаза (дикий тип)

3.2. Анализируя результаты скрещивания №1, можно заключить, что мутации, определяющие белую и абрикосовую окраску глаз, аллельны, поскольку при скрещивании появилась окраска одной из родительских форм. У гибридов, полученных в результате скрещиваний №2 и №3, проявился новый признак – красная окраска глаз, что говорит о взаимодействии двух неаллельных генов по типу комплементарности.

3.3. Составьте схемы приведенных скрещиваний. Аллели гена *w* (white) локализованы в X-хромосоме. Признаки белый и абрикосовый цвет глаз будут сцеплены с полом, поэтому самки имеют две аллели, а самцы – одну. Киноварный цвет глаз определяет ген *sp*, локализованный во II хромосоме. У мух с киноварной окраской глаз этот ген в гомозиготном состоянии, а в X-хромосоме они имеют аллель дикого типа гена *white*, которая обозначается как *w*⁺. Мухи с абрикосовыми глазами гомозиготны по гену *w*^a - *w*^a*w*^a, а во II хромосоме обязательно имеют аллель дикого типа гена *sp*, которая обозначается *sp*⁺. Проявление у гибридов от скрещивания №2 дикого типа (красных глаз) можно объяснить так: аллель *w*⁺ доминирует над *w*^a, а аллель *sp*⁺ над аллелью *sp*. Неаллельные гены *w*⁺ и *sp*⁺ взаимодействуют между собой по типу комплементарности и определяют красную окраску глаз, характерную для дикого типа.

Задание на СРС:

1. Летом собрать гербарий клевера с различными типами рисунка седых пятен на листьях и описать их.
2. Решить 5 задач на скрещивания дрозофил.

Литература:

1. Генетический анализ дрозофилы: практикум: учебное пособие / составители О. В. Гумерова, Г. Ф. Галикеева. — Уфа: БГПУ имени М. Акмуллы, 2020. — 55 с. — ISBN 978-5-907176-71-3. — Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/170430> (
2. Общая генетика: практикум: [16+] / авт.-сост. М. В. Ульянова, В. Г. Дружинин, М. Б. Лавряшина; Кемеровский государственный университет. — 2-е изд., перераб. и доп. — Кемерово: Кемеровский государственный университет, 2019. — 78 с.

Лабораторная работа № 19

Тема: Модификационная изменчивость

Фенотипическое разнообразие особей, имеющих одинаковые генотипы, но развивающихся в различных условиях внешней среды, называется **модификационной изменчивостью**. Сущность модификационной изменчивости особенно хорошо видна на примере **количественных признаков** (такие свойства организма, которые можно охарактеризовать количественно – измерять, взвешивать и т.д., но их невозможно разложить на четкие фенотипические классы): организм наследует способность развития признака, степень выраженности которого зависит от взаимодействия генотипа и условий среды. Пределы, в которых данная способность может проявляться называются **нормой реакции**.

В группе особей, взятых для изучения, различные вариации одного и того же количественного признака встречаются неодинаковое число раз. Частота проявления определенных значений признака в совокупности называется **распределением**. Наглядное представление о разнообразии признака изучаемой совокупности дает графическое изображение этого распределения признака. Распределение можно изобразить в виде вариационного ряда, вариационной кривой или гистограммы. Для построения вариационного ряда, прежде всего, следует найти лимиты – максимальное ($x_{\max}$) и минимальное ($x_{\min}$) значение вариант. Лимиты указывают на общий размах модификационной изменчивости и широту нормы реакции изучаемых признаков. Двойной ряд чисел, отражающий распределение вариант по классам, называют **вариационным рядом**.

$$n = \sum f, \text{ где } f - \text{частота}$$

Основной параметр вариационного ряда – **среднее арифметическое** - $\bar{x}$, которое определяется по формуле:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i \cdot f}{n}$$

Среднее арифметическое является той величиной, которая меньше любой другой отличается от всех варьирующих величин, оно является коллективным портретом совокупности.

Вторым основным параметром вариационного ряда является **стандартное отклонение**. Обозначают его σ и определяют по формуле:

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2 \cdot f}{n-1}}$$

Стандартное отклонение показывает, насколько в среднем каждая вариация отличается от среднего арифметического, а знак « $\pm$ » показывает, что есть значения как больше, так и меньше, чем среднее.

При изучении модификационной изменчивости необходимо ответить на вопрос: «Насколько выборка (случайно отобранная группа) соответствует генеральной совокупности?». Поэтому нужно определить пределы, в которые будут укладываться средние арифметические всех выборок, сколько бы их не взяли из генеральной совокупности. Такая величина называется **ошибкой средней арифметической**, она обозначается m и вычисляется по формуле:

$$m = \frac{\sigma}{\sqrt{n-1}}$$

Ошибкой ее назвали не случайно, т.к. она показывает, насколько ошибаются, считая, что среднее арифметическое выборки равно среднему арифметическому генеральной совокупности. Значит, среднее арифметическое генеральной совокупности лежит в пределах $\bar{x} \pm m$.

Вариационный ряд можно изобразить графически в виде **гистограммы** или линейной кривой – **полигона распределения**. Для этого, используя систему координат, строят график: на горизонтальной оси (оси абсцисс) откладывают значения вариаций (x_i), а на вертикальной (оси ординат) – частоты (f). Если частоту каждой варианты изобразить в виде столбика, получают ступенчатую кривую, называемую **гистограммой**. Если в местах пересечения перпендикуляров, восстановленных из значений вариантов, с

горизонтальными линиями, проведенными из соответствующих им частот, ставят точки, которые затем соединяют ломаной линией, то получают **вариационную кривую** (рис. 3).

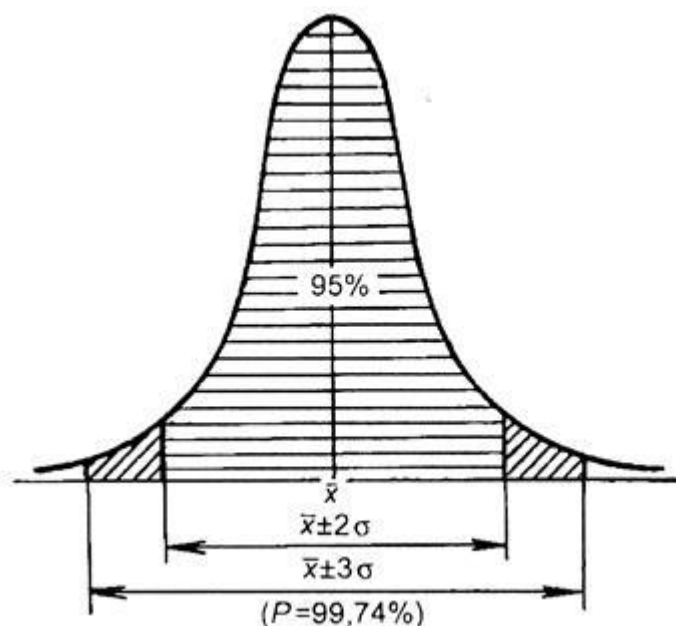


Рис. 3. Кривая нормального распределения признака

На графике хорошо видно, что среднее значение признака встречается чаще всего, а вариации, значительно отличающиеся от средней, встречаются очень редко. Поэтому необходимо оценить отношение отдельных вариантов к средней арифметической. Такая оценка проводится при помощи **нормированного отклонения (t)**.

$$t = \frac{x - \bar{x}}{\sigma}$$

Оказывается, в большинстве случаев, максимальная и минимальная варианты отстоят от среднего арифметического приблизительно на 3σ . И чем больше выборка, тем точнее это правило. Иными словами, пределы модификационной изменчивости определяются $\bar{x} \pm 3\sigma$ - **правило трех сигм**.

Цель работы: Ознакомление с различными типами распределения количественных признаков и приобретение навыков их графического изображения.

Задачи:

1. Построить вариационную кривую для признака интеллект (IQ);
2. Посчитать среднее арифметическое и стандартное отклонение в выборке для данного признака.

Ход работы:

П р и м е р. При изучении генеральной совокупности студентов по коэффициенту интеллекта (IQ), определенным по тесту Кеттелла, составлена следующая выборка, численностью 123 человек: 115, 141, 98, 89, 110, 100, 96, 112, 121, 134, 145, 85, 115, 112, 90, 110, 111, 115, 110, 97, 94, 116, 119, 118, 115, 84, 115, 112, 144

Для построения вариационного ряда, прежде всего, следует найти лимиты – максимальное ($x_{\max}$) и минимальное ($x_{\min}$) значение вариант. В приведенной выборке они выделены. Лимиты указывают на общий размах модификационной изменчивости и широту нормы реакции изучаемых признаков.

Установив границы классов, приступают к разноске вариант по классам, для чего составляют таблицу:

Варианта x_i	Частота f	$x_i \times f$	Отклонения $\bar{x} - x_i$	Квадраты отклонений $(\bar{x} - x_i)^2$	$(\bar{x} - x_i)^2 \times f$
84	1	84	-31	961	-29791
89	4	356	-26	676	-17576
95	6	570	-20	400	-8000
101	9	909	-14	196	-2744
105	12	1260	-10	100	-1000
112	17	1904	-3	9	-27
115	25	2875	0	0	0
121	18	2178	6	36	216
124	11	1364	9	81	729
129	9	1161	14	196	2744
135	7	945	20	400	8000
140	3	420	25	225	5625
144	1	144	29	841	24389
	$n = 123$	$\sum 14170$		$\sum = 4121$	$\sum = -17435$

В первой колонке выписываются все значения вариант (x_i) по возрастанию, начиная от минимального значения. Во второй колонке – количество вариант в классе, называемое **частотой** (f). Двойной ряд чисел, отражающий распределение вариант по классам, называют **вариационным рядом**.

$$n = \sum f, \quad n = 123$$

Основной параметр вариационного ряда – **среднее арифметическое** ($\bar{x}$), которое определяется по формуле:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i \cdot f}{n} \quad \bar{x} = 115$$

Среднее арифметическое является той величиной, которая меньше любой другой отличается от всех варьирующих величин, оно является коллективным портретом совокупности.

Вторым основным параметром вариационного ряда является **стандартное отклонение**. Обозначают его σ и определяют по формуле:

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2 \cdot f}{n-1}} \quad \sigma = \pm 11,9$$

для нахождения стандартного отклонения необходимо из каждой вариации вычесть среднее арифметическое, которое является своеобразным стандартом, разность возвести в квадрат и сумму квадратов разделить на **n-1**, называемое **числом степеней свободы**, затем вновь сделать величину линейной, т.е. извлечь квадратный корень.

Стандартное отклонение показывает, насколько в среднем каждая вариация отличается от среднего арифметического, а знак « $\pm$ » показывает, что есть значения как больше, так и меньше, чем среднее.

При изучении модификационной изменчивости необходимо ответить на вопрос: «Насколько выборка (случайно отобранная группа) соответствует генеральной совокупности?». Поэтому нужно определить пределы, в которые будут укладываться средние арифметические всех выборок, сколько бы их не взяли из генеральной совокупности. Такая величина называется **ошибкой средней арифметической**, она обозначается m и вычисляется по формуле:

$$m = \frac{\sigma}{\sqrt{n-1}}$$

$$m = 1,08$$

ошибкой ее назвали не случайно, т.к. она показывает, насколько ошибаются, считая, что среднее арифметическое выборки равно среднему арифметическому генеральной совокупности.

Значит, среднее арифметическое генеральной совокупности лежит в пределах $\bar{x} \pm m$.

Вариационный ряд можно изобразить графически в виде **гистограммы** или линейной кривой – **полигона распределения**. Для этого, используя систему координат, строят график: на горизонтальной оси (оси абсцисс) откладывают значения вариаций (x_i), а на вертикальной (оси ординат) – частоты (f). Если частоту каждой варианты изобразить в виде столбика, получают ступенчатую кривую, называемую **гистограммой**. Если в местах пересечения перпендикуляров, восстановленных из значений вариантов, с горизонтальными линиями, проведенными из соответствующих им частот, ставят точки,

которые затем соединяют ломаной линией, то получают **вариационную кривую**.

На графике хорошо видно, что среднее значение признака встречается чаще всего, а вариации, значительно отличающиеся от средней, встречаются очень редко. Поэтому необходимо оценить отношение отдельных вариантов к средней арифметической. Такая оценка проводится при помощи **нормированного отклонения (t)**. Показатель нормированного отклонения удобен как для оценки отдельных вариантов, так и при характеристике сравниваемых групп.

$$t = \frac{x - \bar{x}}{\sigma}$$

Оказывается, в большинстве случаев, максимальная и минимальная варианты отстоят от среднего арифметического приблизительно на 3σ . И чем больше выборка, тем точнее это правило. Иными словами, пределы модификационной изменчивости определяются $\bar{x} \pm 3\sigma$ - **правило трех сигм**.

Задание на СРС:

1. Построить вариационную кривую по данным лабораторной работы.
2. Решить 5 задач по определению параметров модификационной изменчивости.

Литература:

1. Алферова, Г. А. Генетика: учебник для вузов / Г. А. Алферова, Г. П. Подгорнова, Т. И. Кондаурова; под редакцией Г. А. Алферовой. — 3-е изд., испр. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2021. — 200 с.
2. Инге-Вечтомов, С. Г. Генетика с основами селекции: учеб. для студентов высш. учеб. заведений / Сергей Георгиевич; С. Г. Инге-Вечтомов. - 2-е изд. - СПб.: Издательство Н-Л, 2010.

Лабораторная работа №20

Тема: Генетическая детерминация признаков человека

Цель работы: составление «генетического портрета» индивида

Задачи:

2. Рассмотреть генетический контроль некоторых признаков человека.
3. Научиться применять теоретические знания для определения генетических основ детерминации признаков человека.
4. Наверное, вы не раз удивлялись, почему все люди так не похожи друг на друга, даже близкие родственники не выглядят точной копией друг друга.
5. Это связано с большим разнообразием существующих характерных черт в человеческой популяции и новыми их сочетаниями, образующимися в процессе репродукции человека.

Ход работы:

В ходе выполнения лабораторной работы нужно заполнить следующую таблицу по всем пунктам:

Таблица 6

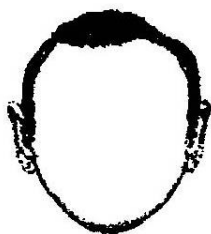
признак	Ген от мамы	Ген от папы	Генотип	Фенотип

Например, по пункту 1 таблица может выглядеть следующим образом:

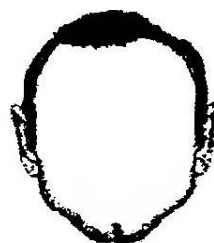
признак	Ген от мамы	Ген от папы	Генотип индивида	Фенотип индивида
1. Форма лица	r	r	rr	квадратная

1 Форма лица:

круглая (RR, Rr)



квадратная (rr)



2. Очертания подбородка:



очень выдающийся (VV, Vv)



менее выдающийся (vv)

3. **Форма подбородка** наследуется только в том случае, если подбородок очень выдающийся, и не наследуется, если менее (т.к. здесь результат супрессии генов, называемый эпистазом):

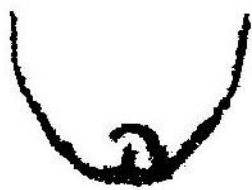


круглый (RR, Rr)



квадратный (rr)

4. Ямочка на подбородке:



присутствует (AA, Aa)



отсутствует (aa)

5. **Цвет кожи** - определяется полимерными генами A_1 , A_2 , A_3 , которые обладают аддитивным эффектом.

Чем больше доминантных аллелей присутствует в геноме, тем интенсивнее проявляется пигментация кожи:

6 доминантных аллелей – очень черная кожа

5 доминантных аллелей – очень коричневая кожа

4 доминантных аллеля – темно-коричневая кожа

3 доминантных аллеля – коричневая кожа

2 доминантных аллеля – светло-коричневая кожа

1 доминантный аллель – смуглая

0 доминантных аллелей – белая.

6. **Цвет волос**, подобно цвету кожи, определяется 4-мя полимерными генами.

8 доминантных аллелей – черные волосы

7 доминантных аллелей – очень коричневые волосы

6 доминантных аллелей – темно-каштановые волосы

5 и т.д...

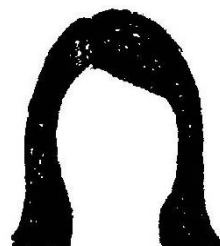
8. Тип волос:



курчавые (DD)

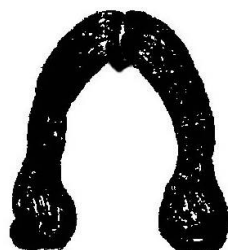


вьющиеся (Dd)



прямые (dd)

9. Волосы на лбу сходятся:



есть признак (KK, Kk)



нет признака (kk)

10. Цвет бровей:

очень темный (HH), темный (Hh), светлый (hh)

Помните, что цвет бровей может быть иным, чем цвет волос.

11. Толщина бровей:

густые (GG, Gg)



тонкие (gg)



12. Расположение бровей:



не соединяются (NN, Nn)



соединяются (nn)

13. Цвет глаз.

Складывается при комплементарном взаимодействии двух неаллельных генов, один из которых отвечает за количество пигмента меланина (AA –

много и Аа – мало меланина, аа – нет пигмента), а второй – за толщину пигментного слоя (ВВ – толстый слой, bb – тонкий слой).

ААВ-черные глаза;

АаВ-темно-карие глаза;

ааВ-серые глаза;

ААbbкарие глаза;

Ааbbзеленые глаза;

ааbbголубые глаза.

14. Расстояние между глаз:

близко посаженные(ТТ) среднее расстояние (Тt) широко расставленные(tt)



15. Размер глаз:



большие (JJ)

средние (Jj)

маленькие (jj)16.

Форма глаз:



удлиненная (АА, Аа)

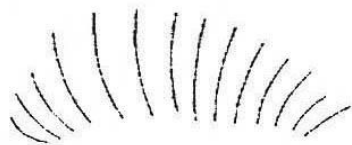
круглая (аа)17. Расположение глаз:



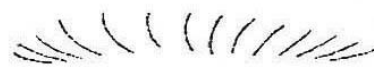
горизонтальное (НН, Нh)

угол поднят кверху (hh)

18. Ресницы:



длинные (LL, Ll)



короткие (ll)

19. Размер рта:



большой (MM)



средний (Mm)



маленький (mm)

20. Толщина губ:

полные (LL, Ll)



тонкие (ll)



21. Выпуклость губ:

очень выпуклые (HH)



умеренно выпуклые (Hh)



не выпуклые (hh)



22. Ямочки на щеках:



есть (DD, Dd)



нет (dd)



23. Размер носа:

большой (NN)

средний (Nn)

маленький (nn)

Форма носа:



круглый (QQ, Qq)

заостренный (qq)

25. Форма ноздрей:



круглые (RR, Rr)

узкие (rr)



26. Мочка уха:

свободная (FF, Ff)

сросшаяся (ff)

27. Дарвиновская точка:



есть (DD, Dd)

нет (dd)

28. Ямка на мочке:



есть (PP, Pp)



нет (pp)

29. Волосы на ушах:

волосы на ушах – признак, сцепленный с полом, локализуется в Y-хромосоме и проявляется только у мужчин.



есть нет



30. Веснушки на щеках:



есть (FF, Ff)



нет (ff)

31. Веснушки на лбу:

есть (ZZ, Zz)

нет (zz)



Задание на СРС:

Составьте схему родословной по каждому признаку и укажите генотипы всех членов семьи.

Литература:

1. Маскаева, Т. А. Генетика человека: учебное пособие / Т. А. Маскаева, М. В. Лабутина, Н. Д. Чегодаева. — Саранск: МГПИ им. М.Е. Евсевьева, 2019.
2. Нахаева, В. И. Общая генетика. Практический курс: учебное пособие для вузов / В. И. Нахаева. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2021. — 276 с.
3. Рубан, Э. Д. Генетика человека с основами медицинской генетики: учебник / Э. Д. Рубан; отв. ред. Д. В. Волкова. — Ростов-на-Дону: Феникс, 2020. — 319 с.

ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ЛАБОРАТОРИИ

1. Категорически запрещается пробовать какие-то вещества на вкус. Нюхать вещества и выделяющиеся газы следует издали, помахивая рукой от сосуда к себе.
2. При нагревании жидкости пробирку необходимо держать отверстием от себя и от других, находящихся рядом.
3. Сосуды с реактивами после употребления нужно закрывать пробками и ставить на прежние места.
4. Не выливать в раковины остатки кислот, щелочей и сильно пахнущих жидкостей, сливать их в соответствующие сливы.
5. Не бросать в раковину бумагу, песок и другие твердые вещества.
6. Держать дальше от огня легковоспламеняющиеся вещества.
7. После выполнения опыта вымыть посуду, привести в порядок рабочее место.
8. Во всех случаях уделяйте внимание защита глаз! Помните, что для роговицы глаз особенно опасны щёлочь и аммиак.

МЕРЫ ПЕРВОЙ ПОМОЩИ ПРИ НЕСЧАСТНЫХ СЛУЧАЯХ В ЛАБОРАТОРИИ

Первая помощь должно оказываться быстро и квалифицированно.

1. При порезах стеклом необходимо убедиться в отсутствии в ране осколков стекла, а затем смазать её края спиртовым раствором йода. После этого в случае необходимости накладывается повязка из стерильного бинта. При термических ожогах быстро сделать примочку этиловым спиртом или раствором марганцовокислого калия и покрыть обожжённое место мазью от ожогов, перевязать стерильной повязкой.
2. При термических ожогах 3 степени после оказания первой помощи обратиться к врачу.
3. В случае химического ожога кожи кислотой или щелочью быстро обмыть пораженное место большим количеством воды (мыть под краном не менее пяти минут), а затем: при ожоге кислотами обработать 2 %- ным раствором пищевой соды или слабым раствором нашатырного спирта; при ожоге щелочами - обработать 1 %- ным раствором уксусной кислоты. После нейтрализации кислоты или щелочи кожу обмыть водой, обработать дезинфицирующим средством: спиртом, раствором йода, раствором марганцовки, покрыть мазью от ожогов и перевязать стерильной повязкой.
4. При попадании кислоты или щелочи в глаза необходимо промыть их большим количеством воды, а затем: промыть 0,5%-ным раствором пищевой соды при попадании кислоты; при попадании щелочи - 1 %-ным раствором борной кислоты и вызвать врача.

ЭЛЬВИРА МАНСУРОВНА ГАЛИМОВА
ГУЗЕЛЬ ФАНИЛЕВНА ГАЛИКЕЕВА
ОКСАНА ВЛАДИМИРОВНА ГУМЕРОВА

ГЕНЕТИКА
С ОСНОВАМИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ
БИОЛОГИИ

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

\

МИНПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИИ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМ. М. АКУЛЛЫ»**

О.В. Гумерова

**ГЕНЕТИКА
DROSOPHILA MELANOGASTER**

РАБОЧАЯ ТЕТРАДЬ

УФА 2020

УДК 571.1 (075.3)
ББК 28.04я73
Г93

Гумерова, О.В. Генетика *Drosophila melanogaster*: рабочая тетрадь /
О.В. Гумерова. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2020. – 36 с.

Пособие предназначено для бакалавров дневной формы обучения направления «Биология» профиля «Генетика» Естественно-географического факультета Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы.

Рабочая тетрадь составлена в соответствии с государственным образовательным стандартом высшего образования по направлению подготовки 06.03.01 Биология, рабочей программой дисциплины и предназначена для индивидуальной работы студентов по дисциплине «Большой практикум по генетике».

Рабочая тетрадь является учебным пособием по выполнению лабораторных работ по курсу «Большой практикум по генетике». Разработанная в соответствии с программой курса, она содержит необходимые рекомендации по организации, порядку проведения и оформления работ, а также примеры выполнения отдельных заданий.

© Издательство БГПУ, 2020

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Рабочая тетрадь по генетике дрозофилы составлена на основе требований ФГОС по направлению подготовки 06.03.01 «Биология» и направлена на формирование:

знаний

- биологии и морфологии классического объекта генетических исследований – *Drosophila melanogaster*;
- закономерностей наследования признаков;
- закономерностей сцепленного и сцепленного с полом наследования;
- закономерностей мутационной изменчивости;

умений и навыков:

- лабораторного содержания дрозофилы как модельного объекта генетических исследований;
- постановки скрещиваний;
- статистического анализа результатов экспериментов.

Тетрадь предназначена для студентов направления 06.03.01 «Биология» профиля «Генетика» и преследует цель помочь студентам систематизировать учебный материал, выработать четкость и ясность изложения. Тетрадь содержит в себе задания, выполнение которых способствует систематическому и более глубокому усвоению материала.

Изучая основные разделы генетики дрозофилы студенту необходимо заполнить имеющиеся таблицы, схемы и подписать рисунки. Рабочая тетрадь может являться отчетным материалом для сдачи зачета по дисциплине «Большой практикум по генетике», служит для привития навыков самостоятельной работы и закрепления изученного учебного материала.

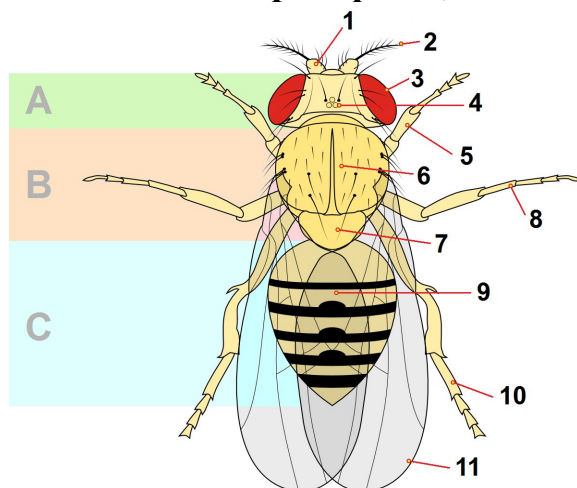
1. МОРФОЛОГИЯ И БИОЛОГИЯ ДРОЗОФИЛЫ

1.1. Запишите систематическое положение вида *Drosophila melanogaster*

Царство	
Тип	
Класс	
Отряд	
Семейство	
Вид	

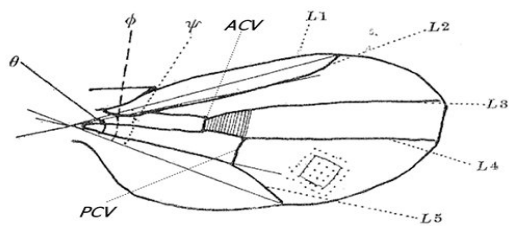
1.2. Перечислите особенности дрозофилы, делающие её удобным объектом генетических исследований

1.3. Укажите части тела дрозофилы, обозначенные на рисунке



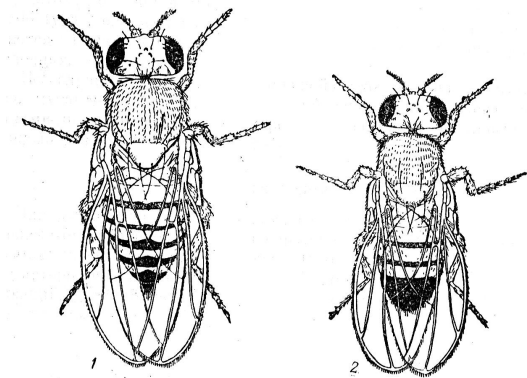
Часть тела	Наименование
A	
B	
C	
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	

1.4. Изучите схему строения крыла дрозофилы и запишите название жилок



Обозначение	Название
ACV	
L1	
L2	
L3	
L4	
L5	

1.5. Рассмотрите рисунок. Запишите в таблицу морфологические отличия самок (1) и самцов (2) дрозофилы.



Признаки самки	Признаки самца

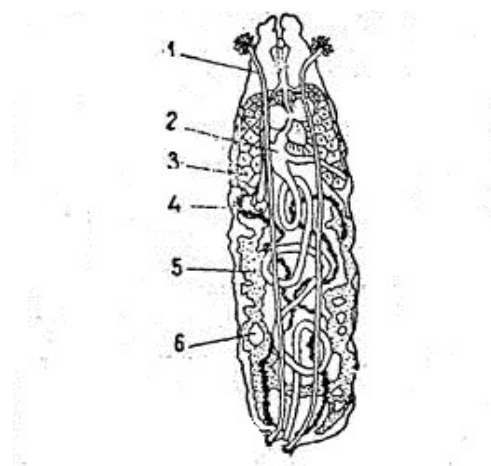
1.6. Зарисуйте схему жизненного цикла дрозофилы. Запишите название и продолжительность каждой стадии

Стадия	Продолжительность

1.7. Запишите морфологические особенности дрозофилы на каждой стадии развития

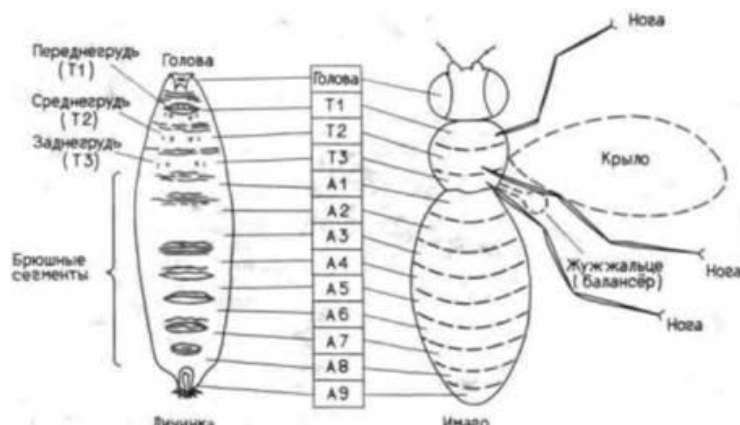
Яйцо	
Личинка	
Куколка	
Имаго	

1.8. Изучите строение личинки дрозофилы и обозначьте органы в таблице



1 –	4 –
2 –	5 –
3 –	6 –

1.9. Изучите расположение сегментов дрозофилы и внесите их названия в таблицу



T1 -	A1 – A8
T2 -	A -9
T3 -	

1.10. Заполните таблицу по биологическим особенностям вида *Drosophila mltanogarter*

Показатель	Значение
Общая продолжительность жизненного цикла	
Продолжительность жизни (в лабораторных условиях)	
Среднее количество яиц в кладке	
Среднее количество яиц от одной самки в течении жизни	
Готовность к оплодотворению (часов после вылупления): самки	
Готовность к оплодотворению (часов после вылупления): самцы	

2. УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ И ПРАВИЛА РАБОТЫ С ДРОЗОФИЛОЙ

2.1. Заполните таблицу, записав оптимальные условия содержания дрозофилы и последствия их нарушения

Параметр	Оптимальное значение	Последствия нарушений условий содержания
Температура		
Влажность		
Плотность колонии		
Освещенность		

2.2. Перечислите компоненты питательной среды дрозофил и их функции

Компонент	Функция

2.3. Запишите компоненты, входящие в состав питательной среды для дрозофилы с указанием их количества из расчета на 250 мл среды

Компонент	Количество (гр)
1.	1.
2.	2.
3.	3.
4.	4.
5.	5.
6.	6.

2.4. Запишите последовательность технологических операций при приготовлении питательной среды для дрозофилы

№	Технологическая операция

2.5. Перечислить инвентарь, необходимый для работы с дрозофилой в зависимости от назначения

Назначение	Инвентарь
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

2.6. Запишите основные правила наркотизации дрозофилы

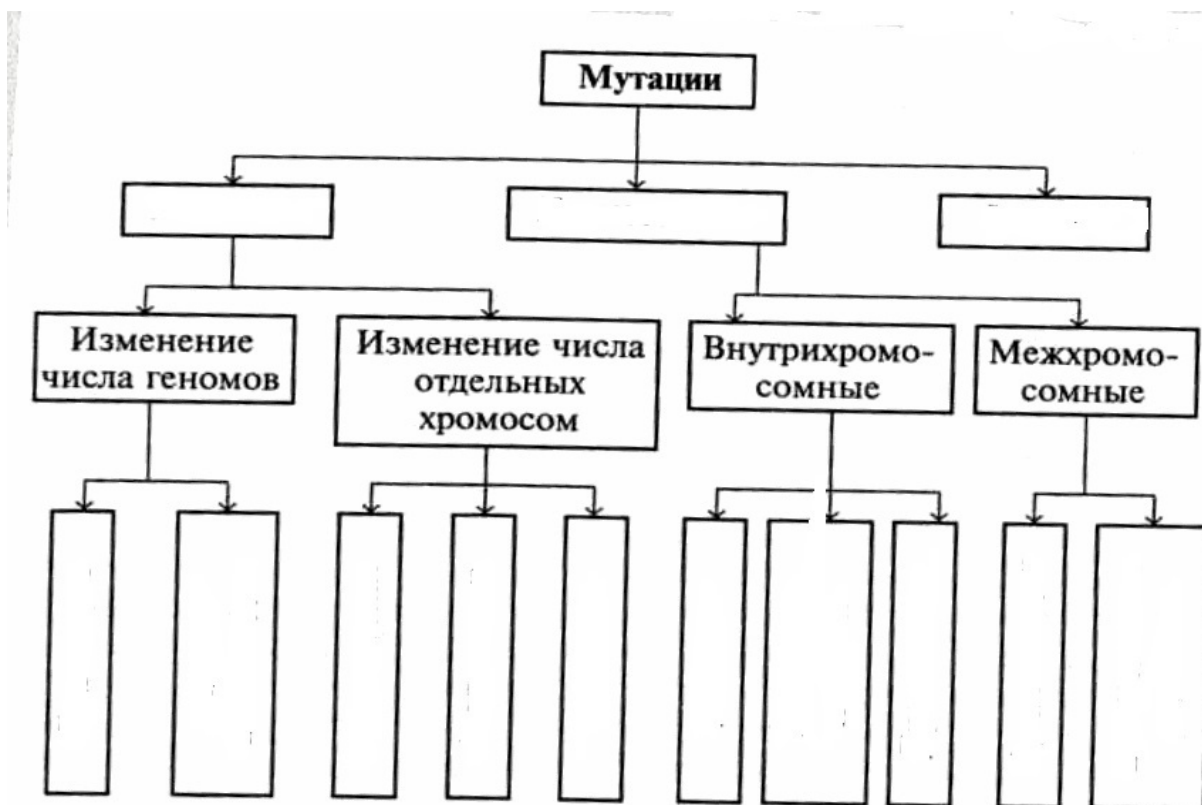
2.7. Запишите правила отбора виргинных самок

2.8. Перечислите последовательность действий при постановке скрещивания дрозофил

№	Описание действия

3. МУТАЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС У ДРОЗОФИЛЫ

3.1. Заполните схему «Типы мутаций»



3.2. Укажите к какому типу (генная, геномная, хромосомная) относятся приведенные в таблице мутации и дайте их определения

Мутация	Тип	Определение
Триплоидия		
Трансверсия		
Транслокация		
Инверсия		

3.3. Заполните таблицу по номенклатуре мутаций дрозофилы по приведенному примеру

Символ	Обозначение
black (b)	Наименование рецессивной мутации (символ рецессивной мутации)
Bar (B)	
П	
13.3	
abc	
S/D	
ab;c	

3.4. Дайте фенотипическую характеристику линии *Normal* (дикий тип)

3.5. Дайте фенотипическую характеристику приведенных записей мутаций и мутантных линий

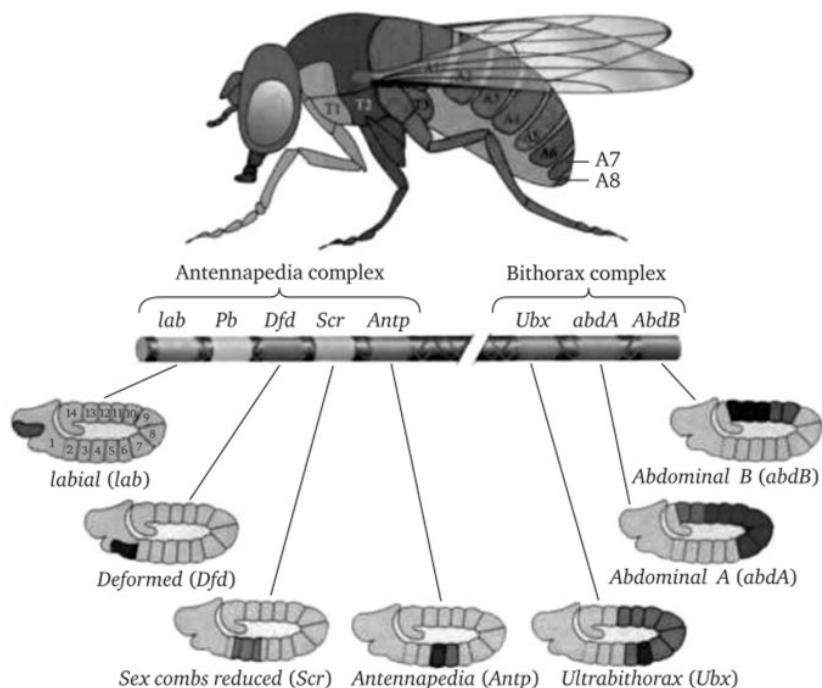
w;l;1,5	
D;III;40,4	
y w v	
B; cn	

3.6. Заполните таблицу по характеристике мутантных линий дрозофилы

Мутантная линия	Фенотип	Характер наследования	ген	Хромосома
<i>yellow</i>	Желтый цвет тела	Рецессивный	y	I
<i>white</i>				
<i>cut</i>				
<i>vermilion</i>				
<i>Bar</i>				
<i>Shot</i>				
<i>black</i>				
<i>purple</i>				
<i>cinnobar</i>				
<i>vestigial</i>				
<i>curved</i>				

<i>Curly</i>				
<i>eyelles</i>				
<i>brawn</i>				
<i>ebony</i>				
<i>scarlet</i>				
<i>bright</i>				
<i>Dichaete</i>				
<i>Notch</i>				
<i>straw</i>				
<i>wa</i>				
<i>Star</i>				
<i>Lobe</i>				
<i>cardinal</i>				
<i>sepia</i>				
<i>Delta</i>				
<i>bobbed</i>				
<i>dumpy</i>				
<i>clarett</i>				
<i>hairy body</i>				
<i>Meller-5</i>				

3.7. Изучите строение кластеров гомеозисных генов и запишите в таблицу фенотипическое проявление гомеозисных мутаций



Ген	Фенотипическое проявление мутации
labial	
Probospectia	
Sex combs reduced	
Antennapedia	
Ultrabithorax	
Abdominal A	
Abdominal B	

4. ЗАКОНЫ МЕНДЕЛЯ И УСЛОВИЯ ИХ ПРОЯВЛЕНИЯ

4.1. Заполните по образцу схему «Типы наследования признаков»



4.2. Напишите схему реципрокного скрещивания мутантной линии *black* (черное тело) с линией *Normal* (серый цвет тела)

4.3. Заполните таблицу по данной схеме скрещивания

Показатель	Прямое скрещивание	Обратное скрещивание
Фенотип самки		
Генотип самки		
Фенотип самца		
Генотип самца		
Фенотип гибридов F1		
Генотип гибридов F1		
Расщепление в F1		
Расщепление по фенотипу в F1		
Расщепление по генотипу в F1		

4.4. Запишите формулировку первого закона Менделя

4.5. Запишите формулировку второго закона Менделя

4.6. С моделируйте результаты расщепления во втором поколении от скрещивания линий *black* (черное тело) и *Normal* (серый цвет тела), используя для этого две монеты. Решка обозначает доминантный аллель, а орёл – рецессивный. Для моделирования генотипа нужно подбросить две монеты одновременно, определив генотип по сочетанию граней. Рецессивный генотип определяется, если обе монеты упали решкой, гомозиготный по доминанте – если обе монеты упали орлами и гетерозиготный - при сочетании решки и орла соответственно. Повторите моделирование 40 раз для прямого скрещивания и столько же для обратного. Запишите результаты в таблицу

Генотип	Прямое скрещивание	Обратное скрещивание
AA		
Aa		
aa		
Итого	40	40

4.7. Сравните расщепление в проведенном вами опыте с теоретически ожидаемым по закону Менделя и заполните таблицу

Показатель	Значение (прямое скрещивание)	Значение (обратное скрещивание)
Теоретически ожидаемое число потомков с рецессивным признаком		
Теоретически ожидаемое число потомков с доминантным признаком		
Наблюдаемое число потомков с рецессивным признаком		
Наблюдаемое число потомков с доминантным признаком		
Значение χ^2		
Число степеней свободы		

4.8. Составьте сводную таблицу по результатам эксперимента в прямом скрещивании в вашей группе

№ эксперимента	Серые	Черные	Значение χ^2
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
Итого			

4.9. Сравните расщепление по суммарным данным вашей группы с теоретически ожидаемым по закону Менделя и заполните таблицу

Показатель	Значение
Теоретически ожидаемое число потомков с рецессивным признаком	
Теоретически ожидаемое число потомков с доминантным признаком	
Наблюдаемое число потомков с рецессивным признаком	
Наблюдаемое число потомков с доминантным признаком	
Значение χ^2	
Число степеней свободы в опыте	

4.10. Сформулируйте выводы по результатам проделанной работы о типе наследования мутации *black*

4.11. Запишите схему скрещивания линии *ebony* (темное тело) с линией *cinnabar* (ярко-красные глаза)

4.12. Запишите формулировку третьего закона Менделя

4.13. Смоделируйте результаты расщепления во втором поколении от скрещивания линий *ebony* (темное тело) и *cinnobar* (ярко-красные глаза) по принципу, изложенному в пункте 4.6. В данном случае решка означает рецессивный фенотип, а орел – доминантный фенотип. Повторите моделирование 64 раза. Занесите результаты в таблицу

Фенотип	Значение
A-B- серое тело, красные глаза	
A-bb серое тело, ярко-красные глаза	
aaB- черное тело, красные глаза	
aabb черное тело, ярко-красные глаза	
Итого	64

4.14. Сравните расщепление в вашем эксперименте с теоретически ожидаемым по закону Менделя и заполните таблицу

Показатель	Значение
Теоретически ожидаемое число потомков с фенотипом A-B-	
Наблюдаемое число потомков с с фенотипом A-B-	
Теоретически ожидаемое число потомков с фенотипом A-bb	
Наблюдаемое число потомков с фенотипом A-bb	
Теоретически ожидаемое число потомков с фенотипом aaB-	
Наблюдаемое число потомков с фенотипом aaB-	
Теоретически ожидаемое число потомков с фенотипом aabb	
Наблюдаемое число потомков с фенотипом aabb	
Значение χ^2	
Число степеней свободы в опыте	

4.15. Составьте сводную таблицу по результатам эксперимента в вашей группе

№	Фенотип				Значение
	A-B-	A-bb	aaB-	aabb	χ^2
1					
2					
3					
4					
5					
6					
Итого					

4.16. Сравните расщепление по суммарным данным вашей группы с теоретически ожидаемым по закону Менделя и заполните таблицу

Показатель	Значение
Теоретически ожидаемое число потомков с фенотипом A-B-	
Наблюдаемое число потомков с с фенотипом A-B-	
Теоретически ожидаемое число потомков с фенотипом A-bb	
Наблюдаемое число потомков с фенотипом A-bb	
Теоретически ожидаемое число потомков с фенотипом aaB-	
Наблюдаемое число потомков с фенотипом aaB-	
Теоретически ожидаемое число потомков с фенотипом aabb	
Наблюдаемое число потомков с фенотипом aabb	
Значение χ^2	
Число степеней свободы в опыте	

4.17. Сформулируйте выводы по результатам проделанной работы о типе наследования мутаций ebony и cinnamon

5. ГЕНЕТИКА ПОЛА ДРОЗОФИЛЫ

5.1. Заполните таблицу по половой идентификации дрозофил согласно балансовой теории К.Бриджеса

Название	Кариотип	Половой индекс
Нормальная самка	6AXX	1
Нормальный самец		
Сверхсамка		
Сверхсамец		
Интерсекс		

5.2. Определите половой индекс особей по указанному кариотипу

Кариотип	Половой индекс	Пол
9AXXX		
6AXXY		
9AXXY		
9AXX		
6AXXX		

5.3. Дайте фенотипическую характеристику аллелям ряда white

Аллель	Фенотип
w	
w ⁱ	
w ^p	
w ^t	
w ^{bf}	
w ^h	
w ^a	
w ^{ch}	

5.4. Напишите схему прямого скрещивания линии white (белые глаза) и линии Normal (красные глаза)

5.5. Напишите схему обратного скрещивания линии white (белые глаза) и линии Normal (красные глаза)

Показатель	Прямое скрещивание	Обратное скрещивание
Фенотип самки		
Генотип самки		
Фенотип самца		
Генотип самца		
Фенотип гибридов F1		
Генотип гибридов F1		
Расщепление в F1		
Расщепление по фенотипу в F1		
Расщепление по генотипу в F1		

Обратное скрещивание

5.8. Заполните таблицу по данной схеме скрещивания

Показатель	Прямое скрещивание	Обратное скрещивание
Фенотип самки		
Генотип самки		
Фенотип самца		
Генотип самца		
Фенотип гибридов F1		
Генотип гибридов F1		
Расщепление в F1		
Расщепление по фенотипу в F1		
Расщепление по генотипу в F1		

6. СЦЕПЛЕННОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ

6.1. Используя генетическую карту дрозофилы, отметьте знаком «+» пары мутаций, находящиеся в одной группе сцепления. Рассчитайте расстояние между данными генами

Мутации	+/-	Расстояние (сМ)
yellow, white		
black, white		
Bar, yellow		
ebony, Bar		
vermillion, yellow		
vermillion, cinnobar		

6.2. Напишите схему анализирующего скрещивания дигетерозиготного самца, полученного при скрещивании линий black (черное тело) и vestigial (зачаточные крылья). Помните, что у самцов дрозофилы кроссинговер отсутствует

6.3. Заполните таблицу по данной схеме скрещивания

Генотип родителя с черным телом	
Генотип родителя с зачаточными крыльями	
Генотип гибридов F1	
Фенотип гибридов F1	
Генотип линии-анализатора	
Число фенотипических классов в потомстве анализирующего скрещивания	
Число генотипических классов в потомстве анализирующего скрещивания	
Расщепление по генотипу в потомстве анализирующего скрещивания	
Расщепление по фенотипу в потомстве анализирующего скрещивания	

6.4. Дайте определение полного сцепления генов

6.5. Напишите схему анализирующего скрещивания дигетерозиготной самки, полученной при скрещивании линий black (черное тело) и vestigial (зачаточные крылья). Определите соотношение гамет и соотношение фенотипических и генотипических классов в потомстве с учетом расстояния между генами в 17сМ

6.6. Заполните таблицу по данной схеме скрещивания

Генотип родителя с черным телом	
Генотип родителя с зачаточными крыльями	
Генотип гибридов F1	
Фенотип гибридов F1	
Генотип линии-анализатора	
Число фенотипических классов в потомстве анализирующего скрещивания	
Число генотипических классов в потомстве анализирующего скрещивания	
Соотношение по генотипу в потомстве анализирующего скрещивания	
Соотношение по фенотипу в потомстве анализирующего скрещивания	

6.7. Дайте определение неполного сцепления генов

6.8. Сделайте вывод о наследовании мутаций black и vestigial

6.9. Постройте генетическую карту участка X-хромосомы дрозофилы, если известно, что в анализирующих скрещиваниях процент кроссинговера между генами а и b составил 1,3%, b и c - 32,6%, а и c - 33,9 %.

6.10. Заполните таблицу по результатам предыдущего задания

Гены локализованы на хромосоме в последовательности	
Дальше всего друг от друга локализованы гены	
Ближе всего друг к другу находятся гены	
Правило аддитивности выполняется/не выполняется	
Генам а, b, c могут соответствовать мутации дрозофилы (согласно генетической карте)	

ОКСАНА ВЛАДИМИРОВНА ГУМЕРОВА

**ГЕНЕТИКА
DROSOPHILA MELANOGASTER**

РАБОЧАЯ ТЕТРАДЬ

МИНПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИИ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМ. М. АКУЛЛЫ»**

О.В. Гумерова

**ГЕНЕТИКА
DROSOPHILA MELANOGASTER**

РАБОЧАЯ ТЕТРАДЬ

УФА 2020

УДК 571.1 (075.3)
ББК 28.04я73
Г93

Гумерова, О.В. Генетика *Drosophila melanogaster*: рабочая тетрадь /
О.В. Гумерова. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2020. – 36 с.

Пособие предназначено для бакалавров дневной формы обучения направления «Биология» профиля «Генетика» Естественно-географического факультета Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы.

Рабочая тетрадь составлена в соответствии с государственным образовательным стандартом высшего образования по направлению подготовки 06.03.01 Биология, рабочей программой дисциплины и предназначена для индивидуальной работы студентов по дисциплине «Большой практикум по генетике».

Рабочая тетрадь является учебным пособием по выполнению лабораторных работ по курсу «Большой практикум по генетике». Разработанная в соответствии с программой курса, она содержит необходимые рекомендации по организации, порядку проведения и оформления работ, а также примеры выполнения отдельных заданий.

© Издательство БГПУ, 2020

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Рабочая тетрадь по генетике дрозофилы составлена на основе требований ФГОС по направлению подготовки 06.03.01 «Биология» и направлена на формирование:

знаний

- биологии и морфологии классического объекта генетических исследований – *Drosophila melanogaster*;
- закономерностей наследования признаков;
- закономерностей сцепленного и сцепленного с полом наследования;
- закономерностей мутационной изменчивости;

умений и навыков:

- лабораторного содержания дрозофилы как модельного объекта генетических исследований;
- постановки скрещиваний;
- статистического анализа результатов экспериментов.

Тетрадь предназначена для студентов направления 06.03.01 «Биология» профиля «Генетика» и преследует цель помочь студентам систематизировать учебный материал, выработать четкость и ясность изложения. Тетрадь содержит в себе задания, выполнение которых способствует систематическому и более глубокому усвоению материала.

Изучая основные разделы генетики дрозофилы студенту необходимо заполнить имеющиеся таблицы, схемы и подписать рисунки. Рабочая тетрадь может являться отчетным материалом для сдачи зачета по дисциплине «Большой практикум по генетике», служит для привития навыков самостоятельной работы и закрепления изученного учебного материала.

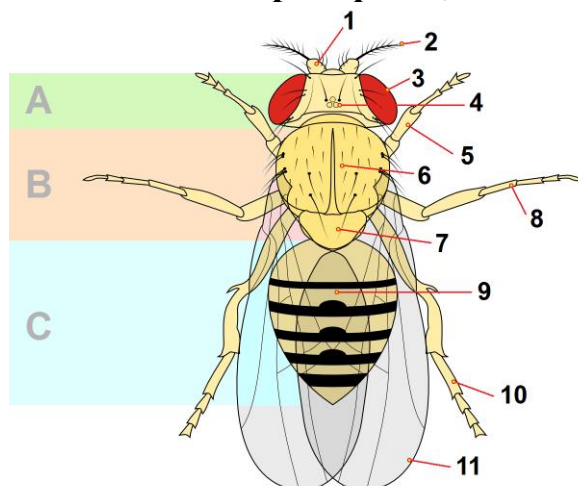
1. МОРФОЛОГИЯ И БИОЛОГИЯ ДРОЗОФИЛЫ

1.1. Запишите систематическое положение вида *Drosophila melanogaster*

Царство	
Тип	
Класс	
Отряд	
Семейство	
Вид	

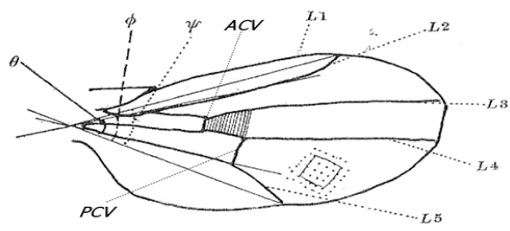
1.2. Перечислите особенности дрозофилы, делающие её удобным объектом генетических исследований

1.3. Укажите части тела дрозифилы, обозначенные на рисунке



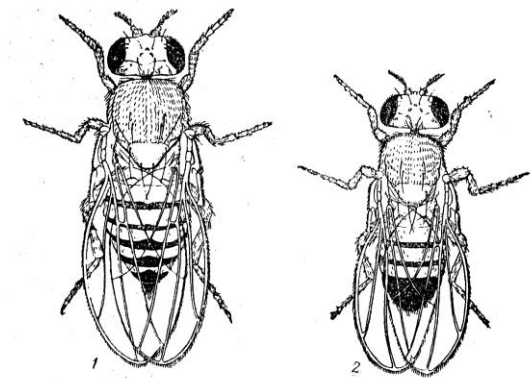
Часть тела	Наименование
A	
B	
C	
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	

1.4. Изучите схему строения крыла дрозофилы и запишите название жилок



Обозначение	Название
ACV	
L1	
L2	
L3	
L4	
L5	

1.5. Рассмотрите рисунок. Запишите в таблицу морфологические отличия самок (1) и самцов (2) дрозофилы.



Признаки самки	Признаки самца

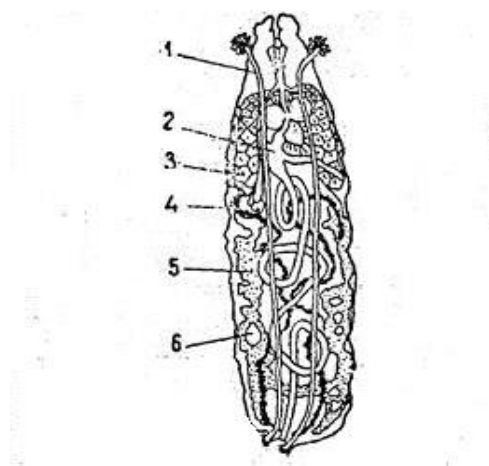
1.6. Зарисуйте схему жизненного цикла дрозофилы. Запишите название и продолжительность каждой стадии

Стадия	Продолжительность

1.7. Запишите морфологические особенности дрозофилы на каждой стадии развития

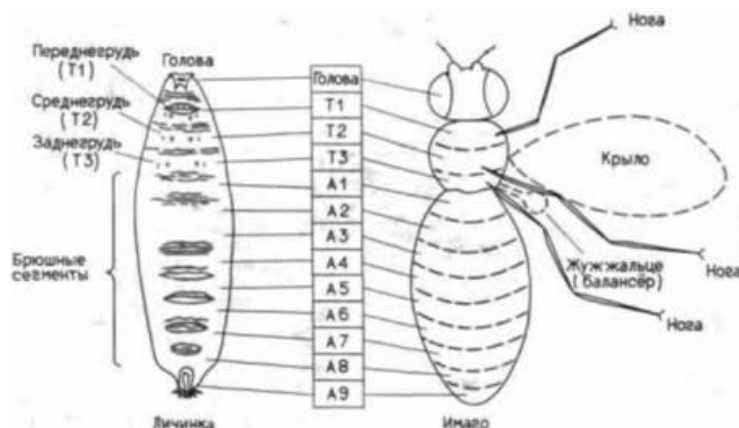
Яйцо	
Личинка	
Куколка	
Имаго	

1.8. Изучите строение личинки дрозофилы и обозначьте органы в таблице



1 –	4 –
2 –	5 –
3 –	6 –

1.9. Изучите расположение сегментов дрозофилы и внесите их названия в таблицу



T1 -	A1 – A8
T2 -	A -9
T3 -	

1.10. Заполните таблицу по биологическим особенностям вида *Drosophila mltanogarter*

Показатель	Значение
Общая продолжительность жизненного цикла	
Продолжительность жизни (в лабораторных условиях)	
Среднее количество яиц в кладке	
Среднее количество яиц от одной самки в течении жизни	
Готовность к оплодотворению (часов после вылупления): самки	
Готовность к оплодотворению (часов после вылупления): самцы	

2. УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ И ПРАВИЛА РАБОТЫ С ДРОЗОФИЛОЙ

2.1. Заполните таблицу, записав оптимальные условия содержания дрозифилы и последствия их нарушения

Параметр	Оптимальное значение	Последствия нарушений условий содержания
Температура		
Влажность		
Плотность колонии		
Освещенность		

2.2. Перечислите компоненты питательной среды дрозофил и их функции

Компонент	Функция

2.3. Запишите компоненты, входящие в состав питательной среды для дрозофилы с указанием их количества из расчета на 250 мл среды

Компонент	Количество (гр)
1.	1.
2.	2.
3.	3.
4.	4.
5.	5.
6.	6.

2.4. Запишите последовательность технологических операций при приготовлении питательной среды для дрозофилы

№	Технологическая операция

2.5. Перечислить инвентарь, необходимый для работы с дрозофилой в зависимости от назначения

Назначение	Инвентарь
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

2.6. Запишите основные правила наркотизации дрозофилы

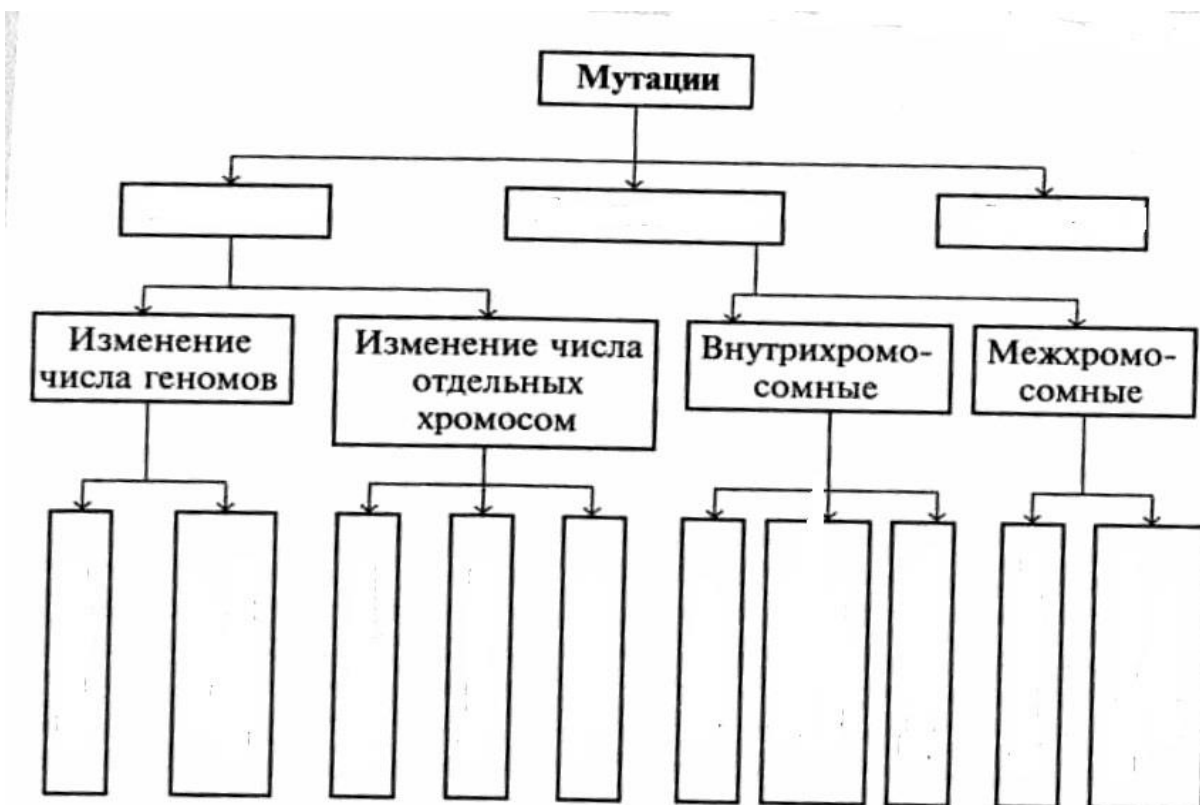
2.7. Запишите правила отбора виргинных самок

2.8. Перечислите последовательность действий при постановке скрещивания дрозофил

№	Описание действия

3. МУТАЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС У ДРОЗОФИЛЫ

3.1. Заполните схему «Типы мутаций»



3.2. Укажите к какому типу (генная, геномная, хромосомная) относятся приведенные в таблице мутации и дайте их определения

Мутация	Тип	Определение
Триплоидия		
Трансверсия		
Транслокация		
Инверсия		

3.3. Заполните таблицу по номенклатуре мутаций дрозофилы по приведенному примеру

Символ	Обозначение
black (b)	Наименование рецессивной мутации (символ рецессивной мутации)
Bar (B)	
II	
13.3	
abc	
S/D	
ab;c	

3.4. Дайте фенотипическую характеристику линии *Normal* (дикий тип)

3.5. Дайте фенотипическую характеристику приведенных записей мутаций и мутантных линий

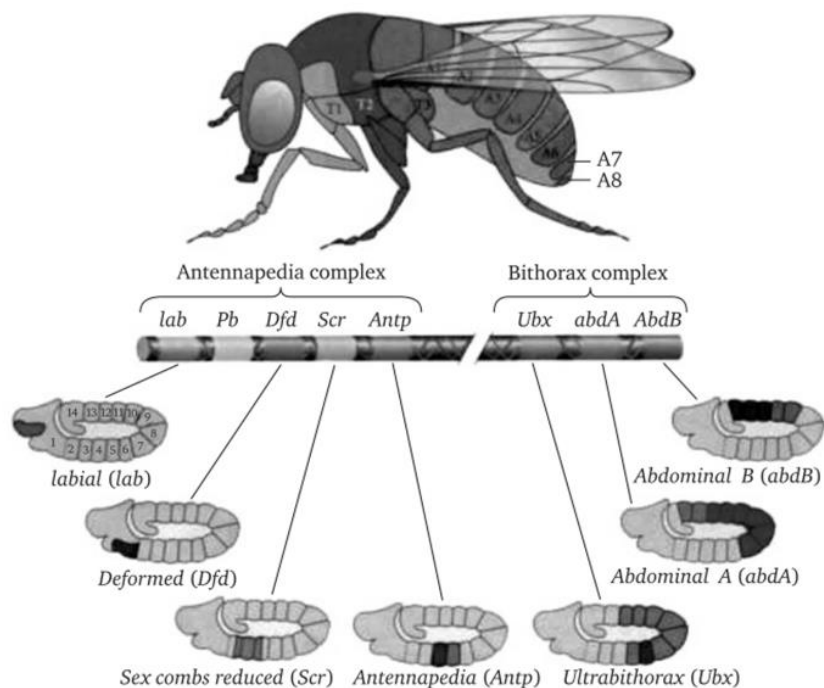
w;I;1,5	
D;III;40,4	
y w v	
B; cn	

3.6. Заполните таблицу по характеристике мутантных линий дрозофилы

Мутантная линия	Фенотип	Характер наследования	ген	Хромосома
<i>yellow</i>	Желтый цвет тела	Рецессивный	y	I
<i>white</i>				
<i>cut</i>				
<i>vermilion</i>				
<i>Bar</i>				
<i>Shot</i>				
<i>black</i>				
<i>purple</i>				
<i>cinnobar</i>				
<i>vestigial</i>				
<i>curved</i>				

<i>Curly</i>				
<i>eyelles</i>				
<i>brawn</i>				
<i>ebony</i>				
<i>scarlet</i>				
<i>bright</i>				
<i>Dichaete</i>				
<i>Notch</i>				
<i>straw</i>				
<i>wa</i>				
<i>Star</i>				
<i>Lobe</i>				
<i>cardinal</i>				
<i>sepia</i>				
<i>Delta</i>				
<i>bobbed</i>				
<i>dumpy</i>				
<i>clarett</i>				
<i>hairy body</i>				
<i>Meller-5</i>				

3.7. Изучите строение кластеров гомеозисных генов и запишите в таблицу фенотипическое проявление гомеозисных мутаций



Ген	Фенотипическое проявление мутации
labial	
Probospectia	
Sex combs reduced	
Antennapedia	
Ultrabithorax	
Abdominal A	
Abdominal B	

4. ЗАКОНЫ МЕНДЕЛЯ И УСЛОВИЯ ИХ ПРОЯВЛЕНИЯ

4.1. Заполните по образцу схему «Типы наследования признаков»



4.2. Напишите схему реципрокного скрещивания мутантной линии *black* (черное тело) с линией *Normal* (серый цвет тела)

4.3. Заполните таблицу по данной схеме скрещивания

Показатель	Прямое скрещивание	Обратное скрещивание
Фенотип самки		
Генотип самки		
Фенотип самца		
Генотип самца		
Фенотип гибридов F1		
Генотип гибридов F1		
Расщепление в F1		
Расщепление по фенотипу в F1		
Расщепление по генотипу в F1		

4.4. Запишите формулировку первого закона Менделя

4.5. Запишите формулировку второго закона Менделя

4.6. С моделируйте результаты расщепления во втором поколении от скрещивания линий *black* (черное тело) и *Normal* (серый цвет тела), используя для этого две монеты. Решка обозначает доминантный аллель, а орёл – рецессивный. Для моделирования генотипа нужно подбросить две монеты одновременно, определив генотип по сочетанию граней. Рецессивный генотип определяется, если обе монеты упали решкой, гомозиготный по доминанте – если обе монеты упали орлами и гетерозиготный - при сочетании решки и орла соответственно. Повторите моделирование 40 раз для прямого скрещивания и столько же для обратного. Занесите результаты в таблицу

Генотип	Прямое скрещивание	Обратное скрещивание
АА		
Аа		
аа		
Итого	40	40

4.7. Сравните расщепление в проведенном вами опыте с теоретически ожидаемым по закону Менделя и заполните таблицу

Показатель	Значение (прямое скрещивание)	Значение (обратное скрещивание)
Теоретически ожидаемое число потомков с рецессивным признаком		
Теоретически ожидаемое число потомков с доминантным признаком		
Наблюдаемое число потомков с рецессивным признаком		
Наблюдаемое число потомков с доминантным признаком		
Значение χ^2		
Число степеней свободы		

4.8. Составьте сводную таблицу по результатам эксперимента в прямом скрещивании в вашей группе

№ эксперимента	Серые	Черные	Значение χ^2
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
Итого			

4.9. Сравните расщепление по суммарным данным вашей группы с теоретически ожидаемым по закону Менделя и заполните таблицу

Показатель	Значение
Теоретически ожидаемое число потомков с рецессивным признаком	
Теоретически ожидаемое число потомков с доминантным признаком	
Наблюдаемое число потомков с рецессивным признаком	
Наблюдаемое число потомков с доминантным признаком	
Значение χ^2	
Число степеней свободы в опыте	

4.10. Сформулируйте выводы по результатам проделанной работы о типе наследования мутации *black*

4.11. Запишите схему скрещивания линии *ebony* (темное тело) с линией *cinnabar* (ярко-красные глаза)

4.12. Запишите формулировку третьего закона Менделя

4.13. Смоделируйте результаты расщепления во втором поколении от скрещивания линий *ebony* (темное тело) и *cinnobar* (ярко-красные глаза) по принципу, изложенному в пункте 4.6. В данном случае решка означает рецессивный фенотип, а орел – доминантный фенотип. Повторите моделирование 64 раза. Занесите результаты в таблицу

Фенотип	Значение
A-B- серое тело, красные глаза	
A-bb серое тело, ярко-красные глаза	
aaB- черное тело, красные глаза	
aabb черное тело, ярко-красные глаза	
Итого	64

4.14. Сравните расщепление в вашем эксперименте с теоретически ожидаемым по закону Менделя и заполните таблицу

Показатель	Значение
Теоретически ожидаемое число потомков с фенотипом А-В-	
Наблюдаемое число потомков с с фенотипом А-В-	
Теоретически ожидаемое число потомков с фенотипом А-bb	
Наблюдаемое число потомков с фенотипом А-bb	
Теоретически ожидаемое число потомков с фенотипом aaВ-	
Наблюдаемое число потомков с фенотипом aaВ-	
Теоретически ожидаемое число потомков с фенотипом aabb	
Наблюдаемое число потомков с фенотипом aabb	
Значение χ^2	
Число степеней свободы в опыте	

4.15. Составьте сводную таблицу по результатам эксперимента в вашей группе

№	Фенотип				Значение
	А-В-	А-bb	aaВ-	aabb	χ^2
1					
2					
3					
4					
5					
6					
Итого					

4.16. Сравните расщепление по суммарным данным вашей группы с теоретически ожидаемым по закону Менделя и заполните таблицу

Показатель	Значение
Теоретически ожидаемое число потомков с фенотипом A-B-	
Наблюдаемое число потомков с с фенотипом A-B-	
Теоретически ожидаемое число потомков с фенотипом A-bb	
Наблюдаемое число потомков с фенотипом A-bb	
Теоретически ожидаемое число потомков с фенотипом aaB-	
Наблюдаемое число потомков с фенотипом aaB-	
Теоретически ожидаемое число потомков с фенотипом aabb	
Наблюдаемое число потомков с фенотипом aabb	
Значение χ^2	
Число степеней свободы в опыте	

4.17. Сформулируйте выводы по результатам проделанной работы о типе наследования мутаций *ebony* и *cinnober*

5. ГЕНЕТИКА ПОЛА ДРОЗОФИЛЫ

5.1. Заполните таблицу по половой идентификации дрозофил согласно балансовой теории К.Бриджеса

Название	Кариотип	Половой индекс
Нормальная самка	6AXX	1
Нормальный самец		
Сверхсамка		
Сверхсамец		
Интерсекс		

5.2. Определите половой индекс особей по указанному кариотипу

Кариотип	Половой индекс	Пол
9AXXX		
6AXXY		
9AXXY		
9AXX		
6AXXX		

5.3. Дайте фенотипическую характеристику аллелям ряда white

Аллель	Фенотип
w	
w ⁱ	
w ^p	
w ^t	
w ^{bf}	
w ^h	
w ^a	
w ^{ch}	

5.4. Напишите схему прямого скрещивания линии white (белые глаза) и линии Normal (красные глаза)

5.5. Напишите схему обратного скрещивания линии white (белые глаза) и линии Normal (красные глаза)

5.6. Заполните таблицу по данной схеме скрещивания

Показатель	Прямое скрещивание	Обратное скрещивание
Фенотип самки		
Генотип самки		
Фенотип самца		
Генотип самца		
Фенотип гибридов F1		
Генотип гибридов F1		
Расщепление в F1		
Расщепление по фенотипу в F1		
Расщепление по генотипу в F1		

5.7. Напишите схему реципрокного скрещивания линии white apricot (абрикосовые глаза) с линией white (белые глаза) с учетом того, что это мутации одного гена между которыми проявляется неполное доминирование

Прямое скрещивание

Обратное скрещивание

5.8. Заполните таблицу по данной схеме скрещивания

Показатель	Прямое скрещивание	Обратное скрещивание
Фенотип самки		
Генотип самки		
Фенотип самца		
Генотип самца		
Фенотип гибридов F1		
Генотип гибридов F1		
Расщепление в F1		
Расщепление по фенотипу в F1		
Расщепление по генотипу в F1		

6. СЦЕПЛЕННОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ

6.1. Используя генетическую карту дрозофилы, отметьте знаком «+» пары мутаций, находящиеся в одной группе сцепления. Рассчитайте расстояние между данными генами

Мутации	+/-	Расстояние (сМ)
yellow, white		
black, white		
Bar, yellow		
ebony, Bar		
vermillion, yellow		
vermillion, cinnabar		

6.2. Напишите схему анализирующего скрещивания дигетерозиготного самца, полученного при скрещивании линий black (черное тело) и vestigial (зачаточные крылья). Помните, что у самцов дрозофилы кроссинговер отсутствует

6.3. Заполните таблицу по данной схеме скрещивания

Генотип родителя с черным телом	
Генотип родителя с зачаточными крыльями	
Генотип гибридов F1	
Фенотип гибридов F1	
Генотип линии-анализатора	
Число фенотипических классов в потомстве анализирующего скрещивания	
Число генотипических классов в потомстве анализирующего скрещивания	
Расщепление по генотипу в потомстве анализирующего скрещивания	
Расщепление по фенотипу в потомстве анализирующего скрещивания	

6.4. Дайте определение полного сцепления генов

6.5. Напишите схему анализирующего скрещивания дигетерозиготной самки, полученной при скрещивании линий black (черное тело) и vestigial (зачаточные крылья). Определите соотношение гамет и соотношение фенотипических и генотипических классов в потомстве с учетом расстояния между генами в 17сМ

6.6. Заполните таблицу по данной схеме скрещивания

Генотип родителя с черным телом	
Генотип родителя с зачаточными крыльями	
Генотип гибридов F1	
Фенотип гибридов F1	
Генотип линии-анализатора	
Число фенотипических классов в потомстве анализирующего скрещивания	
Число генотипических классов в потомстве анализирующего скрещивания	
Соотношение по генотипу в потомстве анализирующего скрещивания	
Соотношение по фенотипу в потомстве анализирующего скрещивания	

6.7. Дайте определение неполного сцепления генов

6.8. Сделайте вывод о наследовании мутаций black и vestigial

6.9. Постройте генетическую карту участка X-хромосомы дрозофилы, если известно, что в анализирующих скрещиваниях процент кроссинговера между генами а и b составил 1,3%, b и c - 32,6%, а и c - 33,9 %.

6.10. Заполните таблицу по результатам предыдущего задания

Гены локализованы на хромосоме в последовательности	
Дальше всего друг от друга локализованы гены	
Ближе всего друг к другу находятся гены	
Правило аддитивности выполняется/не выполняется	
Генам а, b, c могут соответствовать мутации дрозофилы (согласно генетической карте)	

ОКСАНА ВЛАДИМИРОВНА ГУМЕРОВА

**ГЕНЕТИКА
DROSOPHILA MELANOGASTER**

РАБОЧАЯ ТЕТРАДЬ

МИНПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИИ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ
ИМ. М. АКМУЛЛЫ»**

**Г.Ф.Галикеева
Э.М.Галимова
С.В.Любина**

**ГЕНЕТИКА
С ОСНОВАМИ СЕЛЕКЦИИ**

РАБОЧАЯ ТЕТРАДЬ

УФА 2021

УДК 571.1 (075.3)
ББК 28.04я73
Г93

Галикеева, Г.Ф., Галимова, Э.М., Любина С.В. Генетика с основами селекции: рабочая тетрадь / Г.Ф.Галикеева, Э.М.Галимова, С.В.Любина. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2021. – 88 с.

Пособие предназначено для бакалавров дневной формы обучения направления «Биология» Естественно-географического факультета Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы.

Рабочая тетрадь составлена в соответствии с государственным образовательным стандартом высшего образования по направлению подготовки 06.03.01 Биология, рабочей программой дисциплины и предназначена для индивидуальной работы студентов по дисциплине «Генетика».

Рабочая тетрадь является учебным пособием по выполнению лабораторных работ по курсу «Генетика». Разработанная в соответствии с программой курса, она содержит задания, позволяющие закрепить и структурировать теоретический и практический материал, проработанный на аудиторных занятиях.

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Рабочая тетрадь по генетике с основами селекции составлена на основе требований ФГОС по направлению подготовки 06.03.01 «Биология» и направлена на формирование:

знаний

- законов наследования,
- цитологических законов наследования,
- строения ДНК,
- механизмов матричных процессов в клетке,
- особенностей строения и функционирования генов про- и эукариот,
- особенностей наследования признаков, сцепленных с полом,
- основных понятий и определений популяционной генетики,
- особенностей селекции по качественным и количественным признакам,
- способов отбора пар для скрещиваний,
- особенностей проведения отдаленной гибридизации.

умений и навыков

- проведения скрещивания и анализа потомства,
- проведения генетического анализа наследования признаков,
- определения частот аллелей и генотипов в популяции,
- определения основного числа полиплоидного ряда,
- решения ситуационных генетических задач,
- обработки научной литературы и создания на основе полученных данных интерактивных проектов.

Тетрадь предназначена для студентов направления 06.03.01 «Биология» всех профилей подготовки и преследует цель помочь студентам систематизировать учебный материал, выработать четкость и ясность изложения. Тетрадь содержит в себе задания, выполнение которых способствует систематическому и более глубокому усвоению материала.

Изучая основные разделы генетики студенту необходимо заполнить имеющиеся таблицы, схемы и подписать рисунки. Рабочая тетрадь может являться отчетным материалом для сдачи блоков по дисциплине «Генетика», служит для привития навыков самостоятельной работы и закрепления изученного учебного материала.

Оглавление

I. История развития, основные достижения и проблемы генетики	5
II. Цитологические основы наследственности	8
1. Строение клетки	8
2. Строение хромосомы	9
3. Типы клеточного деления	10
III. Гаметогенез	15
1. Споро- и гаметогенез у цветковых растений	15
2. Гаметогенез у человека	18
IV. Молекулярные основы наследственности	21
1. Строение ДНК и РНК	21
2. Матричные процессы	23
V. Закономерности наследования признаков	28
1. Моногенное наследование признаков	28
2. Ди- и полигенное наследование признаков	31
3. Взаимодействие неаллельных генов	35
4. Сцепленное с полом наследование	44
5. Сцепленное наследование и кроссинговер	51
VI. Мутационная изменчивость	60
1. Генные мутации	60
2. Хромосомные мутации	62
3. Геномные мутации	64
VII. Модификационная изменчивость	68
VIII. Закономерности наследования признаков в популяциях	74
IX. Генетические основы селекции	79

Раздел I. История развития, основные достижения и проблемы генетики

В результате освоения данной темы студент должен знать: место генетики в современной биологической науке; цели и задачи генетики как науки; значение генетики; ведущих ученых в области генетики.

1. Дайте определение понятиям:

Генетика

Наследственность

Изменчивость

2. Заполните таблицу:

Раздел науки	Решаемые задачи
Общая генетика	
Цитогенетика	
Медицинская генетика	
Экологическая генетика	
Молекулярная генетика	

3. Заполните таблицу:

№ п/п	Дата	Описание открытия в области генетики	Авторы открытия
1	1866 г.		
2	1871 г.		
3	1900 г.		
4	1907 г.		
5	1909 г.		
6	1911 г.		
7	1953 г.		
8	1961 г.		
9	1988 г.		
10	1997 г.		

4. Составьте справку о ведущих ученых в области генетики:

№ п/п	ФИО ученого	Вклад в развитие генетики	Год	Источник
1				
2				
3				
4				

5				
6				
7				
8				

Оценка: _____ Подпись: _____ Преподаватель: _____

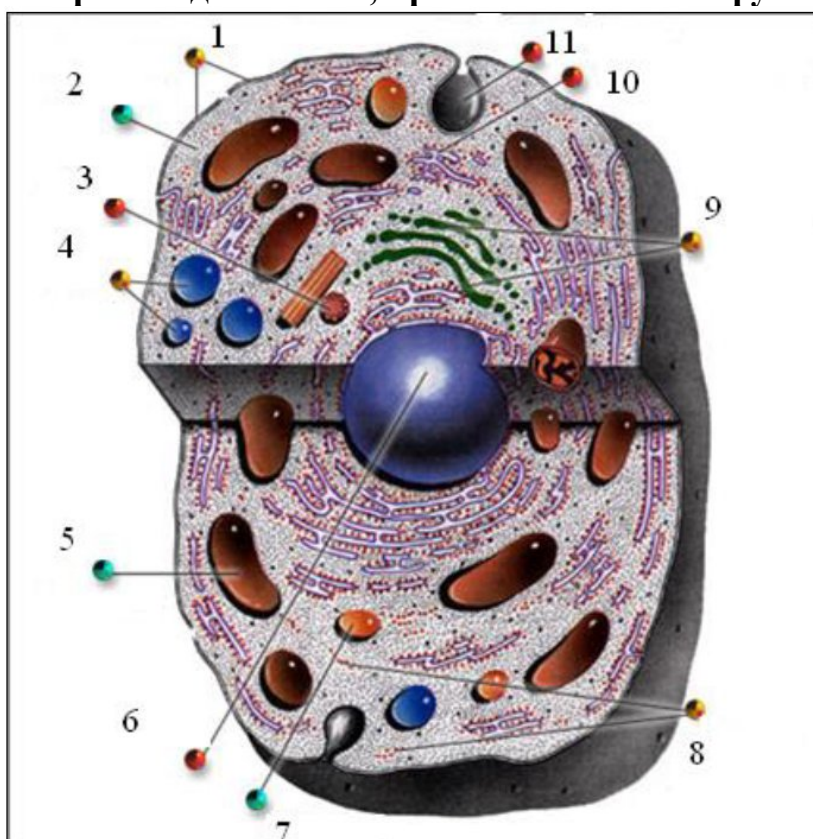
Замечания: _____

Раздел II. Цитологические основы наследственности

В результате освоения данного раздела студент должен знать: строение эукариотической клетки; этапы клеточного цикла; типы клеточного деления, биологическую роль и сущность процессов митоза и мейоза; строение и функции хромосом; механизмы нарушения клеточного деления.

2.1. Строение клетки

1. Обозначьте органоиды клетки, кратко опишите их функции:



№	Органелла, функции
1	
2	
3	
4	

5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	

2.2. Строение хромосомы

1. Дайте определения понятиям:

Хромосома

Центромера

Политенная хромосома

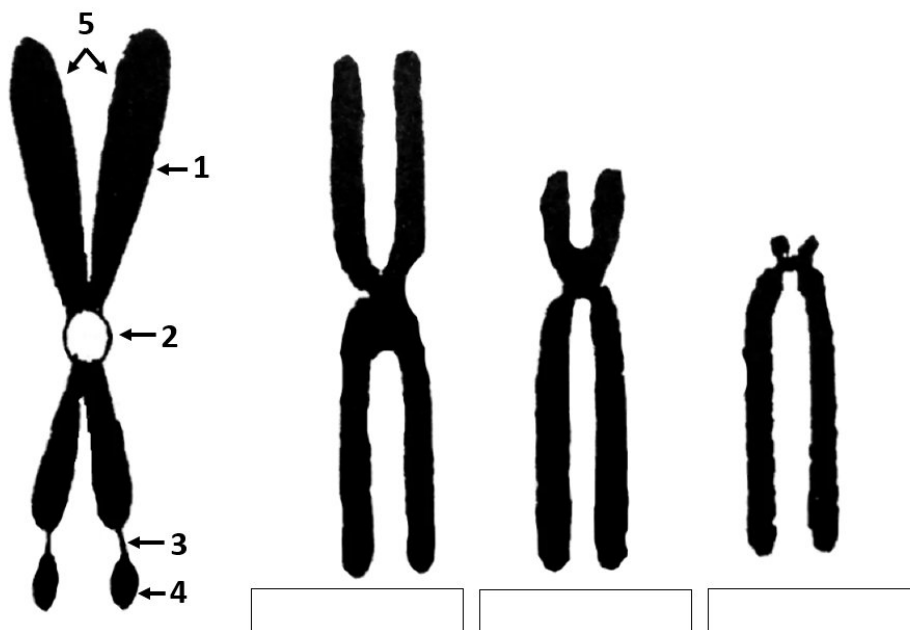
Аутосома

Кариотип

Кариограмма

2. Укажите название типов хромосом и частей хромосомы.

1 _____, 2 _____, 3 _____,
4 _____, 5 _____.



2.3. Типы клеточного деления

1. Дайте определения понятиям:

Клеточный цикл

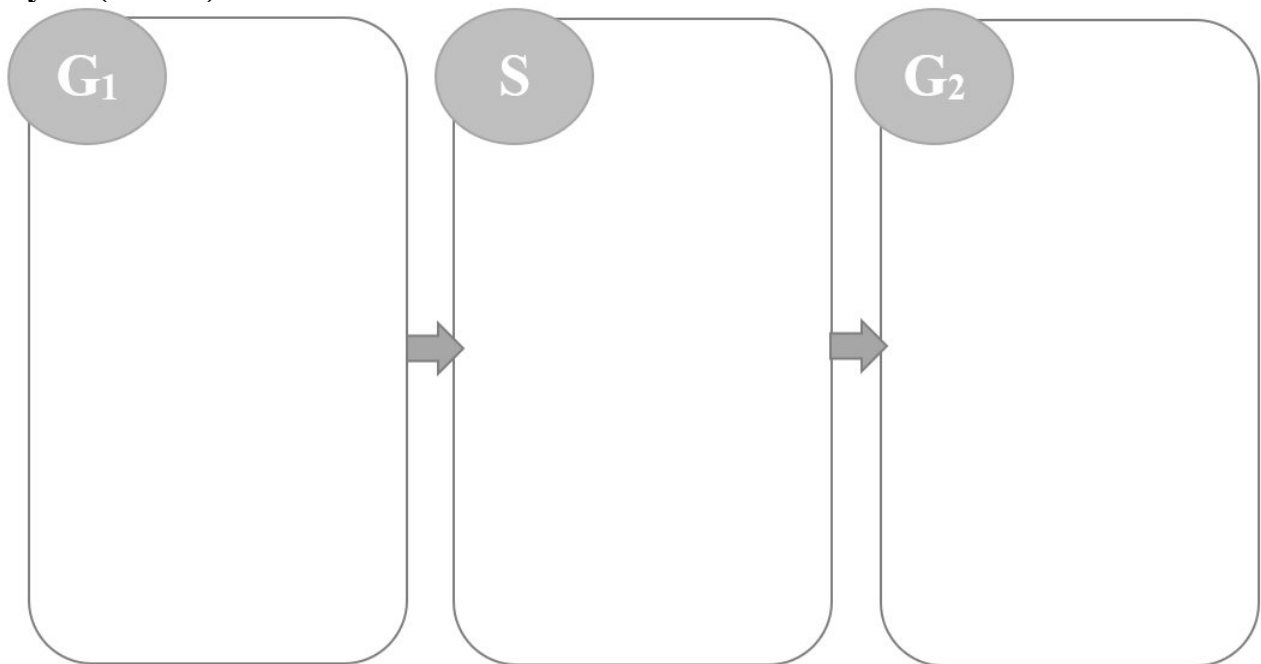
Митоз

Мейоз

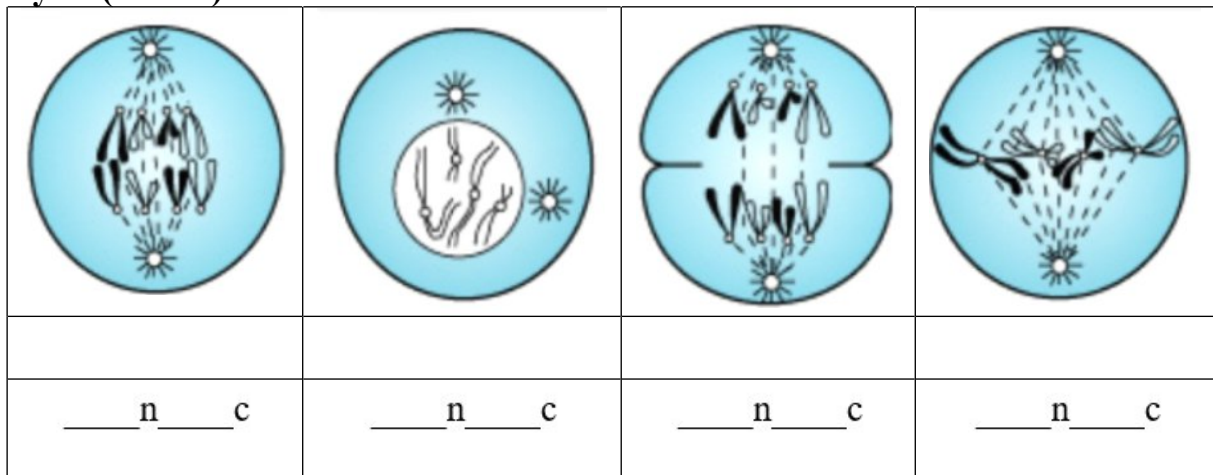
Амитоз

Интерфаза

2. Дополните схему «Стадии интерфазы» – напишите основные процессы, происходящие на каждой стадии. Укажите количество хромосом и молекул ДНК на каждой стадии интерфазы у домашней мухи ($2n=12$).



3. Укажите правильную последовательность и названия фаз митоза, подпишите название и номер фазы под картинкой. Укажите количество хромосом и молекул ДНК в каждой фазе митоза у домашней мухи ($2n=12$).



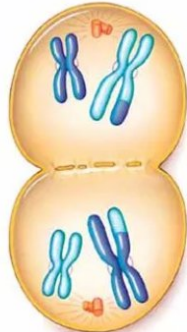
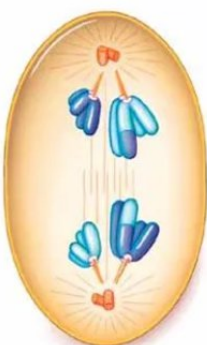
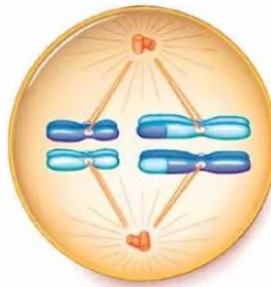
1. Заполните таблицу «Характеристика фаз митоза»:

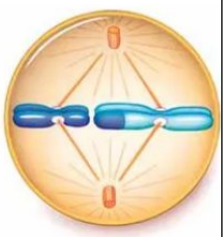
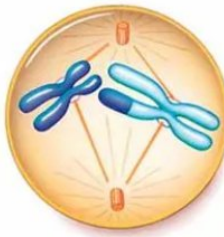
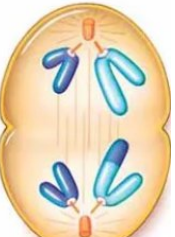
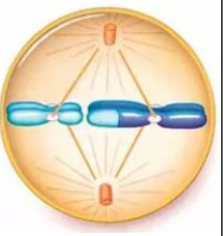
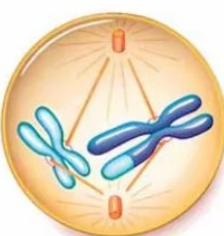
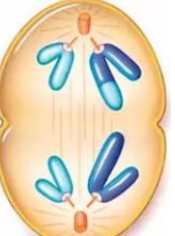
Фаза митоза	Характеристика процессов
1.	

2.	
3.	
4.	

5. Каково биологическое и генетическое значение митоза?

6. Укажите правильную последовательность и названия фаз мейоза, подпишите название и номер фазы под картинкой. Укажите количество хромосом и молекул ДНК в каждой фазе мейоза у домашней мухи ($2n=12$).

I деление				
	___ n ___ c	___ n ___ c	___ n ___ c	___ n ___ c

II деление				
				
	_____ n _____ c	_____ n _____ c	_____ n _____ c	_____ n _____ c

7. Каково биологическое и генетическое значение мейоза?

8. Заполните таблицу «Характеристика фаз мейоза»:

Фаза мейоза	Характеристика процессов
I деление (редукционное)	
1.	
2.	
3.	
4.	

II деление (эквационное)	
1.	
2.	
3.	
4.	

Оценка: _____ Подпись: _____ Преподаватель: _____

Замечания: _____

Раздел III. Гаметогенез

В результате освоения данного раздела студент должен знать: особенности макро- и микроспорогенеза, а также гаметогенеза у цветковых растений; механизм двойного оплодотворения у цветковых растений; стадии сперматогенеза и оогенеза человека.

3.1. Споро- и гаметогенез у цветковых растений

1. Дайте определения понятиям:

Макроспорогенез

Макрогаметогенез

Микроспорогенез

Микрогаметогенез

Гаметофит

Спорофит

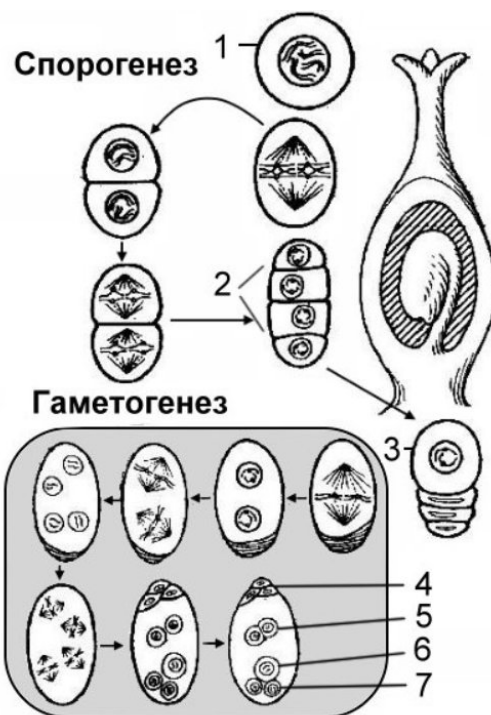
Семязачаток

Микропиле

Спермий

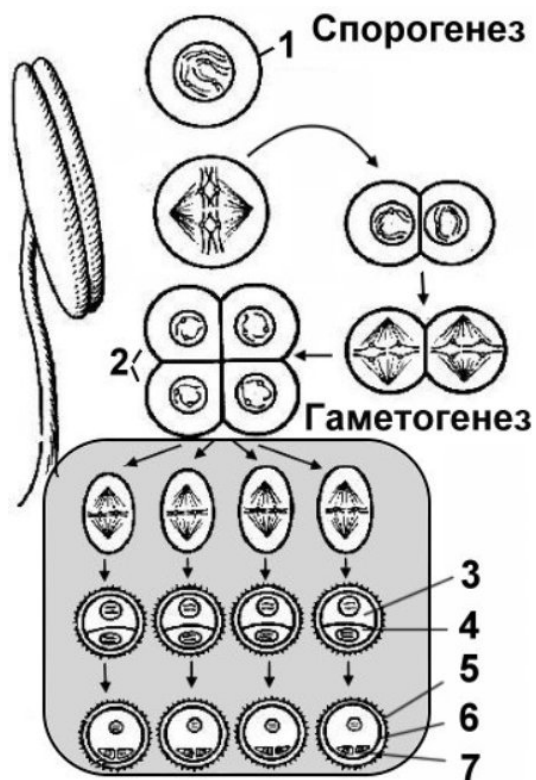
Пыльцевая трубка

2. Укажите названия частей семязачатка на каждом этапе макроспорогенеза и макрогаметогенеза.



1 _____, 2 _____, 3 _____,
 4 _____, 5 _____,
 6 _____, 7 _____.

3. Укажите названия частей пыльцевого зерна на каждом этапе микроспорогенеза и микрогаметогенеза.



6 _____, 7 _____.

4. Изучите схему двойного оплодотворения цветкового растения. Опишите основные этапы двойного оплодотворения.



3.2. Гаметогенез у человека

1. Дайте определения понятиям:

Оогенез

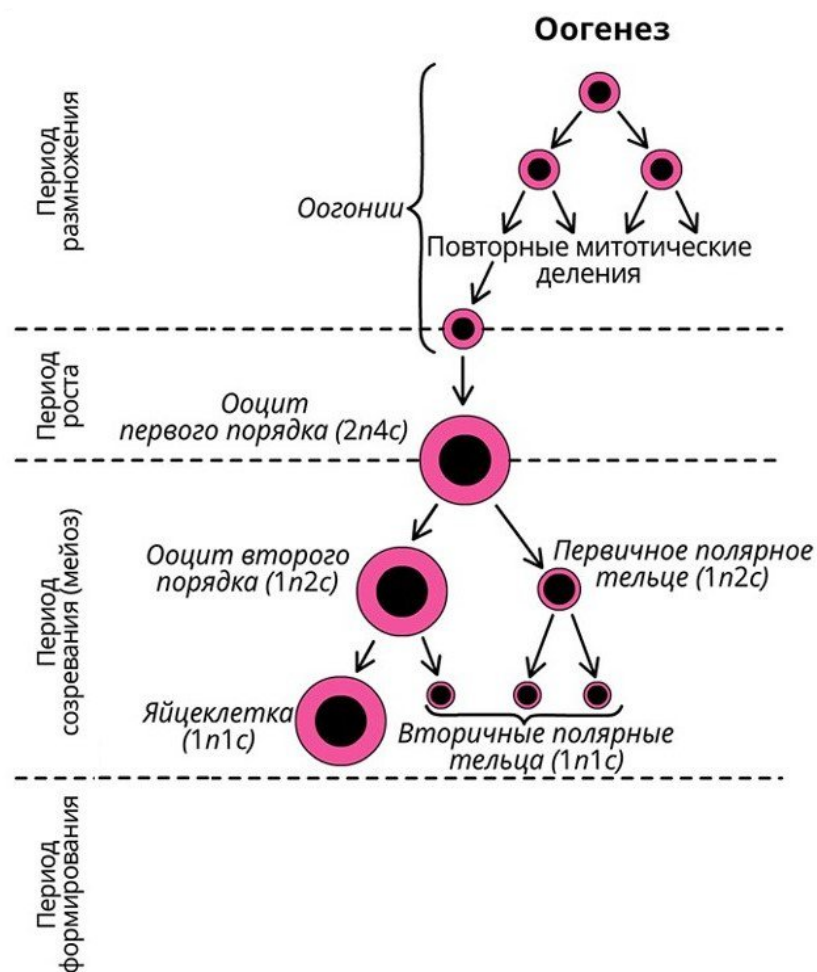
Сперматогенез

Яичник

Семенники

2. Изучите схему оогенеза человека. Кратко опишите каждый период и укажите в какой этап онтогенеза проходят эти события.

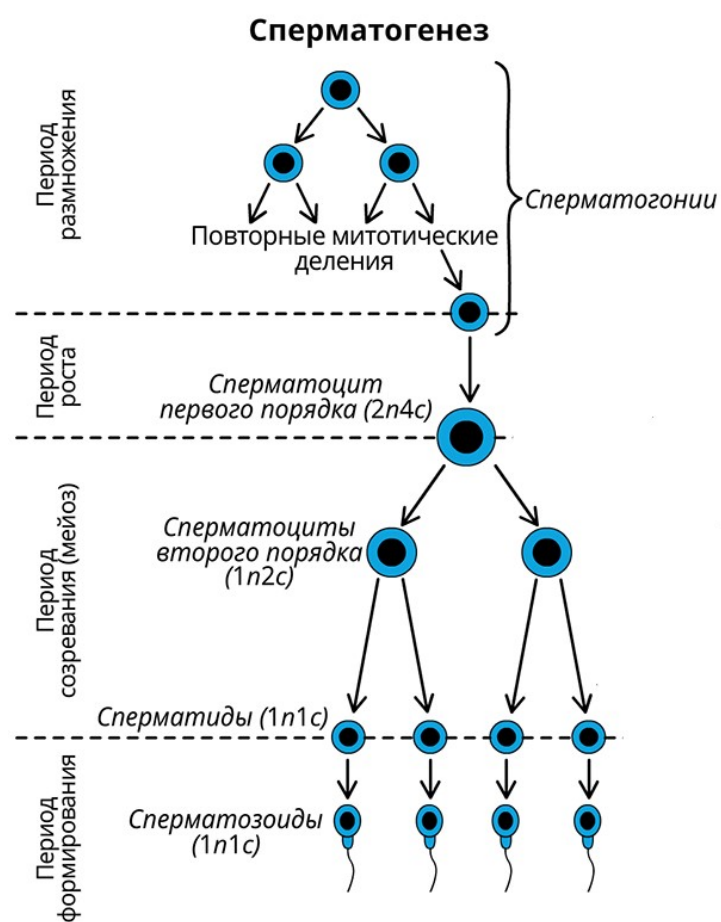
Название периода	Описание периода	Этап онтогенетического развития	Количество хромосом и молекул ДНК
Период размножения			____ n ____ c
Период роста			____ n ____ c
Период созревания			____ n ____ c
Период формирования			____ n ____ c



3. Изучите схему сперматогенеза человека. Кратко опишите каждый период и укажите в какой этап онтогенетического развития проходят эти события.

Название периода	Описание периода	Этап онтогенетического развития	Количество хромосом и молекул ДНК
Период размножения			_____ n _____ c
Период роста			_____ n _____ c
Период			_____ n _____ c

созревания			
Период формирования			<u> </u> n <u> </u> c



Оценка: _____ Подпись: _____ Преподаватель: _____

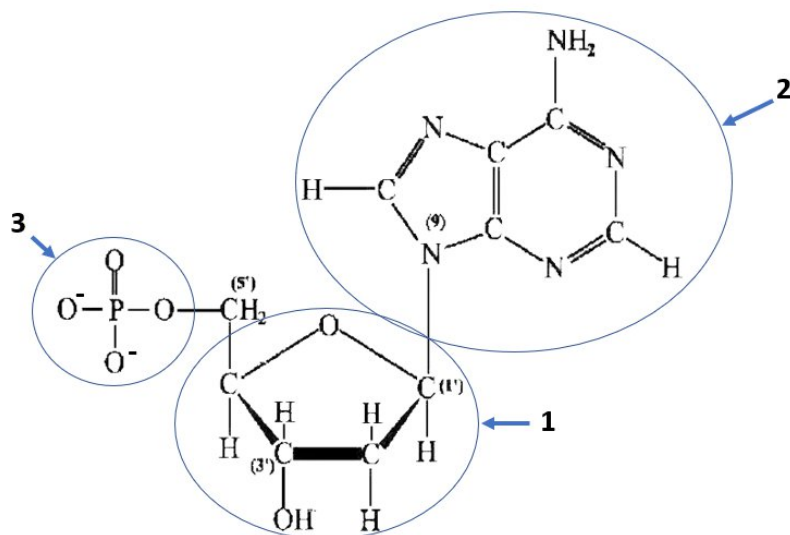
Замечания:

Раздел IV. Молекулярные основы наследственности

В результате освоения данного раздела студент должен знать: строение и функции молекул ДНК и РНК; понятие генетического кода; сущность процессов репликации, транскрипции и трансляции.

4.1. Строение ДНК и РНК

1. Укажите части нуклеотида, входящего в состав ДНК



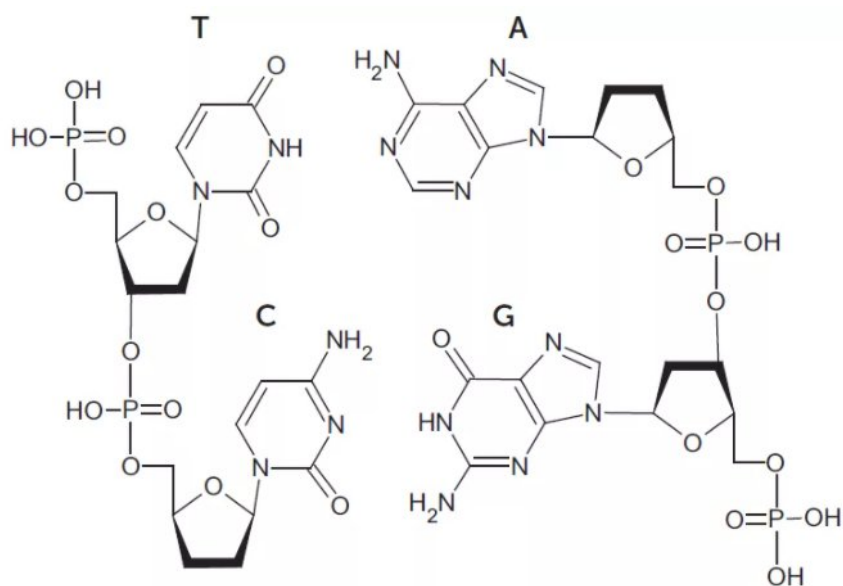
1

2

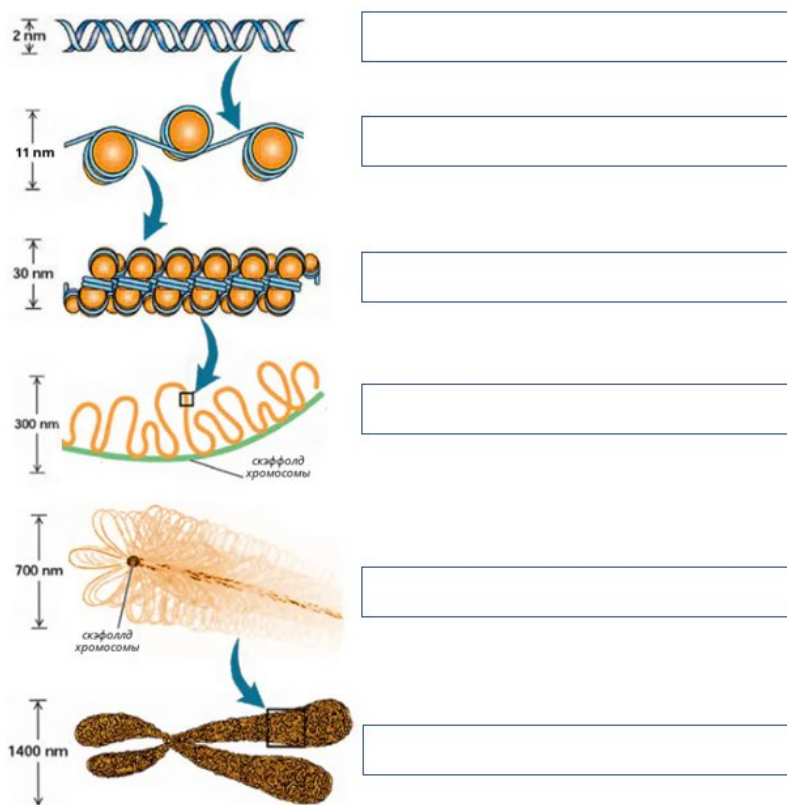
3

2. Укажите класс азотистых оснований Пуриновые или Пиримидиновые:

3. Изобразите водородные связи между азотистыми основаниями комплементарных нуклеотидов и фосодиэфирные связи между нуклеотидами в двух комплементарных цепях.



4. Укажите уровни компактизации ДНК.



5. Укажите параметры двуцепочечной молекулы ДНК.

Расстояние между нуклеотидами -

Диаметр молекулы -

Количество нуклеотидов в одном витке спирали -

Длина одного витка спирали -

4.2. Матричные процессы

1. Дайте определения понятиям:

Репликация

Транскрипция

Трансляция

Ген

Процессинг

Альтернативный сплайсинг

Кэпирование

Кодон

Антикодон

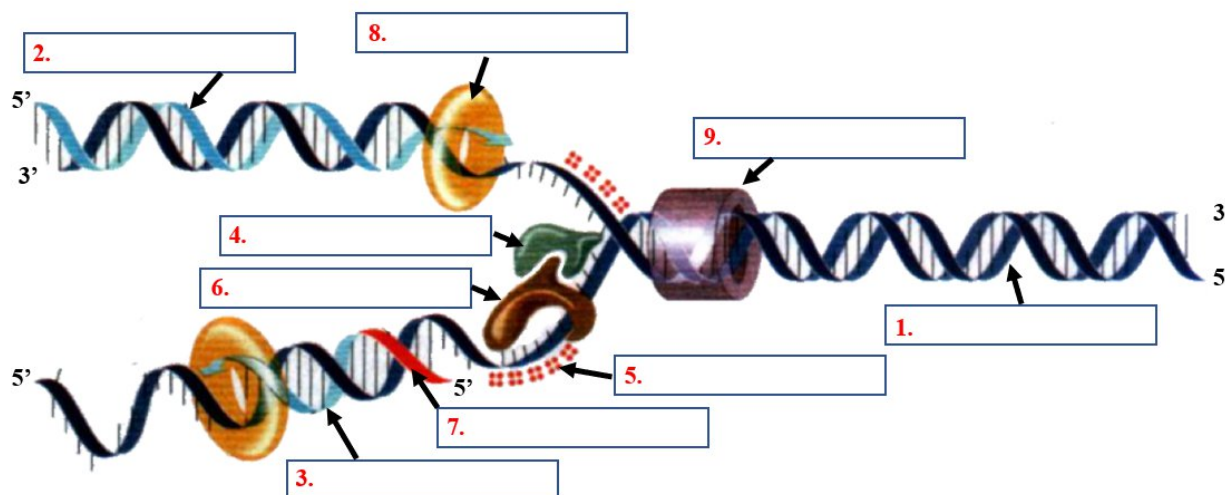
Генетический код

2. Установите соответствие:

А	Репликация	а	Синтез белка	1	В цитоплазме
В	Транскрипция	б	Синтез ДНК	2	В ядре
С	Трансляция	с	Синтез РНК	3	В ядре

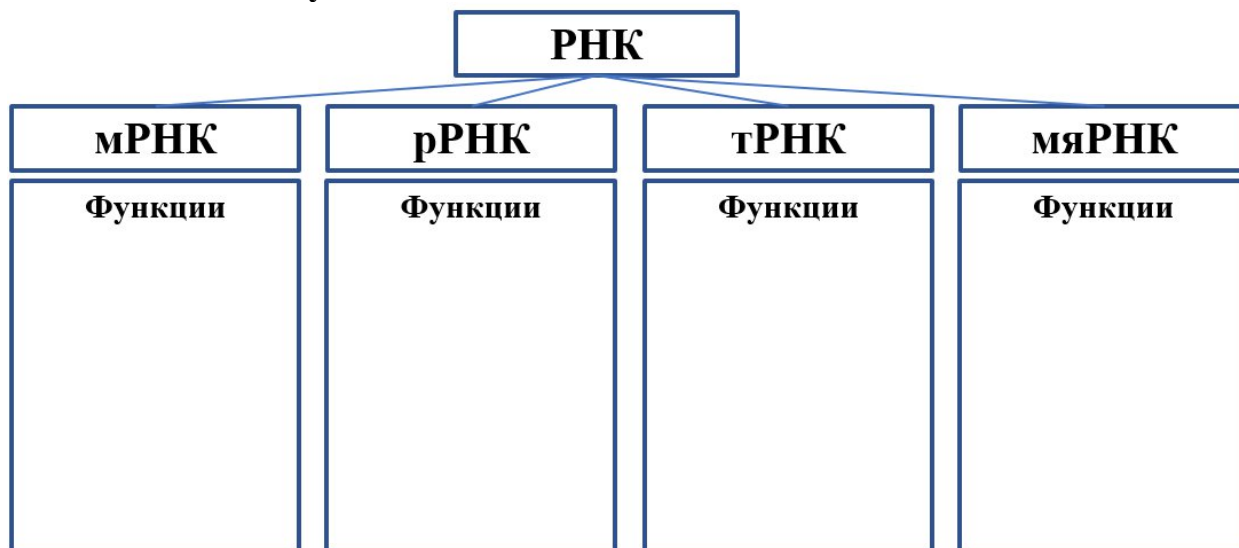
A ; **B** ; **C** .

3. Обозначьте основные компоненты и ферменты репликации, кратко опишите их функции:

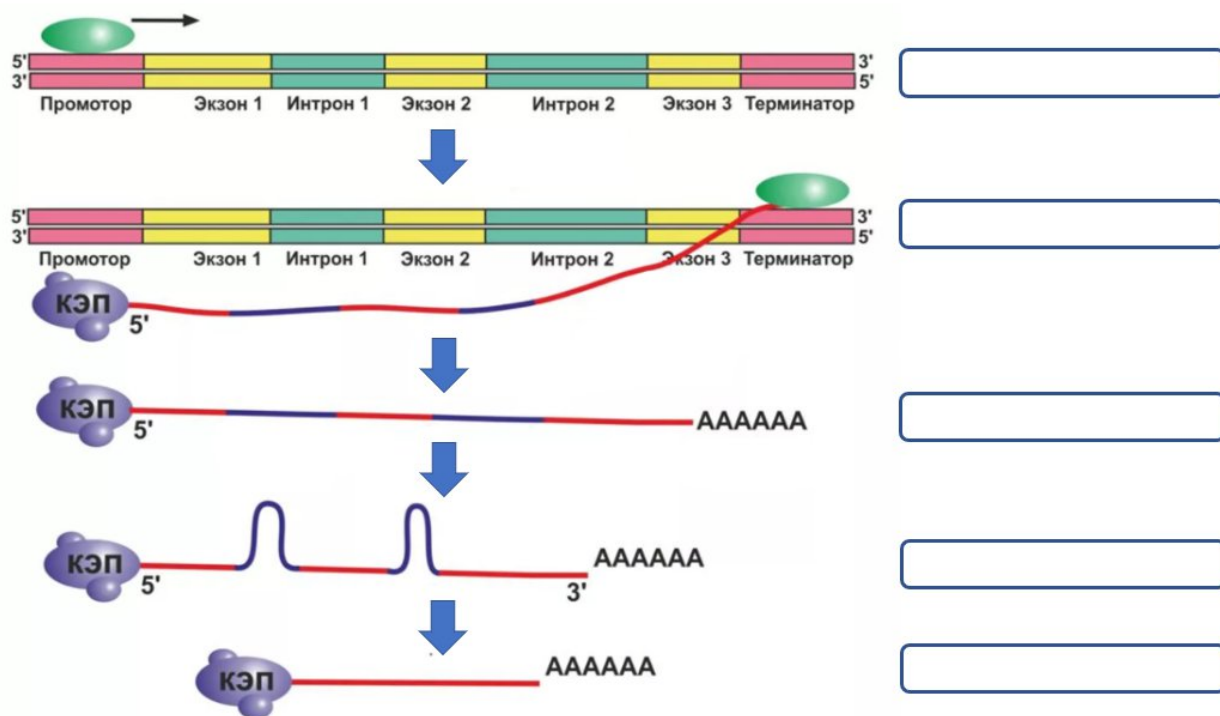


№	Фермент или компонент, функции
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	

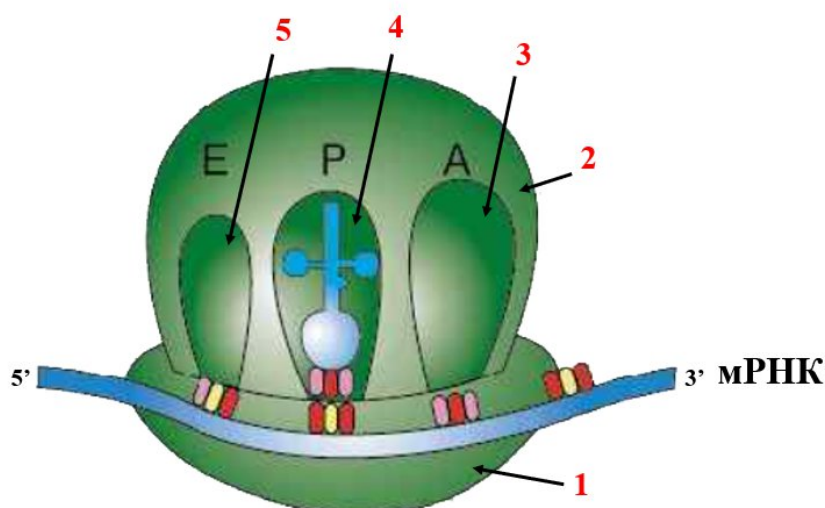
4. Заполните схему:



5. Укажите основные этапы образования мРНК.



6. Укажите основные компоненты рибосомы.



1 _____,
 2 _____, 3 _____,
 4 _____, 5 _____.

7. На основании последовательности нуклеотидов фрагмента и-РНК определите антикодоны т-РНК и последовательность аминокислот, закодированную в этом фрагменте (для этого используйте таблицу генетического кода). Также напишите фрагмент молекулы ДНК, на котором была синтезирована эта и-РНК.

иРНК	У Г Ц	А Ц У	Г А А	Ц Г Ц	Г У А
тРНК					
аминокислоты					
ДНК					

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД					
Н У К Л Е О Т И Д Ы					
Матричная РНК	1-й	2-й			3-й
	У	Ц	А	Г	
У	УУУ } Фенилаланин УУЦ } УУА } УУГ } Лейцин	УЦУ } УЦЦ } Серин УЦА } УЦГ }	УАУ } Тирозин УАЦ } УАА } УАГ } стоп-кодон	УГУ } Цистеин УГЦ } УГА } стоп-кодон УГГ } Триптофан	У Ц А Г
Ц	ЦУУ } ЦУЦ } Лейцин ЦУА } ЦУГ }	ЦЦУ } ЦЦЦ } Пролин ЦЦА } ЦЦГ }	ЦАУ } Гистидин ЦАЦ } ЦАА } ЦАГ } Глютамин	ЦГУ } ЦГЦ } Аргинин ЦГА } ЦГГ }	У Ц А Г
А	АУУ } АУЦ } Изолейцин АУА } АУГ } Метионин СТАРТ-КОДОН	АЦУ } АЦЦ } Треонин АЦА } АЦГ }	ААУ } Аспарагин ААЦ } ААА } ААГ } Лизин	АГУ } Серин АГЦ } АГА } АГГ } Аргинин	У Ц А Г
Г	ГУУ } ГУЦ } Валин ГУА } ГУГ }	ГЦУ } ГЦЦ } Аланин ГЦА } ГЦГ }	ГАУ } Аспарагиновая кислота ГАЦ } ГАА } ГАГ } Глутаминовая кислота	ГГУ } ГГЦ } Глицин ГГА } ГГГ }	У Ц А Г

Оценка: _____ Подпись: _____ Преподаватель: _____
Замечания: _____

Раздел V. Закономерности наследования признаков

В результате освоения данного раздела студент должен знать: закономерности наследования моногенных и полигенных признаков; типы взаимодействия аллелей гена; виды взаимодействия генов; закономерности сцепленного наследования.

5.1. Моногенное наследование признаков

1. Дайте определение понятиям:

Ген

Алель

Множественный аллелизм

Генотип

Фенотип

Аутосома

Гамета

Чистые линии

Закон чистоты гамет

Закон единообразия гибридов первого поколения

Закон расщепления

Расщепление	Тип взаимодействия аллелей гена		
	Полное доминирование	Неполное доминирование	Кодоминирование
По генотипу			
По фенотипу			

Задача 1. При скрещивании двух сортов томатов, один из которых имел желтые, а другой красные плоды, гибриды F1 имели красные плоды, а во втором поколении – 58 красных и 14 желтых плодов. Объясните расщепление. Докажите правильность своей гипотезы с помощью критерия χ^2 . Каковы генотипы исходных сортов и гибридов F1?

Ген	Генотип	Фенотип

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 3. От скрещивания растений львиного зева с красными и кремовыми цветками в первом поколении все растения имели бледно-красные цветки, а во втором произошло расщепление: 22 с красными, 23 с кремовыми и 59 с бледно-красными цветками. Объясните расщепление. Определите генотипы исходных растений. Правильность своей гипотезы проверьте с помощью критерия χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 4. В серии множественных аллелей окраска шерсти у кроликов наблюдаются следующие взаимоотношения $C^+ > C^{ch} > C^h$. Какую часть потомства составят крольчата гималайской и шиншилловой окраски при скрещивании животных с генотипами C^+ / C^{ch} и C^{ch} / C^h ?

Дано:

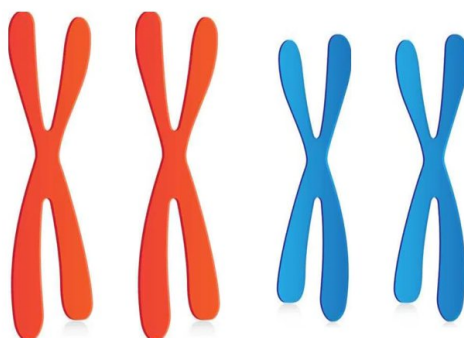
Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

5.2. Ди- и полигенное наследование признаков

1. Укажите расположение аллелей генов А и В на хромосомах при независимом наследовании этих генов у носителя генотипа АаВв.



2. Укажите формулировку Закона независимого наследования признаков.

3. Перечислите условия, при которых выполняется III закон Г.Менделя.

4. Перечислите ограничения III закона Г.Менделя.

5. Решите задачи на наследование признаков.

Задача 1. Скрещивались две породы тутового шелкопряда, которые различались следующими двумя признаками: одна из них дает одноцветных гусениц, плетущих желтые коконы, а другая – полосатых гусениц, плетущих белые коконы. В первом поколении все гусеница были полосатыми и плели желтые коконы. Во втором поколении получилось следующее расщепление: 6385 полосатых гусениц, плетущих желтые коконы, 2147 – полосатых с белыми коконами, 2099 – одноцветных с желтыми коконами и 691 – одноцветных с белыми коконами. Определите генотипы исходных форм и потомства первого и второго поколения. Докажите правильность своей гипотезы с помощью критерия χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 2. При скрещивании растений пшеницы, имеющего плотный остистый колос, с растением с рыхлым безостым колосом в первом поколении все растения имели безостые колосья средней плотности. Во втором поколении было получено: 58 безостых с плотным колосом, 125 безостых с колосом средней плотности, 62 безостых с рыхлым колосом, 18 остистых с плотным колосом, 40 остистых с колосом средней плотности и 21 с остистым рыхлым колосом. Как наследуются признаки? Каковы генотипы исходных растений и гибридов F_1 ? Правильность своей гипотезы проверьте с помощью критерия χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 3. Родители имеют группы крови:

	<i>Мать</i>	<i>Отец</i>
<i>Первая пара</i>	A, MN, Rh ⁺	0, M, Rh ⁺
<i>Вторая пара</i>	B, N, Rh ⁻	B, MN, Rh ⁺
<i>Третья пара</i>	A, M, Rh ⁺	B, MN, Rh ⁻

Дети имеют группу крови:

AB, M, Rh⁻

A, N, Rh⁻

A, MN, Rh⁺

Кто чей ребенок? Определите генотипы родителей и детей.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

5.3. Взаимодействие неаллельных генов

1. Дайте определение понятиям:

Взаимодействие неаллельных генов

Комплементарность

Эпистаз

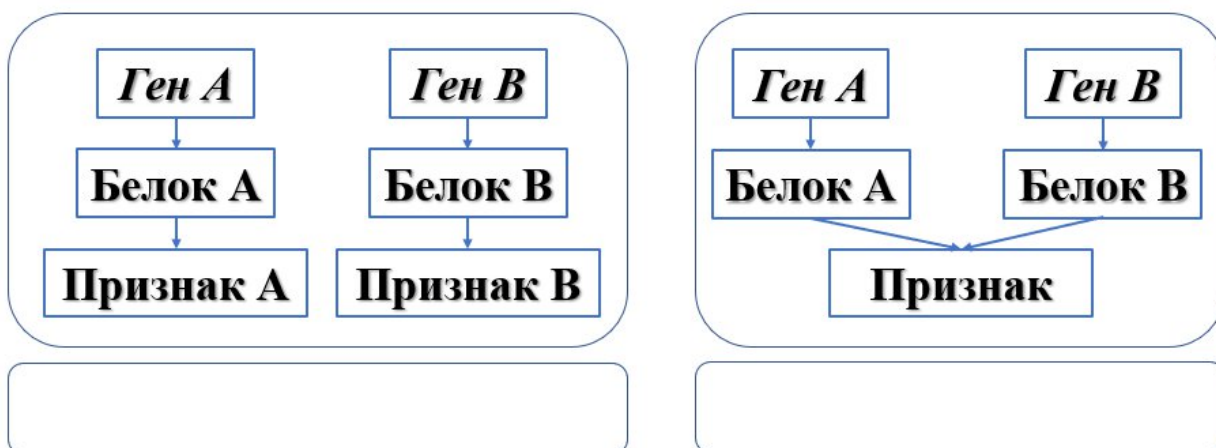
Полимерия

Плейотропное действие генов

Пенетрантность

Экспрессивность

2. Укажите тип наследования признаков.



3. Установите соответствие:

А. Комплементарность	a	$12(I\_A\_ + I\_aa):3iiA\_ :1iiaa$
В. Доминантный эпистаз	b	$9A\_B\_ :6(A\_bb+aaB\_):1aabb$
С. Рecessивный эпистаз	c	$15(A\_A\_ + A\_a\_ + aaA\_):1a\_a\_$
Д. Кумулятивная полимерия	d	$9A\_B\_ :7(A\_bb+aaB\_+aabb)$
Е. Некумулятивная полимерия	e	$9A\_B\_ :3A\_bb:3aaB\_ :1aabb$
	f	$9I\_A\_ :7(I\_aa+iiA\_ +iiaa)$
	g	$1/16:4/16:6/16:4/16:1/16$
	h	$13(I\_A\_ + I\_aa+iiA\_):3iiA\_$
	i	$9A\_B\_ :3A\_bb:4(aaB\_+aabb)$
А — , В — , С — , Д — , Е — .		

4. Решите задачи на наследование признаков.

Задача 1. При скрещивании растений тыквы с дисковидной формой плода в потомстве было получено 121 растение с дисковидной формой плода, 77 – со сферической и 12 – с удлиненной. Объясните расщепление, определите генотипы исходных форм. Как наследуется признак? Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 . Какое расщепление Вы ожидаете получить в анализирующем скрещивании и какое растение будете использовать в качестве анализатора?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 2. От скрещивания растений люцерны с пурпурными и желтыми цветками в F_1 все цветки были зелеными, а в F_2 произошло расщепление: 169 с зелеными цветками, 64 с пурпурными, 67 с желтыми и 13 с белыми. Как наследуется признак? Определите генотипы исходных растений. Правильность своей гипотезы проверьте с помощью метода χ^2 . Что получится, если скрестить растения F_1 с белоцветковым растением?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 3. При скрещивании двух карликовых растений кукурузы было получено потомство нормальной высоты. В F_2 от скрещивания между собой растений F_1 было получено 452 растения нормальной высоты и 352 карликовых. Предложите гипотезу, объясняющую эти результаты, и докажете правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 . Определите генотипы исходных растений.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 4. Скрещивая две формы гороха – с розовыми и белыми цветками – в первом поколении получили растения с пурпурными цветками, а во втором – 87 растений с пурпурными, 36 – с белыми и 29 – с розовыми цветками. Объясните результаты скрещиваний и определите генотипы исходных растений. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 . Что получится, если растения из F_1 скрестить с родительскими формами?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 5. От скрещивания растений кукурузы с окрашенными и неокрашенными зернами, в F_1 все зерна оказались неокрашенными, а в F_2 произошло расщепление: 568 неокрашенных и 120 окрашенных. Как наследуется признак? Определите генотипы исходных растений. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 6. При скрещивании двух зеленых растений кукурузы в потомстве получено 162 зеленых сеянца и 113 нежизнеспособных альбиносов. Объясните расщепление, определите генотипы исходных зеленых растений и возможные генотипы альбиносов. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 7. Скрестив растения овса с черными и белыми чешуями зерна, в первом поколении получили растения с черными чешуями, а во втором – 418 с черными, 100 с серыми, 42 с белыми чешуями. Объясните расщепление. Как наследуется окраска чешуй у овса? Каковы генотипы исходных растений? Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 8. При самоопылении зеленого растения гороха, было получено 544 зеленых и 45 светло-зеленых растений. Объясните расщепление, определите генотип исходного растения. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 9. От брака негров и белых рождаются мулаты. Анализ потомства большого числа браков между мулатами дал расщепление 1:4:6:4:1. Среди потомков были черные, белые, мулаты, а также темные и светлые мулаты. Объясните результаты, определите количество генов, обуславливающих

окраску кожи, характер их взаимодействия и генотипы родителей и потомков.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 10. Допустим, у лиственницы сибирской плотность определяется полимерным взаимодействием генов от 620 до 725 кг/м³. Различают следующие типы плотности древесины лиственницы сибирской: рыхлая – меньше 620 кг/м³, средней плотности – 620–650 кг/м³, выше средней – 650–680 кг/м³, плотная – 680–720 кг/м³, очень плотная – больше 725 кг/м³. Скрестили два организма, имеющие плотность древесины средней и выше средней с генотипами $A_1A_1a_2a_2 \times A_1a_1A_2A_2$. Какую максимально возможную плотность древесины могут иметь растения F_1 ? При оформлении решения, схематично изобразите локализацию генов на хромосомах.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 11*. Скрещивая растения левкоя с фиолетовыми цветками с растением, имеющим белые цветки, садовод обнаружил в первом поколении 102 растения с фиолетовыми, 109 с красными, 231 с кремовыми и 420 с белыми цветками. От самоопыления родительского белоцветкового растения все растения оказались с белыми цветками. При самоопылении родительского растения с фиолетовыми цветками в F1 обнаружилось расщепление в отношении: 27/64 с фиолетовыми: 9/64 и с красными: 12/64 с кремовыми: 16/64 с белыми цветками.

Объясните расщепления. Как наследуется окраска цветков у левкоев? Определите генотипы всех растений, использованных в скрещиваниях. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

5.4. Сцепленное с полом наследование

1. Дайте определение понятиям:

Пол

Прогамный тип определения пола

Этигамный тип определения пола

Сингамный тип определения пола

Половые хромосомы

Гомогаметный пол

Гетерогаметный пол

Балансовая теория определения пола

Сцепленное с полом наследование

Голандрический тип наследования

Крисс-кросс наследование

Зависимые от пола признаки

Ограниченные полом признаки

Гинандроморфизм

Прямое скрещивание

Обратное скрещивание

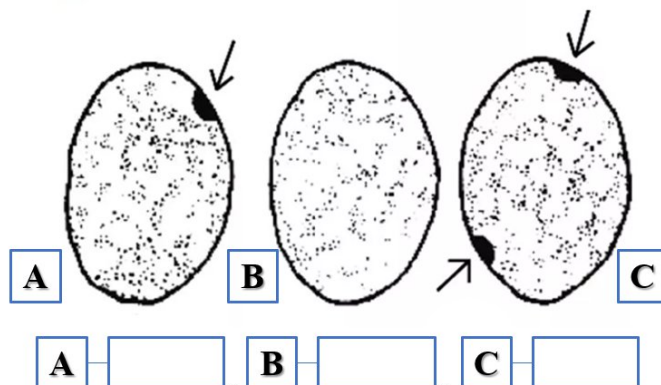
Реципрокные скрещивания

2. Распределите животных по группам в соответствии с их типом определения пола:

А. Синий кит, В. Коловратки, С. Крокодил, D. Дрозофила, Е. Червь Бонеллия, F. Человек

Прогамный тип определения пола	Эпигамный тип определения пола	Сингамный тип определения пола

3. Установите какое количество X-хромосом имеют индивиды, половой хроматин которых изображен на рисунке. Стрелочками отмечены тельца Барра.



4. Решите задачи на наследование признаков.

Задача 1. Отец и сын – дальтоники, а мать различает цвета нормально. Развитие цветовой слепоты обусловлено проявлением рецессивного аллеля гена, локализованного в X-хромосоме. Определите генотипы родителей и ребенка. Правильно ли будет сказать, что в этой семье сын унаследовал свой недостаток от отца?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 2. В некоторых случаях часть X-хромосомы оказывается генетически инертной, а Y-хромосома несет те или иные аллели. У человека в Y-хромосоме находится ген, определяющий развитие перепонки между вторым и третьим пальцами ног. Определите, какие будут дети и внуки у мужчины с перепонками между пальцами и женщины, у которой этих перепонки нет.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 3. У человека есть наследственное аллергическое заболевание – геморрагический диатез, вызываемый рецессивным геном. Аллели этого гена находятся в X- и Y-хромосоме. Определите какие будут дети, если родители: а) жена и все ее предки здоровы, а муж болен; б) муж и все его предки здоровы, а жена больна; в) Муж и жена здоровы, но гетерозиготны по данному гену.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 4. В потомстве от скрещивания рано оперившихся петуха с поздно оперившейся курицей обнаружено 20 поздно оперившихся петушков и 22 рано оперившихся курочки. В обратном скрещивании и петушки, и курочки оперлись поздно. Объясните расщепление. Какие результаты вы ожидаете получить в F₂ реципрокных скрещиваний?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 5. При скрещивании кошки, имеющей черепаховую окраску шерсти (трехцветные), с рыжим котом в нескольких пометах получено 18 черепаховых и 14 рыжих кошек, 17 рыжих и 17 черных котов. Скрещивание черепаховой кошки с черным котом дало 10 черепаховых и 13 черных кошек, 11 рыжих и 8 черных котов. Объясните результаты. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 6. При скрещивании самки дрозофилы с коричневыми глазами и нормальными крыльями с красноглазым самцом с обрезанными крыльями в F₁ все самки и самцы имели красные глаза и нормальные крылья, а в F₂ произошло расщепление:

самки: 161 с красными глазами и нормальными крыльями, 42 с коричневыми глазами и нормальными крыльями;

самцы: 76 с красными глазами и нормальными крыльями, 80 с красными глазами и обрезанными крыльями, 26 с коричневыми глазами и нормальными крыльями, 18 с коричневыми глазами и обрезанными крыльями.

Как наследуется признак? Определите генотипы исходных мух и потомков F₁. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 7. Рано облысевший мужчина женился на женщине, имеющей рано облысевшего отца. В этом браке родилось 5 детей, 3 мальчика и 2 девочки. Все девочки и один мальчик имели нормальное оволосение, а 2 мальчика рано облысели. Объясните результаты, определите генотипы всех членов этой семьи.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 8. В потомстве от скрещивания петуха с высокопродуктивной курицей, в первом поколении все курочки обладали высокой яйценоскостью, а во втором произошло расщепление: 65 курочек имели высокую продуктивность, а 20 курочек были низкопродуктивными. Объясните расщепление. Как наследуется признак? Почему анализируются только курочки. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 9*. От скрещивания самца аквариумной рыбки медаки с коричневой самкой в F_1 все самки и самцы оказались коричневыми, а в F_2 – 248 коричневых, 57 голубых, 53 красных и 21 белых. Пол определить удастся у этих рыбок не раньше, чем в годовалом возрасте. Через год среди выживших рыб распределение их по полу и окраске оказалось следующее:

самки: 147 коричневых и 35 красных

самцы: 77 коричневых, 56 голубых, 16 красных, 19 белых.

Как наследуется признак? Определите генотипы исходных рыб. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

5.5 Сцепленное наследование и кроссинговер

1. Дайте определение понятиям:

Рекомбинативная изменчивость

Кроссинговер

Несестринские хроматиды

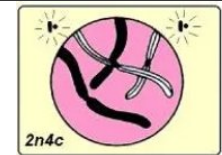
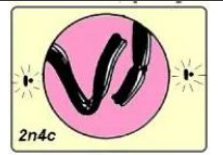
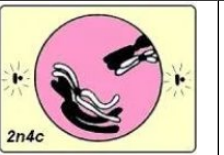
Сестринские хроматиды

Гаплотип

Полное сцепление генов

Неполное сцепление генов

2. Укажите основные события, происходящие в профазу первого деления мейоза.

				
Лептотена	Зиготена	Пахитена	Диплотена	Диакинез

3. Укажите аллельный состав хромосом в профазе I мейоза и распишите состав гамет по указанным генам А и В.



4. Решите задачи на наследование признаков

Задача 1. Особь, гомозиготная по генам С и D, скрещена с гомозиготной особью ccdd и гибриды F₁, возвратно скрещены с двойным рецессивом. От этого возвратного скрещивания получено следующее потомство:

903 CcDd

893 ccdd

98 Ccdd

102 ccDd

Объясните результаты, определив силу сцепления между генами С и D. Каковы были бы результаты этого скрещивания в случае независимого распределения С и D.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 2. Особь, гомозиготная по генам E и f, скрещена с гомозиготной особью eeFF. От скрещивания F1 с двойным рецессивом получено:

762 Ef

758 eF

243 EF

237 ef

Определить силу сцепления между генами E и f.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 3. У кукурузы признаки желтых проростков, детерминируемых геном а, и блестящих листьев, детерминируемых геном b, наследуются сцепленно и являются рецессивными по отношению к признакам зеленых проростков и матовых листьев. От скрещивания гомозиготных растений кукурузы имеющих желтые проростки и блестящие листья, с растениями, имеющими зеленые проростки и матовые листья, получили 124 гибрида F1. От скрещивания растений F1 с линией-анализатором получили 726 растений, в том числе 310 с признаками доминантной родительской формы,

287 - рецессивной родительской формы, 129 - кроссоверных по данным генам.

Составьте схему скрещивания, выпишите некроссоверные и кроссоверные гаметы, получите и проанализируйте гибриды F_2 .

1. Какой процент некроссоверных растений был среди гибридов F_2 ?
2. Сколько фенотипических классов было получено в F_2 ?
3. Сколько разных генотипов было в F_2 ?
4. Какой процент растений имели в F_2 желтые проростки и матовые листья?
5. Какое расстояние (в% кроссинговера) будет между генами а и b?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 4. У кукурузы во II хромосоме локализованы гены лигульности и характера поверхности листьев. Доминантный ген А обуславливает развитие лигулы, рецессивный ген а - безлигульность, доминантный ген В - матовую поверхность листьев, b - глянцевые листья. От скрещивания гомозиготного безлигульного растения, имеющего матовые листья, с гомозиготным лигульным растением, имеющим глянцевые листья, получили 120 растений F_1 . От скрещивания растений F_1 с линией-анализатором получили 800 гибридов, из которых 64 лигульных с матовыми листьями.

1. Сколько растений F_1 имели лигульные листья с матовой поверхностью?
2. Сколько процентов растений F_2 имели лигулу и глянцевые листья?

3. Сколько процентов растений F_2 не имели лигулы, но были с матовыми листьями?
4. Сколько процентов растений F_2 имели лигулу и матовые листья?
5. Какое расстояние между этими генами?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 5. Каков будет генотип F_1 от скрещивания гомозиготных особей (Ав)(Ав) и (аВ)(аВ)? Какие гаметы будут иметь особи - F_1 ? Каково будет потомство от возвратного скрещивания особей F_1 с двойным рецессивом, если процент перекреста равен 20?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 6. Допустим, что гены А и В сцеплены друг с другом и показывают 40% перекреста. Каков будет генотип F₁, при скрещивании гомозиготной особи (АВ) с (ав)? Какие гаметы и в каких отношениях будут давать особи F₁? Каковы будут фенотипы и генотипы потомства в F₂?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 7. У кроликов в одной хромосоме локализован рецессивный ген b, детерминирующий коричневую окраску меха, и рецессивный ген а - желтая окраска жира. Расстояние между генами 4%. Доминантный ген В обуславливает серую окраску меха, а ген А - белый жир. Линию с серой окраской меха и желтым жиром скрестили с линией, имеющей коричневую окраску меха и белый жир. В F₁ получили 12 животных, в F₂ - 42.

1. Сколько типов гамет может образовать гибрид F₁?
2. Сколько животных F₁ могут иметь серую окраску меха и белый жир?
3. Сколько разных генотипов может быть в F_a?
4. Сколько гибридов F_a могли иметь серую окраску меха и желтый жир?
5. Сколько гибридов F_a могли иметь коричневую окраску меха и белый жир?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 8. Шесть петухов, гетерозиготных по сцепленным с полом генам карликовости (а) и серебристости (В), скрещивали с нормальными золотистыми курами. Всех петушков выбраковывали, а курочек в возрасте пяти месяцев классифицировали следующим образом:

♀♀ F ₁ от петухов	№1, 3, 4	№2, 5, 6
нормальных	153	12
золотистых		
карликовых	137	15
серебристых		
нормальных	13	164
серебристых		
карликовых	11	174
золотистых		
	314	365

Чем вы объясните различия в результатах скрещиваний? Какова сила сцепления между генами а и В? Почему анализировали только курочек?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Оценка: _____ Подпись: _____ Преподаватель: _____

Замечания:

Раздел VI. Мутационная изменчивость

В результате освоения данного раздела студент должен знать: классификацию мутационной изменчивости по типу изменения генотипа; молекулярные механизмы возникновения мутаций; основные заболевания, обусловленные проявлением мутаций.

6.1. Генные мутации

1. 1. Дайте определения понятиям:

Генная мутация

Транзиция

Трансверсия

Мутации со сдвигом рамки считывания

Делеция

Инсерция

Нонсенс-мутация

Миссенс-мутация

Молчащая мутация

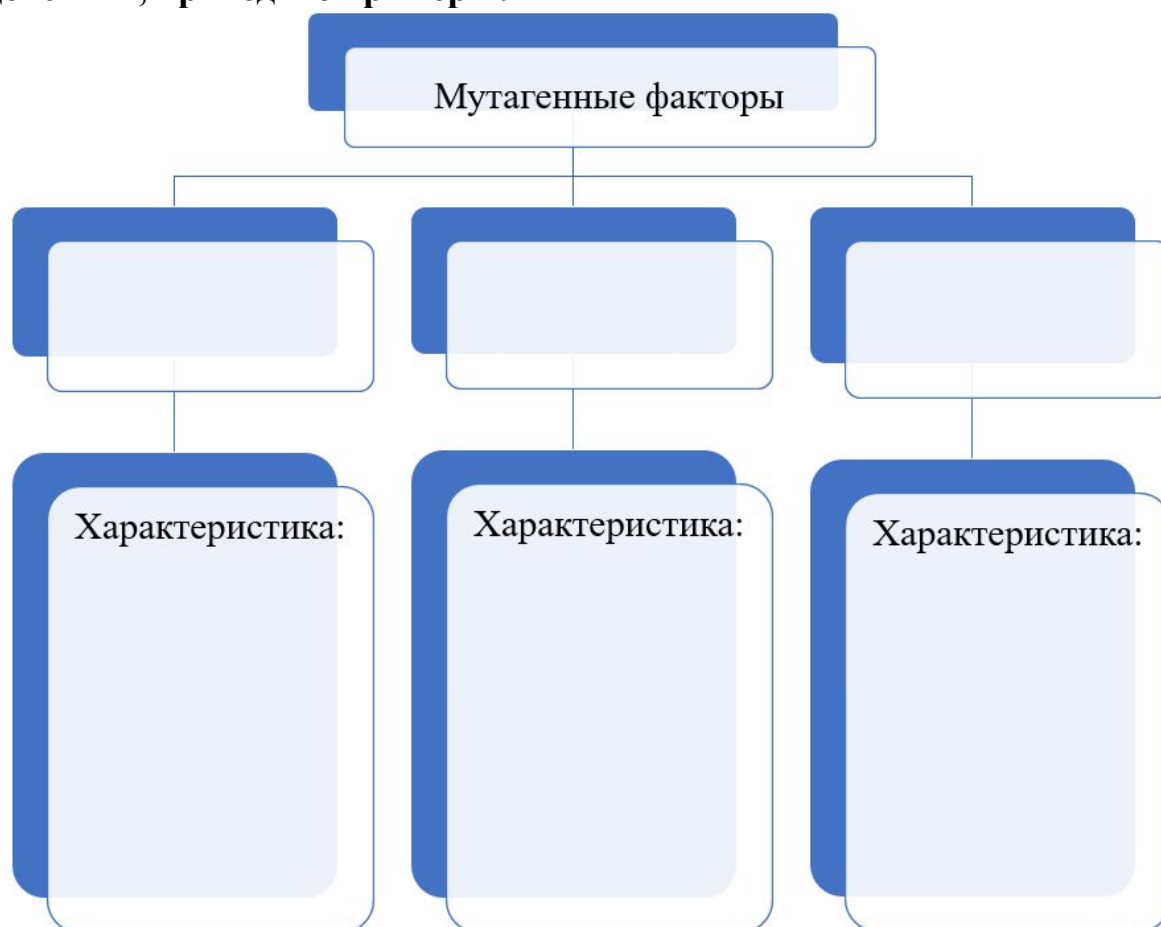
2. Укажите тип нуклеотидной замены: транзиция или трансверсия

A→G	T→G	G→C	C→T	A→C

3. К какому типу мутаций относятся следующие варианты изменения структуры ДНК:

А. Транзиция, В. Делеция, С. Инсерция, D. Трансверсия, Е. Дупликация	
Нуклеотидные замены	Мутации со сдвигом рамки считывания

4. Составьте схему «Типы мутагенных факторов», напишите механизм действия, приведите примеры:



5. Дана нуклеотидная последовательность фрагмента ДНК, кодирующая участок полипептида:

ДНК	ТААСGACAATGATACCTTTACTTTATATAC
РНК	AUUGCUGUUACUAUGGAAAUGAAAUAUAUG
Белок	Изо-Ала-Вал-Тре-Мет-Глут.к-Мет-Лиз-Тир-Мет

В результате мутации изменилась последовательность ДНК. Распишите последовательность мРНК и полипептида, а также укажите к какому типу относится произошедшая мутация по молекулярному механизму (транзиция, трансверсия, делеция, инсерция) и

фенотипическому проявлению (миссенс-мутация, нонсенс-мутация, молчащая мутация, мутация со сдвигом рамки считывания). Кратко охарактеризуйте последствия данной мутации.

ДНК	TAACGACAATGATACCTTTACTTTAT T TAC
РНК	
Белок	
Тип мутации	
Характеристика	

ДНК	TAACGACAATGATAC C CTTTACTTTATATAC
РНК	
Белок	
Тип мутации	
Характеристика	

ДНК	TAACGACAAT A GATACCTTTACTTTATATAC
РНК	
Белок	
Тип мутации	
Характеристика	

6.2. Хромосомные мутации

1. Дайте определения понятиям:

Хромосомная мутация

Транслокация

Робертсоновская транслокация

Реципрокная транслокация

Транспозиция

Инверсия

Парацентрическая инверсия

Перицентрическая инверсия

2. Укажите тип хромосомной aberrации.













3. Дайте характеристику заболеваниям человека, обусловленным изменением морфологии хромосом. Укажите тип хромосомной мутации, локализацию, кратко опишите симптоматику заболевания.

Название заболевания	Тип хромосомной мутации, локализация	Симптоматика
Синдром «кошачьего крика»		
Синдром Вольфа-Хиршхорна		
Синдром Альфи		

Синдром Орбели		

6.3. Геномные мутации

1. Дайте определения понятиям:

Геномная мутация

Полиплоидия

Аутополиплоидия

Анеуплоидия

Трисомия

Моносомия

Нулисомия

2. Укажите периоды клеточного цикла, фазы мейоза, количество хромосом и молекул ДНК при не расхождении хромосом в мейозе.



3. Заполните таблицу «Хромосомные синдромы»

Кариотип	Синдром	Пол	Количество телец Барра
46 XX			
46 XY			
45 X0			
47 XXY			
47 XXX			
47 XYY			
47 XX (21+)			
47 XY (13+)			
47 XY (18+)			

4. Решите задачи.

Задача 1. При скрещивании белоглазых самок дрозофилы с красноглазыми самцами получено 895 самцов с белыми глазами и 882 самки с красными глазами. Кроме того, в потомстве от этого скрещивания обнаружено две самки с белыми глазами и один самец с красными глазами. Как можно объяснить появление необычных самок и самцов? Перед решением задачи, повторите балансовую теорию определения пола у дрозофилы.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 2. Ребенок с синдромом Дауна имеет 46 хромосом вместо 47, постоянно обнаруживаемых при этой болезни (лишняя хромосома №21). Исследование кариотипа показало, что одна из его хромосом №15 длиннее обычной (это можно изобразить как 15/21). У матери больного, а также у тетки и у бабушки по материнской линии (с нормальной конституцией) обнаружено 45 хромосом с удлинённой хромосомой №15 (15/21). Чем можно объяснить наблюдающееся в этой семье явление? Какие по генотипу могут образоваться зиготы, если мать имеет 45 хромосом (15/21), а отец нормальный.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Оценка: _____ Подпись: _____ Преподаватель: _____

Замечания:

Раздел VII. Модификационная изменчивость

В результате освоения данной темы студент должен знать: типы фенотипической изменчивости; сущность, причины и закономерности модификационной изменчивости; основные понятия и термины; параметры модификационной изменчивости.

1. Дайте определения понятиям:

Фенотипическая изменчивость

Модификации

Морфозы

Фенокопии

Норма реакции

2. Заполните таблицу.

Вид изменчивости Характеристика	Модификационная	Мутационная
Изменяется генотип или фенотип		
Факторы, вызывающие изменчивость		
Наследуется?		
Имеет ли значение для эволюции		

3. Рассчитайте параметры модификационной изменчивости для данной выборки студентов по признаку уровень невербального интеллекта (IQ). Изменился ли уровень IQ в данной выборке в процессе обучения?

№ п\п	ФИО студента	Значение IQ		№ п\п	ФИО студента	Значение IQ	
		1 курс	4 курс			1 курс	4 курс
1	АКП	121	126	16	НЕФ	116	119
2	АМП	109	111	17	ПИН	116	115

3	БРК	124	121	18	ПАК	126	122
4	БРР	130	132	19	ПОД	103	105
5	БАЛ	111	108	20	ПУТ	118	119
6	ВВА	117	116	21	РИК	107	109
7	ВАП	105	109	22	СОМ	102	104
8	ВЛЛ	128	131	23	СКН	111	109
9	ДПР	98	102	24	САА	120	119
10	ЕДО	125	123	25	ТГН	110	112
11	КПП	115	120	26	ТЕН	85	92
12	КНЕ	122	118	27	УПД	127	128
13	МТР	96	99	28	ХЭМ	114	117
14	ММН	105	104	29	ХГФ	106	104
15	МАГ	118	115	30	ЯИВ	109	105

№ п/п	Параметр	Название параметра, формула	Значение	
			1 курс	4 курс
1	X_{cp}			
2	σ			
3	V			
4	m			
5	t			

4. Решите задачи.

Задача 1. Если известно, что в образце №105 в колосе пшеницы $X_{cp}=17,5$ колосков, а $\sigma=\pm 1,5$ колоска, то мог ли принадлежать этому же образцу колос, имеющий 28 колосков?

Дано	Определить

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 2. Если известно, что масса тушканчиков (*Dipus aegyptius*) самцов равна $165 \pm 5,20$ г, а самок $160 \pm 3,10$ г, то можно ли сказать, что они отличаются по массе?

Дано	Определить

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 3. Какой высоты может быть самая высокая сосна, если $X_{cp} = 22,5$ м, а $\sigma = \pm 1,5$ м?

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 4. Рассчитайте ошибку среднего арифметического $X_{\text{ср}}=5,0$ см, если известно, что $\sigma=\pm 1,5$ см, $n=100$.

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 5. Отличаются ли по удоям и жирности молока (черно-пестрые коровы) и дочери-помеси, если матери имели процент жира $2,38\pm 0,06$ и удои $3784\pm 64,0$ ку, а дочери – процент жира $4,97\pm 0,10$ и удои $3720\pm 46,0$ кг?

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 6. Если известно, что среднесуточное увеличение массы телят на 560 г при величине ошибки 8г (изменчивость телят по массе характеризуется $V=10\%$), то можно ли на основе этих данных установить, сколько телят было в опыте?

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 7. Если группа 100 особей (выборка) характеризуется $X_{cp}=10,5$ кг; $\sigma=\pm 1,0$ кг, то при повторном взятии выборки из этой же совокупности может получиться среднее арифметическое, равное 10,0 кг?

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Оценка: _____ Подпись: _____ Преподаватель: _____

Замечания:

Раздел VIII. Закономерности наследования признаков в популяциях

В результате освоения данной темы студент должен знать: основные термины и понятия; основные условия равновесной популяции; закономерности наследования признаков в популяции; закон Харди – Вайнберга; алгоритмы решения задач.

1. Дайте определения понятиям:

Популяция

Равновесная популяция

Панмиксия

Генофонд популяции

2. Вставьте пропуски в математической формуле, выражающей закон Харди-Вайнберга. Напишите формулировку данного закона.

$$p + \_\_\_ = 1$$

$$p^2 + \_\_\_ + q^2 = \_\_\_$$

3. Решите задачи.

Задача 1. У крупного рогатого скота породы шортгорн генотип RR имеет красную масть, Rr – чалую и rr – белую. В этой породе было зарегистрировано 4169 красных животных, 3780 чалых и 756 белых. Определите частоты аллелей R и r, выразив их в %.

Дано	Определить

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 2. В одной панмиктической популяции частота аллеля b равна 0,1, а в другой – 0,9. В какой популяции больше гетерозигот?

Дано	Определить

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 3. Из 14345 лисиц, изученных Ромашовым и Ильиной, 12 лисиц черные, 678 – промежуточной окраски, а 13655 лисиц – рыжие. Найдите частоты аллелей черной и рыжей окраски меха в популяции лисиц.

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 4. У тихоокеанского лосося-нерки (*Oncorhynchus nerka*), методом электрофореза в крахмальном геле обнаружены три генотипа по локусу фосфоглюкомутазы (Pgm) в пропорции 3819 AA:2271AA':255A'A'.

А) Оцените частоты аллелей А и А'.

Б) Сопоставьте фактические численности генотипов с ожидаемыми из уравнения Харди-Вайнберга.

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 5. В популяции 16% людей имеют группу крови N. Определите долю лиц с группами крови М и MN в этой популяции при условии панмиксии.

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 6. В популяции людей одного города в период между 1928 и 1942 гг. родилось 26 тыс. детей, из которых 11 были больны талассемией (анемия Кули), наследуемой по рецессивному типу (двухаллельная система).

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Оценка: _____ Подпись: _____ Преподаватель: _____

Замечания:

Раздел IX. Генетические основы селекции

В результате освоения данной темы студент должен знать: методы селекции животных и растений; центры происхождения культурных растений и животных; правила подбора пар для селекционной работы; использование ЦМС в селекции; полиплоидные ряды; способы выведения межвидовых гибридов.

1. Дайте определение понятиям

Селекция

Искусственный отбор

Экстерьер

Интерьер

Чистая линия

Штамм

Сорт

Порода

Гетерозис

Инбридинг

Аутбридинг

Цитоплазматическая мужская стерильность

Межлинейная гибридизация

Отдаленная гибридизация

Полиплоидный ряд

Основное число

Сбалансированные полиплоиды

Несбалансированные полиплоиды

2. Заполните таблицу «Характеристика центров происхождения культурных растений» (по Н.И.Вавилову).

№ п/п	Название центра происхождения культурных растений	Географическое расположение	Перечень культурных растений
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			

3. Заполните таблицу «Характеристика центров доместикиции животных» (по Н.И.Вавилову).

№ п/п	Название центра доместикиции	Географическое расположение	Перечень животных
1			
2			
3			
4			
5			

4. Сравните дикорастущие и культурные растения

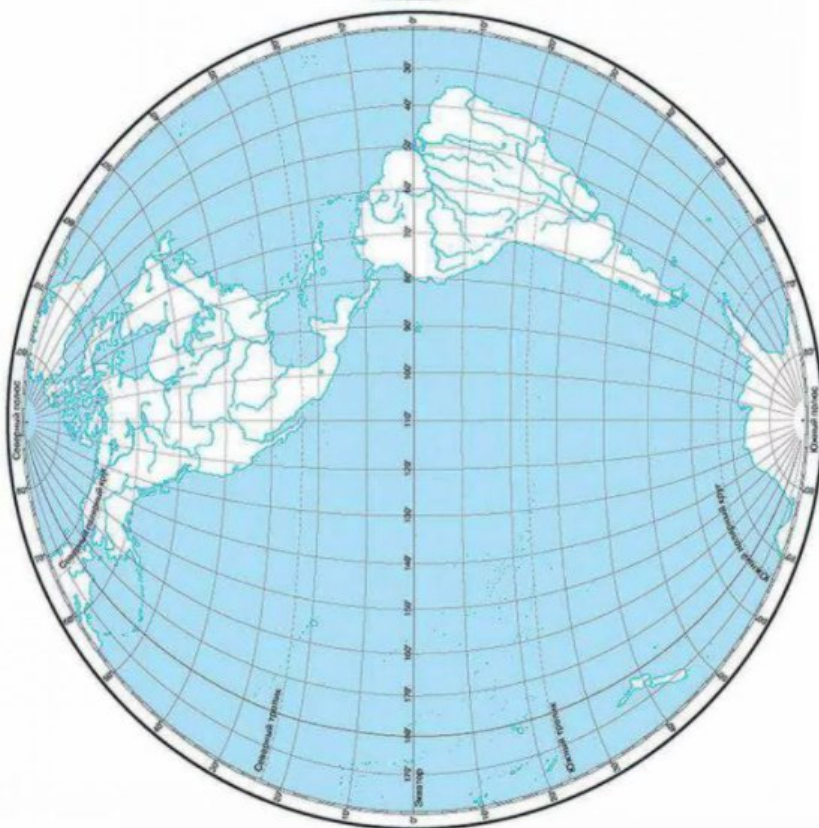
Название растения		Признаки			
		Строение	Кол-во плодов	Вес плодов и других органов	Другие признаки
Фасоль	дикорастущее				
	культурное				
Капуста	дикорастущее				
	культурное				
Пшеница	дикорастущее				
	культурное				

5. Укажите на карте мира расположение центров происхождения культурных растений и доместикиции животных из задания №2 и 3.

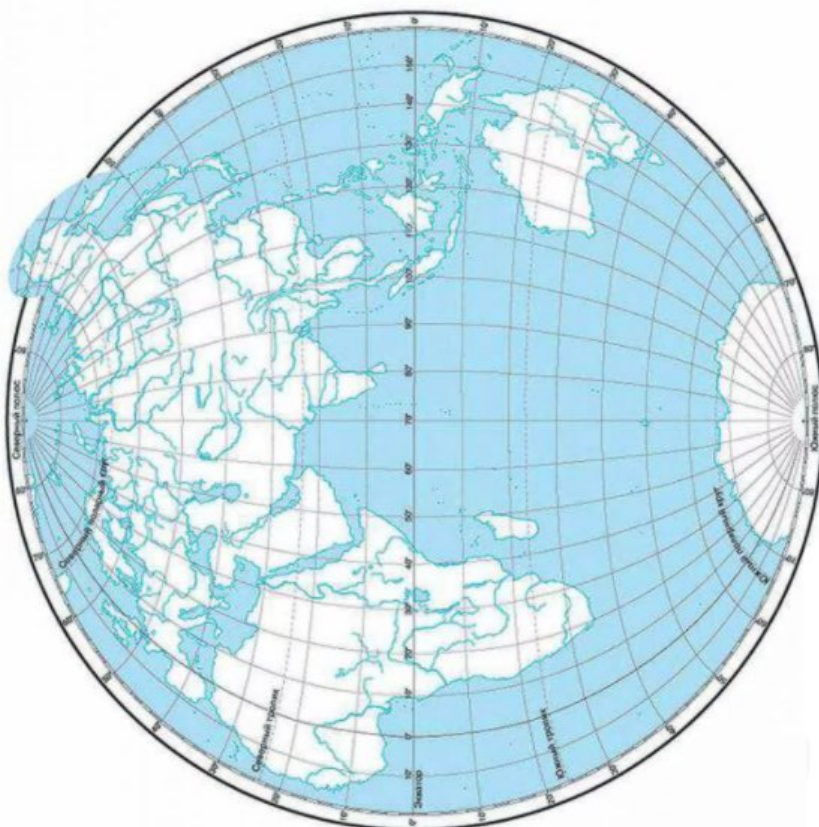
Масштаб 1:30 000 000

ФИЗИЧЕСКАЯ КАРТА ПОЛУШАРИЙ (контурная карта)

ЗАПАДНОЕ ПОЛУШАРИЕ



ВОСТОЧНОЕ ПОЛУШАРИЕ



6. Заполните таблицу «Методы селекции».

Методы	Сущность метода	Результат
Искусственный отбор		
Межлинейная гибридизация		
Отдаленная гибридизация		
Генетически регулируемый гетерозис		
Получение полиплоидов		
Экспериментальный мутагенез		

7. Заполните таблицу «Селекция и биотехнология микроорганизмов».

Биотехнология и ее направления	Сущность метода	Результат
Биотехнология		
Микробиологический синтез		
Клеточная инженерия		
Генная инженерия		

8. Заполните таблицу «Принципы подбора родительских пар для скрещивания»

Принцип	Характеристика	Результат, примеры организмов
По комплексу хозяйственно-биологических признаков		
По продолжительности отдельных фаз вегетации		
По устойчивости к болезням		
По комбинационной способности		
Эколого-географический		

10. Определите основное число полиплоидных рядов растений.

Род	Основное гаплоидное число хромосом	Число хромосом у видов данного рода
Пшеница		14, 28, 42
Пырей		14, 28, 42, 56, 70
Овес		14, 28, 42
Роза		14, 21, 28, 35, 42, 56, 70
Земляника		14, 28, 42, 56, 70, 84, 98
Люцерна		16, 32, 48
Сахарный тростник		48, 56, 64, 72, 80, 96, 112, 120
Свекла		18, 36, 54, 72
Хризантема		18, 27, 36, 45, 54, 63, 72, 81, 90
Щавель		20, 40, 60, 80, 100, 120, 200

11. Определите фертильны или стерильны растения F₁ в следующих скрещиваниях:

♀		♂		F ₁		
Цитоплазма	Ядро	Цитоплазма	Ядро	Цитоплазма	Ядро	Результат
S	RR	N	RR			
S	Rr	S	Rr			
S	rr	N	rr			
N	RR	S	RR			
N	Rr	S	Rr			
N	rr	N	rr			

12. Заполните таблицу «Характеристика межвидовых гибридов животных и растений».

♀		♂		Межвидовой гибрид		
Название	Число хромосом	Название	Число хромосом	Название	Число хромосом	Фертилен/стерил
				Мул		
				Лошак		
				Зеброид		
				Зебрал		
				Лигр		
				Тигон		
				Церападус		
				Йошта		
				Тритикале		
				Слива		

13. Решите задачи.

Задача 1. Какое потомство по окраске плодов должно получиться при самоопылении тетраплоидного растения томата с розовыми плодами с генотипом AAaa, при случайном хромосомном расщеплении и кумулятивном действии аллелей гена? AAAA – темно-красная окраска, AAAa – красная, AAaa – розовая, Aaaa – светло-розовая, aaaa – белая.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 2. Какое соотношение фенотипов вы ожидаете получить от скрещивания автотераплоида ААаа с диплоидом Аа при условии полного доминирования и случайного хромосомного расщепления у полиплоида.

Решение:

<u>Ответ:</u>

Задача 3.* При гибридизации трех видов хлопчатника получены следующие результаты:

Скрещивание	Конъюгация хромосом в профазе мейоза I
Вид 1 × вид 2	13 малых бивалентов + 13 больших унивалентов
Вид 1 × вид 3	13 больших бивалентов + 13 малых унивалентов
Вид 2 × вид 3	13 больших унивалентов + 13 малых унивалентов

Проанализируйте результаты и объясните эволюционное происхождение разных видов хлопчатника. Как можно подтвердить сделанные заключения?

Решение:

<u>Ответ:</u>

Оценка: _____ Подпись: _____ Преподаватель: _____

Замечания:

**ГУЗЕЛЬ ФАНИЛЕВНА ГАЛИКЕЕВА
ЭЛЬВИРА МАНСУРОВНА ГАЛИМОВА
СВЕТЛАНА ВИКТОРОВНА ЛЮБИНА**

**ГЕНЕТИКА
С ОСНОВАМИ СЕЛЕКЦИИ**

РАБОЧАЯ ТЕТРАДЬ

МИНПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИИ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ
ИМ. М. АКМУЛЛЫ»**

**Г.Ф.Галикеева
Э.М.Галимова
С.В.Любина**

**ГЕНЕТИКА
С ОСНОВАМИ СЕЛЕКЦИИ**

РАБОЧАЯ ТЕТРАДЬ

УФА 2021

УДК 571.1 (075.3)

ББК 28.04я73

Г93

Галикеева, Г.Ф., Галимова, Э.М., Любина С.В. Генетика с основами селекции: рабочая тетрадь / Г.Ф.Галикеева, Э.М.Галимова, С.В.Любина. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2021. – 88 с.

Пособие предназначено для бакалавров дневной формы обучения направления «Биология» Естественно-географического факультета Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы.

Рабочая тетрадь составлена в соответствии с государственным образовательным стандартом высшего образования по направлению подготовки 06.03.01 Биология, рабочей программой дисциплины и предназначена для индивидуальной работы студентов по дисциплине «Генетика».

Рабочая тетрадь является учебным пособием по выполнению лабораторных работ по курсу «Генетика». Разработанная в соответствии с программой курса, она содержит задания, позволяющие закрепить и структурировать теоретический и практический материал, проработанный на аудиторных занятиях.

© Издательство БГПУ, 2021

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Рабочая тетрадь по генетике с основами селекции составлена на основе требований ФГОС по направлению подготовки 06.03.01 «Биология» и направлена на формирование:

знаний

- законов наследования,
- цитологических законов наследования,
- строения ДНК,
- механизмов матричных процессов в клетке,
- особенностей строения и функционирования генов про- и эукариот,
- особенностей наследования признаков, сцепленных с полом,
- основных понятий и определений популяционной генетики,
- особенностей селекции по качественным и количественным признакам,
- способов отбора пар для скрещиваний,
- особенностей проведения отдаленной гибридизации.

умений и навыков

- проведения скрещивания и анализа потомства,
- проведения генетического анализа наследования признаков,
- определения частот аллелей и генотипов в популяции,
- определения основного числа полиплоидного ряда,
- решения ситуационных генетических задач,
- обработки научной литературы и создания на основе полученных данных интерактивных проектов.

Тетрадь предназначена для студентов направления 06.03.01 «Биология» всех профилей подготовки и преследует цель помочь студентам систематизировать учебный материал, выработать четкость и ясность изложения. Тетрадь содержит в себе задания, выполнение которых способствует систематическому и более глубокому усвоению материала.

Изучая основные разделы генетики студенту необходимо заполнить имеющиеся таблицы, схемы и подписать рисунки. Рабочая тетрадь может являться отчетным материалом для сдачи блоков по дисциплине «Генетика», служит для привития навыков самостоятельной работы и закрепления изученного учебного материала.

Оглавление

I. История развития, основные достижения и проблемы генетики	5
II. Цитологические основы наследственности	8
1. Строение клетки	8
2. Строение хромосомы	9
3. Типы клеточного деления	10
III. Гаметогенез	15
1. Споро- и гаметогенез у цветковых растений	15
2. Гаметогенез у человека	18
IV. Молекулярные основы наследственности	21
1. Строение ДНК и РНК	21
2. Матричные процессы	23
V. Закономерности наследования признаков	28
1. Моногенное наследование признаков	28
2. Ди- и полигенное наследование признаков	31
3. Взаимодействие неаллельных генов	35
4. Сцепленное с полом наследование	44
5. Сцепленное наследование и кроссинговер	51
VI. Мутационная изменчивость	60
1. Генные мутации	60
2. Хромосомные мутации	62
3. Геномные мутации	64
VII. Модификационная изменчивость	68
VIII. Закономерности наследования признаков в популяциях	74
IX. Генетические основы селекции	79

Раздел I. История развития, основные достижения и проблемы генетики

В результате освоения данной темы студент должен знать: место генетики в современной биологической науке; цели и задачи генетики как науки; значение генетики; ведущих ученых в области генетики.

1. Дайте определение понятиям:

Генетика

Наследственность

Изменчивость

2. Заполните таблицу:

Раздел науки	Решаемые задачи
Общая генетика	
Цитогенетика	
Медицинская генетика	
Экологическая генетика	
Молекулярная генетика	

3. Заполните таблицу:

№ п/п	Дата	Описание открытия в области генетики	Авторы открытия
1	1866 г.		
2	1871 г.		
3	1900 г.		
4	1907 г.		
5	1909 г.		
6	1911 г.		
7	1953 г.		
8	1961 г.		
9	1988 г.		
10	1997 г.		

4. Составьте справку о ведущих ученых в области генетики:

№ п/п	ФИО ученого	Вклад в развитие генетики	Год	Источник
1				
2				
3				
4				

5				
6				
7				
8				

Оценка: _____ Подпись: _____ Преподаватель: _____

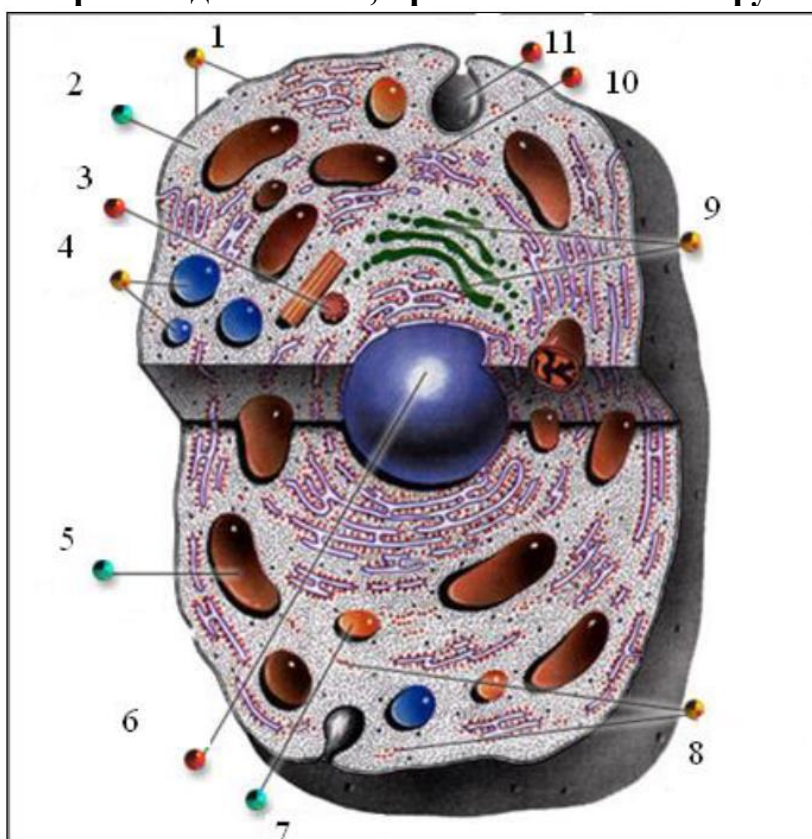
Замечания:

Раздел II. Цитологические основы наследственности

В результате освоения данного раздела студент должен знать: строение эукариотической клетки; этапы клеточного цикла; типы клеточного деления, биологическую роль и сущность процессов митоза и мейоза; строение и функции хромосом; механизмы нарушения клеточного деления.

2.1. Строение клетки

1. Обозначьте органоиды клетки, кратко опишите их функции:



№	Органелла, функции
1	
2	
3	
4	

5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	

2.2. Строение хромосомы

1. Дайте определения понятиям:

Хромосома

Центромера

Политенная хромосома

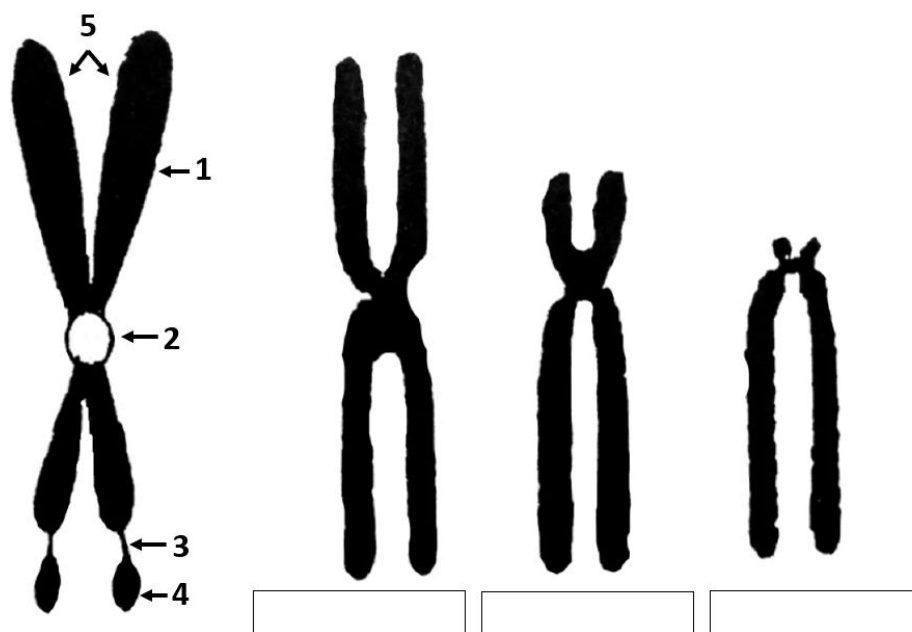
Аутосома

Кариотип

Кариограмма

2. Укажите название типов хромосом и частей хромосомы.

1 _____, 2 _____, 3 _____,
4 _____, 5 _____.



2.3. Типы клеточного деления

1. Дайте определения понятиям:

Клеточный цикл

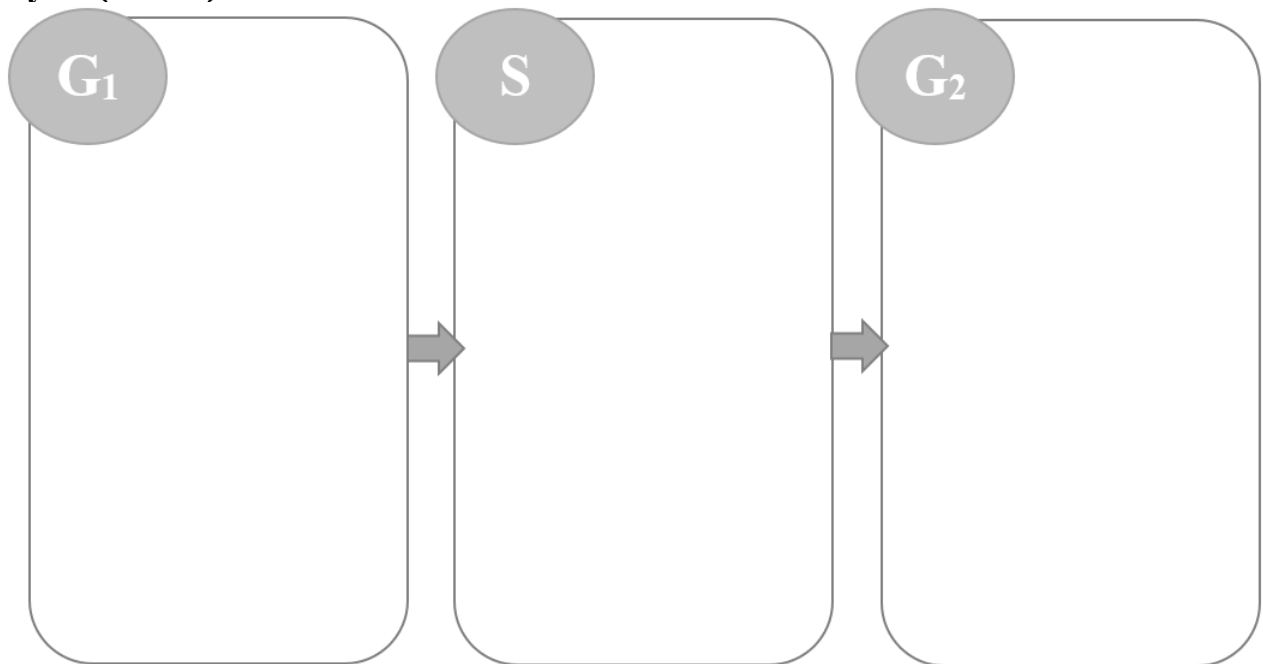
Митоз

Мейоз

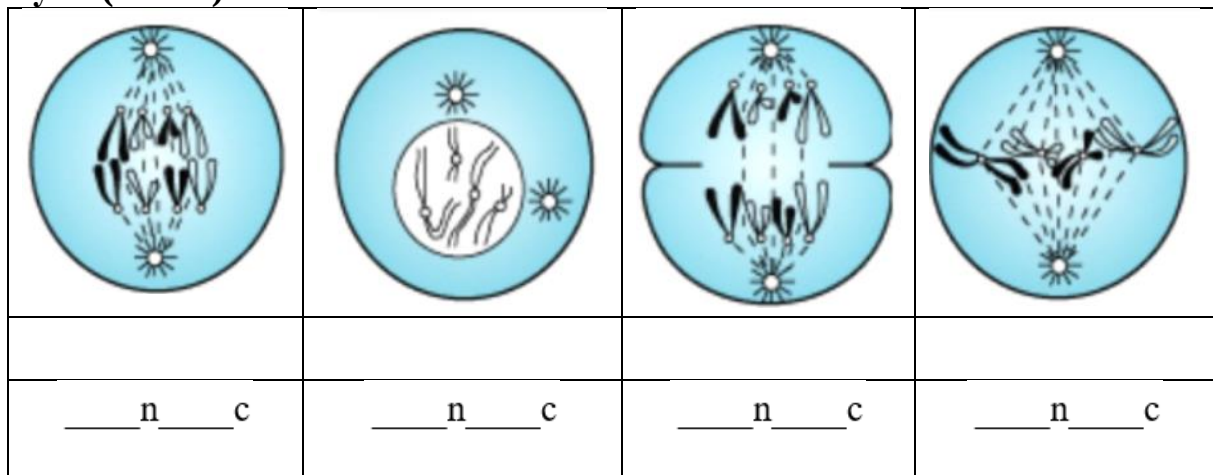
Амитоз

Интерфаза

2. Дополните схему «Стадии интерфазы» – напишите основные процессы, происходящие на каждой стадии. Укажите количество хромосом и молекул ДНК на каждой стадии интерфазы у домашней мухи ($2n=12$).



3. Укажите правильную последовательность и названия фаз митоза, подпишите название и номер фазы под картинкой. Укажите количество хромосом и молекул ДНК в каждой фазе митоза у домашней мухи ($2n=12$).



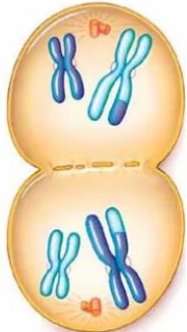
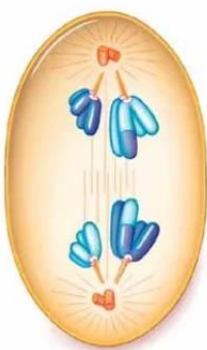
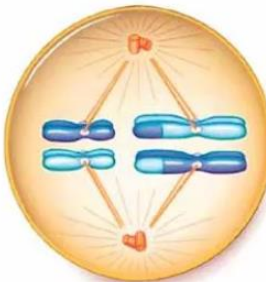
1. Заполните таблицу «Характеристика фаз митоза»:

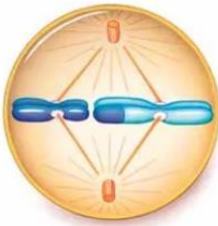
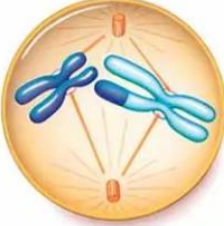
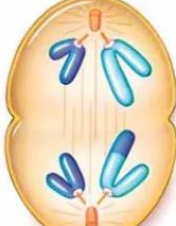
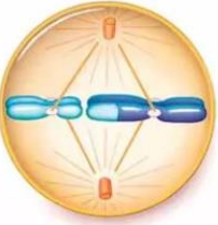
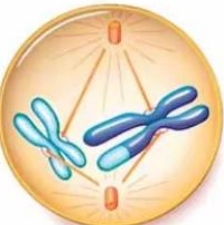
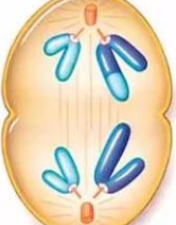
Фаза митоза	Характеристика процессов
1.	

2.	
3.	
4.	

5. Каково биологическое и генетическое значение митоза?

6. Укажите правильную последовательность и названия фаз мейоза, подпишите название и номер фазы под картинкой. Укажите количество хромосом и молекул ДНК в каждой фазе мейоза у домашней мухи ($2n=12$).

I деление				
	___ n ___ c	___ n ___ c	___ n ___ c	___ n ___ c

II деление				
				
	___ n ___ c	___ n ___ c	___ n ___ c	___ n ___ c

7. Каково биологическое и генетическое значение мейоза?

8. Заполните таблицу «Характеристика фаз мейоза»:

Фаза мейоза	Характеристика процессов
I деление (редукционное)	
1.	
2.	
3.	
4.	

II деление (эквационное)	
1.	
2.	
3.	
4.	

Оценка: _____ Подпись: _____ Преподаватель: _____

Замечания:

Раздел III. Гаметогенез

В результате освоения данного раздела студент должен знать: особенности макро- и микроспорогенеза, а также гаметогенеза у цветковых растений; механизм двойного оплодотворения у цветковых растений; стадии сперматогенеза и оогенеза человека.

3.1. Споро- и гаметогенез у цветковых растений

1. Дайте определения понятиям:

Макроспорогенез

Макрогаметогенез

Микроспорогенез

Микрогаметогенез

Гаметофит

Спорофит

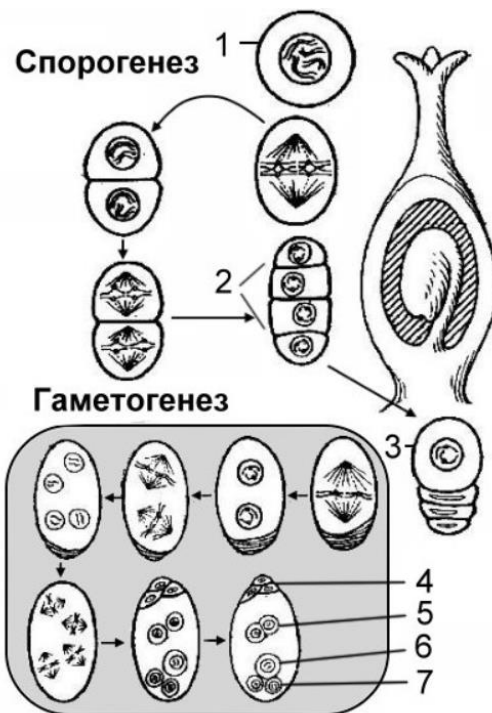
Семязачаток

Микропиле

Спермий

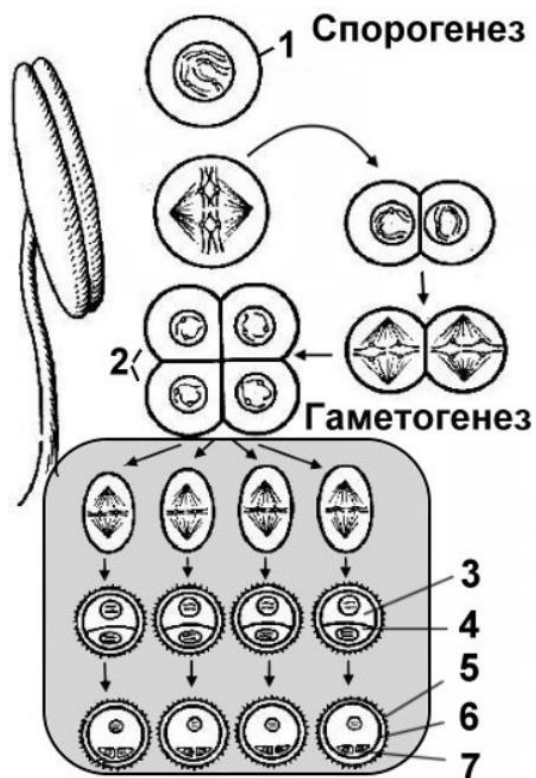
Пыльцевая трубка

2. Укажите названия частей семязачатка на каждом этапе макроспорогенеза и макрогаметогенеза.



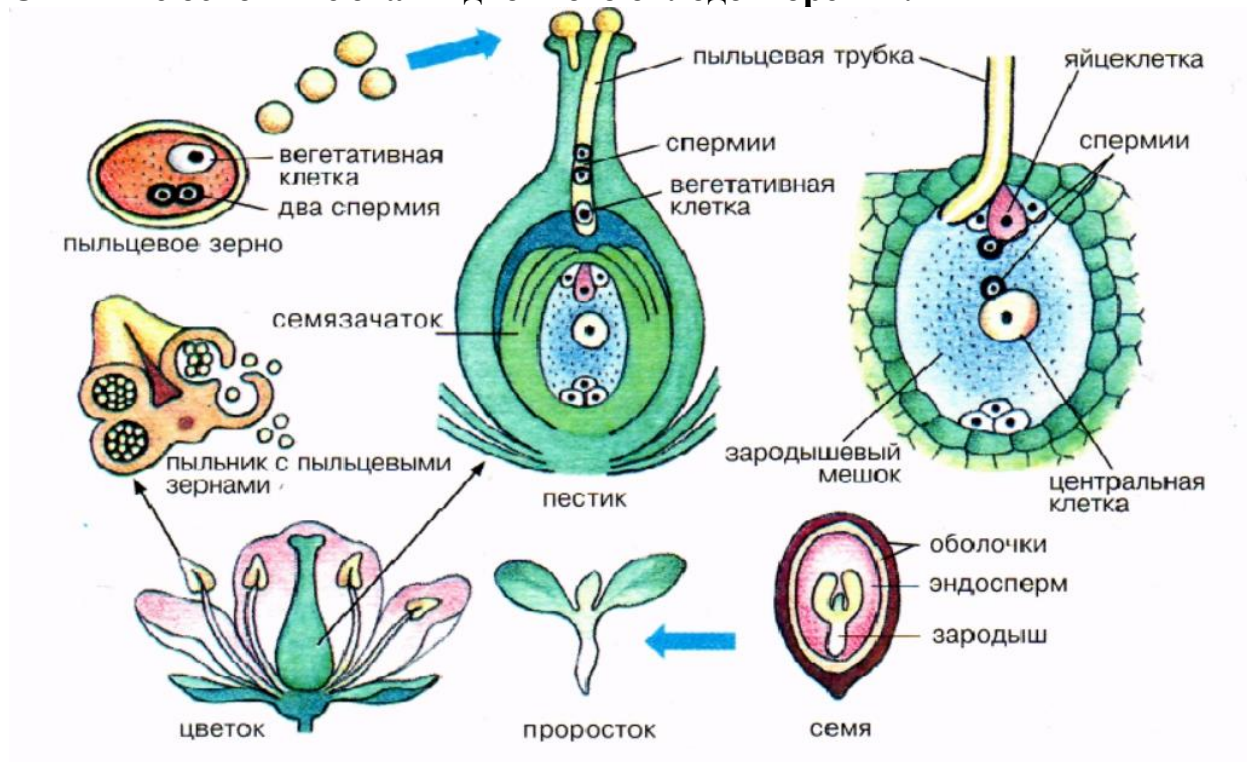
1 _____, 2 _____, 3 _____,
 4 _____, 5 _____,
 6 _____, 7 _____.

3. Укажите названия частей пыльцевого зерна на каждом этапе микроспорогенеза и микрогаметогенеза.



1 _____, 2 _____, 3 _____,
4 _____, 5 _____,
6 _____, 7 _____.

4. Изучите схему двойного оплодотворения цветкового растения. Опишите основные этапы двойного оплодотворения.

[illegible]

3.2. Гаметогенез у человека

1. Дайте определения понятиям:

Оогенез

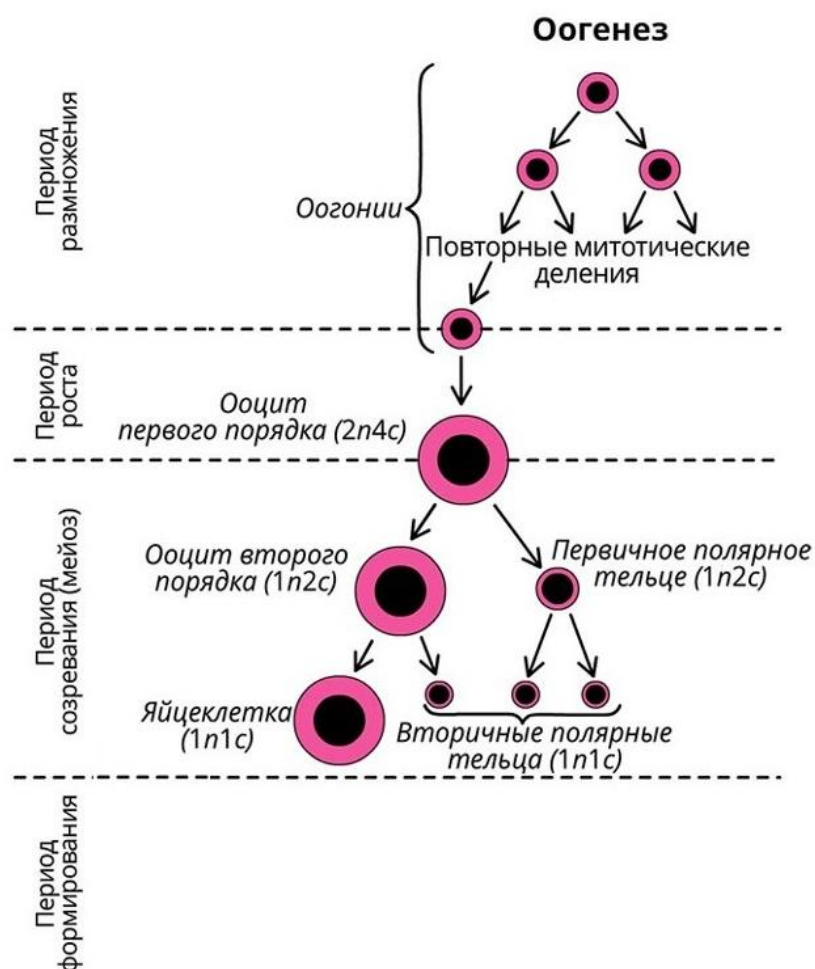
Сперматогенез

Яичник

Семенники

2. Изучите схему оогенеза человека. Кратко опишите каждый период и укажите в какой этап онтогенеза проходят эти события.

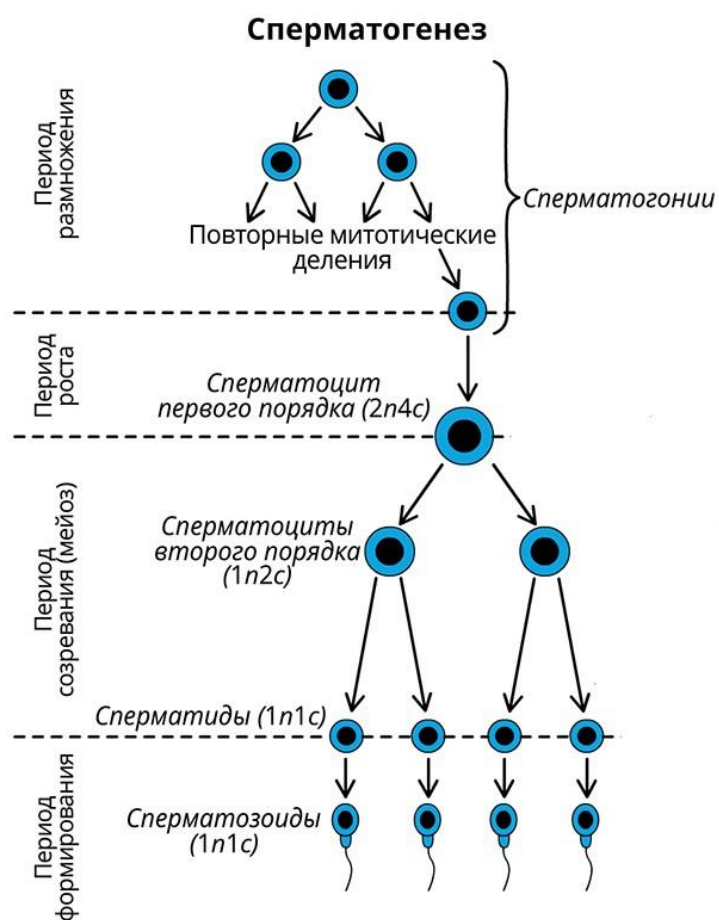
Название периода	Описание периода	Этап онтогенетического развития	Количество хромосом и молекул ДНК
Период размножения			____ n ____ c
Период роста			____ n ____ c
Период созревания			____ n ____ c
Период формирования			____ n ____ c



3. Изучите схему сперматогенеза человека. Кратко опишите каждый период и укажите в какой этап онтогенетического развития проходят эти события.

Название периода	Описание периода	Этап онтогенетического развития	Количество хромосом и молекул ДНК
Период размножения			_____ n _____ c
Период роста			_____ n _____ c

Период созревания			___ n ___ c
Период формирования			___ n ___ c



Оценка: _____ Подпись: _____ Преподаватель: _____

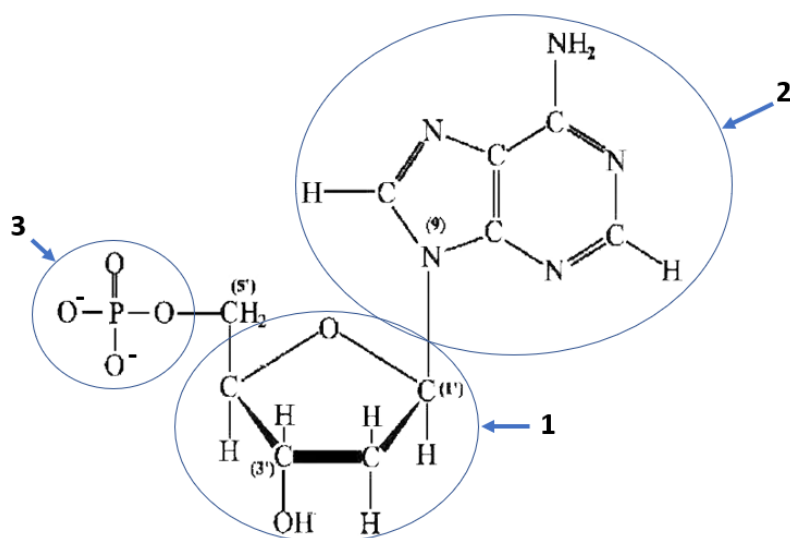
Замечания:

Раздел IV. Молекулярные основы наследственности

В результате освоения данного раздела студент должен знать: строение и функции молекул ДНК и РНК; понятие генетического кода; сущность процессов репликации, транскрипции и трансляции.

4.1. Строение ДНК и РНК

1. Укажите части нуклеотида, входящего в состав ДНК



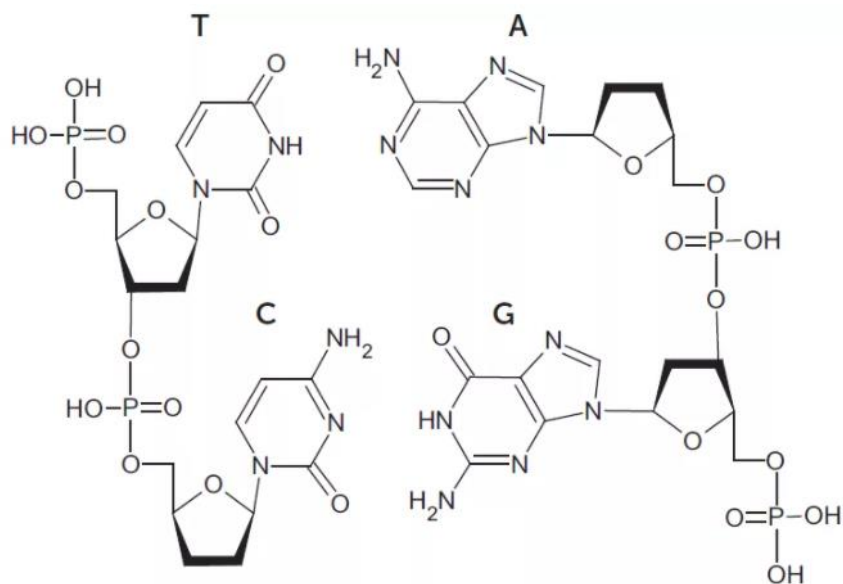
1

2

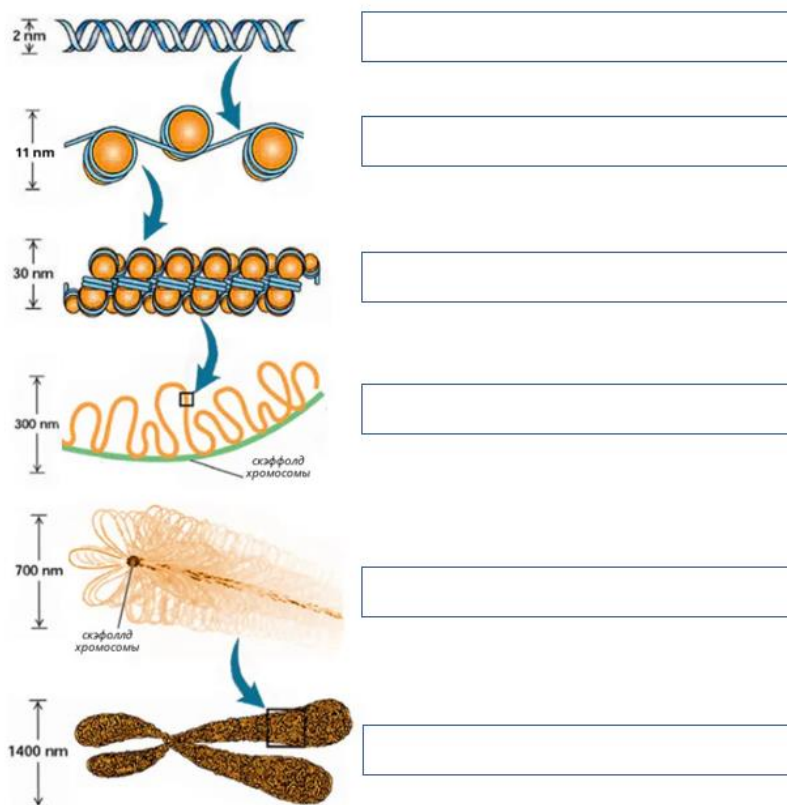
3

2. Укажите класс азотистых оснований Пуриновые или Пиримидиновые:

3. Изобразите водородные связи между азотистыми основаниями комплементарных нуклеотидов и фосодиэфирные связи между нуклеотидами в двух комплементарных цепях.



4. Укажите уровни компактизации ДНК.



5. Укажите параметры двуцепочечной молекулы ДНК.

Расстояние между нуклеотидами -

Диаметр молекулы -

Количество нуклеотидов в одном витке спирали -

Длина одного витка спирали -

4.2. Матричные процессы

1. Дайте определения понятиям:

Репликация

Транскрипция

Трансляция

Ген

Процессинг

Альтернативный сплайсинг

Кэпирование

Кодон

Антикодон

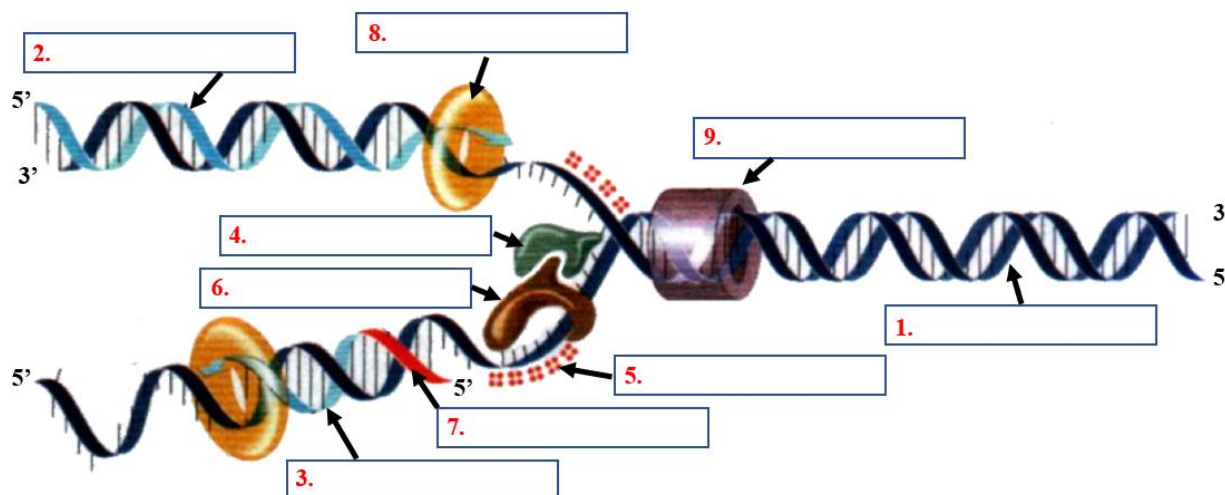
Генетический код

2. Установите соответствие:

А	Репликация	а	Синтез белка	1	В цитоплазме
В	Транскрипция	б	Синтез ДНК	2	В ядре
С	Трансляция	с	Синтез РНК	3	В ядре

A ; **B** ; **C** .

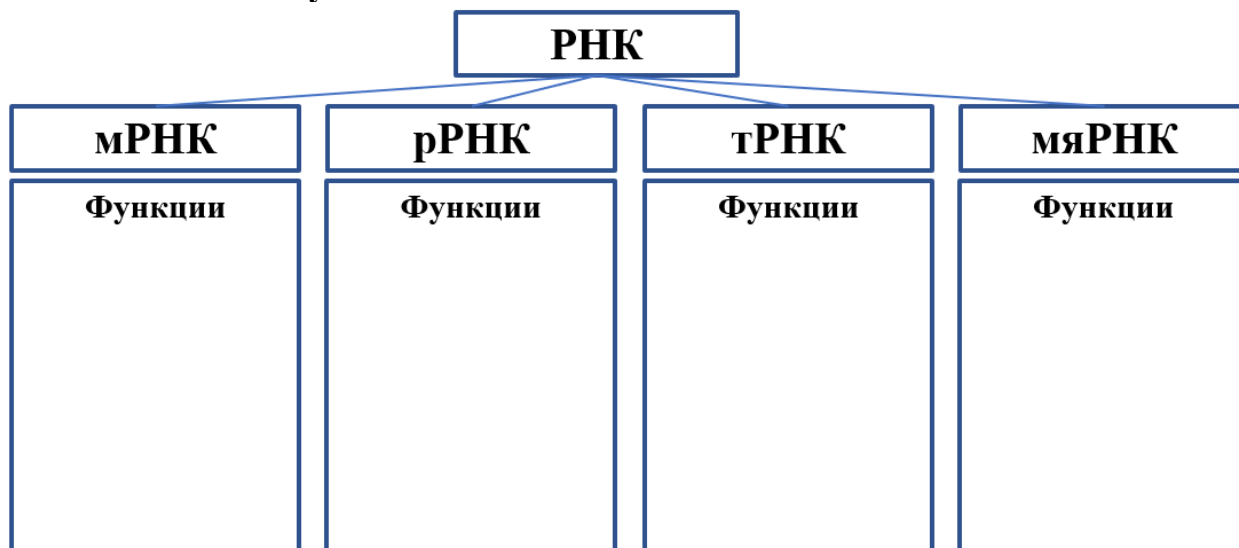
3. Обозначьте основные компоненты и ферменты репликации, кратко опишите их функции:



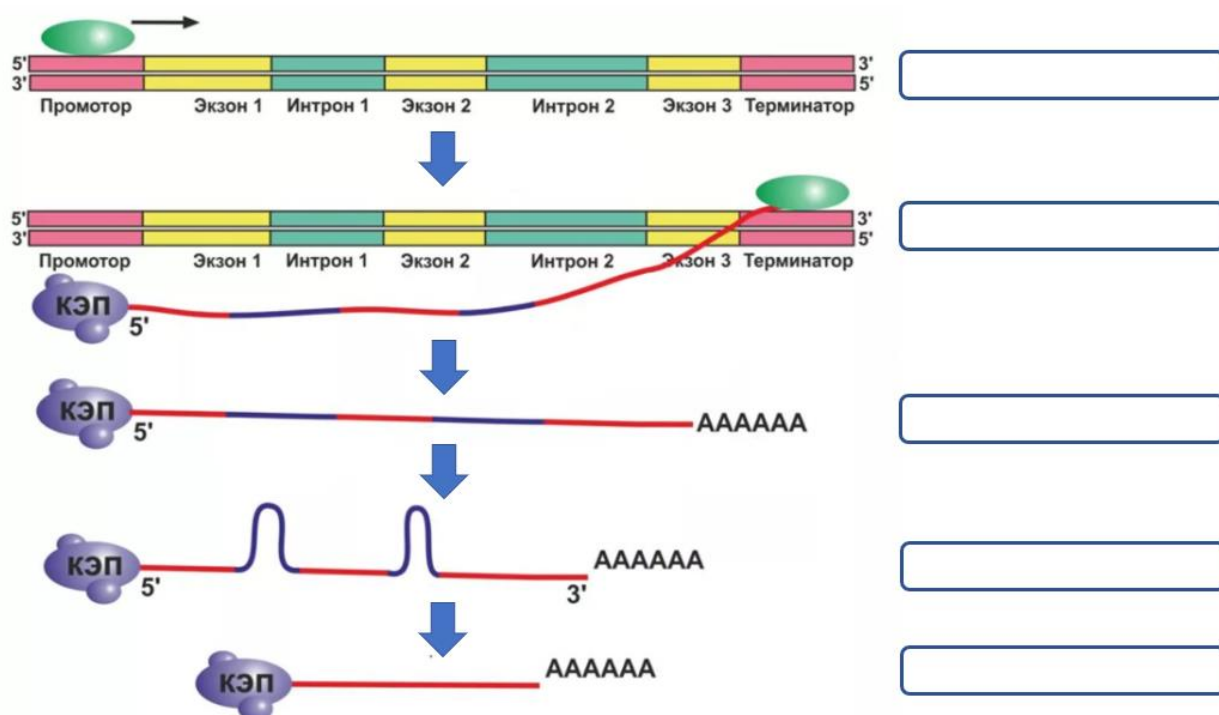
№	Фермент или компонент, функции
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	

9	

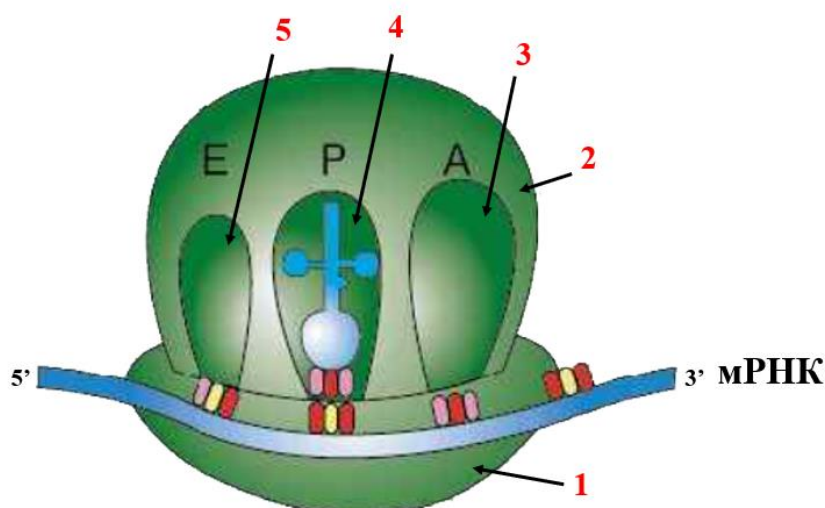
4. Заполните схему:



5. Укажите основные этапы образования мРНК.



6. Укажите основные компоненты рибосомы.



1 _____, 2 _____, 3 _____,
4 _____, 5 _____.

7. На основании последовательности нуклеотидов фрагмента и-РНК определите антикодоны т-РНК и последовательность аминокислот, закодированную в этом фрагменте (для этого используйте таблицу генетического кода). Также напишите фрагмент молекулы ДНК, на котором была синтезирована эта и-РНК.

иРНК	У Г Ц	А Ц У	Г А А	Ц Г Ц	Г У А
тРНК					
аминокислоты					
ДНК					

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД					
Н У К Л Е О Т И Д Ы					
Матричная РНК	1-й	2-й			3-й
	У	Ц	А	Г	
У	УУУ } Фенилаланин УУЦ } УУА } УУГ } Лейцин	УЦУ } УЦЦ } Серин УЦА } УЦГ }	УАУ } Тирозин УАЦ } УАА } УАГ } стоп-кодон	УГУ } Цистеин УГЦ } УГА } стоп-кодон УГГ } Триптофан	У Ц А Г
Ц	ЦУУ } ЦУЦ } Лейцин ЦУА } ЦУГ }	ЦЦУ } ЦЦЦ } Пролин ЦЦА } ЦЦГ }	ЦАУ } Гистидин ЦАЦ } ЦАА } ЦАГ } Глутамин	ЦГУ } ЦГЦ } ЦГА } ЦГГ } Аргинин	У Ц А Г
А	АУУ } АУЦ } Изолейцин АУА } АУГ } Метинин СТАРТ-КОДОН	АЦУ } АЦЦ } Треонин АЦА } АЦГ }	ААУ } Аспарагин ААЦ } ААА } ААГ } Лизин	АГУ } Серин АГЦ } АГА } АГГ } Аргинин	У Ц А Г
Г	ГУУ } ГУЦ } Валин ГУА } ГУГ }	ГЦУ } ГЦЦ } Аланин ГЦА } ГЦГ }	ГАУ } Аспарагиновая кислота ГАЦ } ГАА } ГАГ } Глутаминовая кислота	ГГУ } ГГЦ } ГГА } ГГГ } Глицин	У Ц А Г

Оценка: _____ Подпись: _____ Преподаватель: _____

Замечания:

Раздел V. Закономерности наследования признаков

В результате освоения данного раздела студент должен знать: закономерности наследования моногенных и полигенных признаков; типы взаимодействия аллелей гена; виды взаимодействия генов; закономерности сцепленного наследования.

5.1. Моногенное наследование признаков

1. Дайте определение понятиям:

Ген

Алель

Множественный аллелизм

Генотип

Фенотип

Аутосома

Гамета

Чистые линии

Закон чистоты гамет

Закон единообразия гибридов первого поколения

Закон расщепления

Расщепление	Тип взаимодействия аллелей гена		
	Полное доминирование	Неполное доминирование	Кодоминирование
По генотипу			
По фенотипу			

Задача 1. При скрещивании двух сортов томатов, один из которых имел желтые, а другой красные плоды, гибриды F1 имели красные плоды, а во втором поколении – 58 красных и 14 желтых плодов. Объясните расщепление. Докажите правильность своей гипотезы с помощью критерия χ^2 . Каковы генотипы исходных сортов и гибридов F1?

Ген	Генотип	Фенотип

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 3. От скрещивания растений львиного зева с красными и кремовыми цветками в первом поколении все растения имели бледно-красные цветки, а во втором произошло расщепление: 22 с красными, 23 с кремовыми и 59 с бледно-красными цветками. Объясните расщепление. Определите генотипы исходных растений. Правильность своей гипотезы проверьте с помощью критерия χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 4. В серии множественных аллелей окраска шерсти у кроликов наблюдаются следующие взаимоотношения $C^+ > C^{ch} > C^h$. Какую часть потомства составят крольчата гималайской и шиншилловой окраски при скрещивании животных с генотипами C^+ / C^{ch} и C^{ch} / C^h ?

Дано:

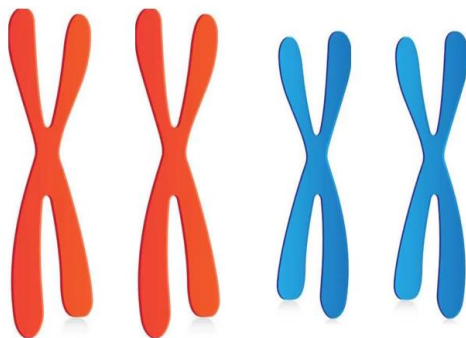
Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

5.2. Ди- и полигенное наследование признаков

1. Укажите расположение аллелей генов А и В на хромосомах при независимом наследовании этих генов у носителя генотипа $AaBb$.



2. Укажите формулировку Закона независимого наследования признаков.

3. Перечислите условия, при которых выполняется III закон Г.Менделя.

4. Перечислите ограничения III закона Г.Менделя.

5. Решите задачи на наследование признаков.

Задача 1. Скрещивались две породы тутового шелкопряда, которые различались следующими двумя признаками: одна из них дает одноцветных гусениц, плетущих желтые коконы, а другая – полосатых гусениц, плетущих белые коконы. В первом поколении все гусеница были полосатыми и плели желтые коконы. Во втором поколении получилось следующее расщепление: 6385 полосатых гусениц, плетущих желтые коконы, 2147 – полосатых с белыми коконами, 2099 – одноцветных с желтыми коконами и 691 – одноцветных с белыми коконами. Определите генотипы исходных форм и потомства первого и второго поколения. Докажите правильность своей гипотезы с помощью критерия χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 2. При скрещивании растений пшеницы, имеющего плотный остистый колос, с растением с рыхлым безостым колосом в первом поколении все растения имели безостые колосья средней плотности. Во втором поколении было получено: 58 безостых с плотным колосом, 125 безостых с колосом средней плотности, 62 безостых с рыхлым колосом, 18 остистых с плотным колосом, 40 остистых с колосом средней плотности и 21 с остистым рыхлым колосом. Как наследуются признаки? Каковы генотипы исходных растений и гибридов F_1 ? Правильность своей гипотезы проверьте с помощью критерия χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 3. Родители имеют группы крови:

	<i>Мать</i>	<i>Отец</i>
<i>Первая пара</i>	A, MN, Rh ⁺	O, M, Rh ⁺
<i>Вторая пара</i>	B, N, Rh ⁻	B, MN, Rh ⁺
<i>Третья пара</i>	A, M, Rh ⁺	B, MN, Rh ⁻

Дети имеют группу крови:

AB, M, Rh⁻

A, N, Rh⁻

A, MN, Rh⁺

Кто чей ребенок? Определите генотипы родителей и детей.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

5.3. Взаимодействие неаллельных генов

1. Дайте определение понятиям:

Взаимодействие неаллельных генов

Комплементарность

Эпистаз

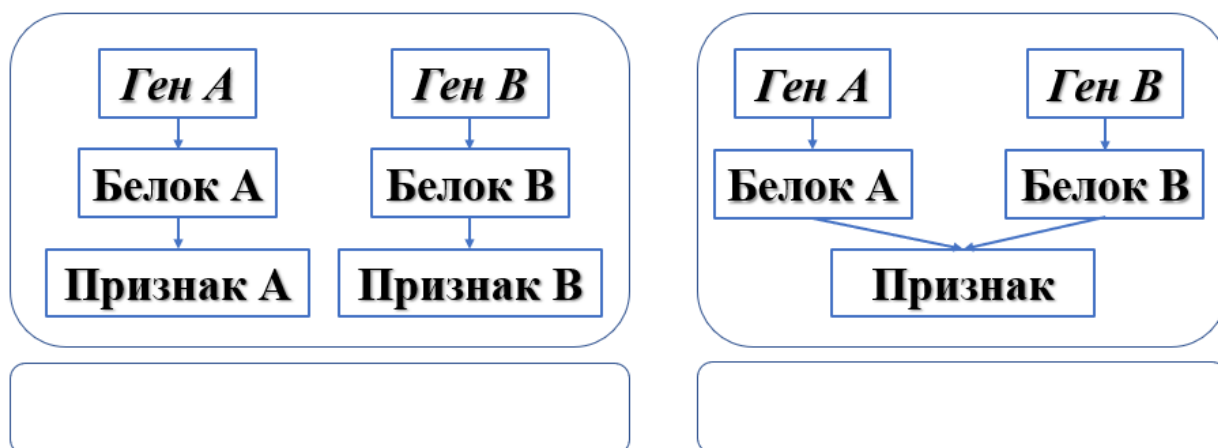
Полимерия

Плейотропное действие генов

Пенетрантность

Экспрессивность

2. Укажите тип наследования признаков.



3. Установите соответствие:

А. Комплементарность	a	$12(I\_A\_ + I\_aa):3iiA\_ :1iiaa$
В. Доминантный эпистаз	b	$9A\_B\_ :6(A\_bb+aaB\_):1aabb$
С. Рecessивный эпистаз	c	$15(A_1\_A_2\_ + A_1\_a_2a_2 + a_1a_1A_2\_):1a_1a_1a_2a_2$
Д. Кумулятивная полимерия	d	$9A\_B\_ :7(A\_bb+aaB\_+aabb)$
Е. Некумулятивная полимерия	e	$9A\_B\_ :3A\_bb:3aaB\_ :1aabb$
	f	$9I\_A\_ :7(I\_aa+iiA\_ +iiaa)$
	g	$1/16:4/16:6/16:4/16:1/16$
	h	$13(I\_A\_ + I\_aa + iiaa):3iiA\_$
	i	$9A\_B\_ :3A\_bb:4(aaB\_ + aabb)$
А — , В — , С — , Д — , Е — .		

4. Решите задачи на наследование признаков.

Задача 1. При скрещивании растений тыквы с дисковидной формой плода в потомстве было получено 121 растение с дисковидной формой плода, 77 – со сферической и 12 – с удлиненной. Объясните расщепление, определите генотипы исходных форм. Как наследуется признак? Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 . Какое расщепление Вы ожидаете получить в анализирующем скрещивании и какое растение будете использовать в качестве анализатора?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 2. От скрещивания растений люцерны с пурпурными и желтыми цветками в F_1 все цветки были зелеными, а в F_2 произошло расщепление: 169 с зелеными цветками, 64 с пурпурными, 67 с желтыми и 13 с белыми. Как наследуется признак? Определите генотипы исходных растений. Правильность своей гипотезы проверьте с помощью метода χ^2 . Что получится, если скрестить растения F_1 с белоцветковым растением?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 3. При скрещивании двух карликовых растений кукурузы было получено потомство нормальной высоты. В F_2 от скрещивания между собой растений F_1 было получено 452 растения нормальной высоты и 352 карликовых. Предложите гипотезу, объясняющую эти результаты, и докажете правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 . Определите генотипы исходных растений.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 4. Скрещивая две формы гороха – с розовыми и белыми цветками – в первом поколении получили растения с пурпурными цветками, а во втором – 87 растений с пурпурными, 36 – с белыми и 29 – с розовыми цветками. Объясните результаты скрещиваний и определите генотипы исходных растений. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 . Что получится, если растения из F_1 скрестить с родительскими формами?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 5. От скрещивания растений кукурузы с окрашенными и неокрашенными зернами, в F_1 все зерна оказались неокрашенными, а в F_2 произошло расщепление: 568 неокрашенных и 120 окрашенных. Как наследуется признак? Определите генотипы исходных растений. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 6. При скрещивании двух зеленых растений кукурузы в потомстве получено 162 зеленых сеянца и 113 нежизнеспособных альбиносов. Объясните расщепление, определите генотипы исходных зеленых растений и возможные генотипы альбиносов. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 7. Скрестив растения овса с черными и белыми чешуями зерна, в первом поколении получили растения с черными чешуями, а во втором – 418 с черными, 100 с серыми, 42 с белыми чешуями. Объясните расщепление. Как наследуется окраска чешуй у овса? Каковы генотипы исходных растений? Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 8. При самоопылении зеленого растения гороха, было получено 544 зеленых и 45 светло-зеленых растений. Объясните расщепление, определите генотип исходного растения. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 9. От брака негров и белых рождаются мулаты. Анализ потомства большого числа браков между мулатами дал расщепление 1:4:6:4:1. Среди потомков были черные, белые, мулаты, а также темные и светлые мулаты. Объясните результаты, определите количество генов, обуславливающих

окраску кожи, характер их взаимодействия и генотипы родителей и потомков.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 10. Допустим, у лиственницы сибирской плотность определяется полимерным взаимодействием генов от 620 до 725 кг/м³. Различают следующие типы плотности древесины лиственницы сибирской: рыхлая – меньше 620 кг/м³, средней плотности – 620–650 кг/м³, выше средней – 650–680 кг/м³, плотная – 680–720 кг/м³, очень плотная – больше 725 кг/м³.

Скрестили два организма, имеющие плотность древесины средней и выше средней с генотипами $A_1A_1a_2a_2 \times A_1a_1A_2A_2$. Какую максимально возможную плотность древесины могут иметь растения F_1 ? При оформлении решения, схематично изобразите локализацию генов на хромосомах.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 11*. Скрещивая растения левкоя с фиолетовыми цветками с растением, имеющим белые цветки, садовод обнаружил в первом поколении 102 растения с фиолетовыми, 109 с красными, 231 с кремовыми и 420 с белыми цветками. От самоопыления родительского белоцветкового растения все растения оказались с белыми цветками. При самоопылении родительского растения с фиолетовыми цветками в F1 обнаружилось расщепление в отношении: 27/64 с фиолетовыми: 9/64 и с красными: 12/64 с кремовыми: 16/64 с белыми цветками.

Объясните расщепления. Как наследуется окраска цветков у левкоев? Определите генотипы всех растений, использованных в скрещиваниях. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

5.4. Сцепленное с полом наследование

1. Дайте определение понятиям:

Пол

Прогамный тип определения пола

Этигамный тип определения пола

Сингамный тип определения пола

Половые хромосомы

Гомогаметный пол

Гетерогаметный пол

Балансовая теория определения пола

Сцепленное с полом наследование

Голандрический тип наследования

Крисс-кросс наследование

Зависимые от пола признаки

Ограниченные полом признаки

Гинандроморфизм

Прямое скрещивание

Обратное скрещивание

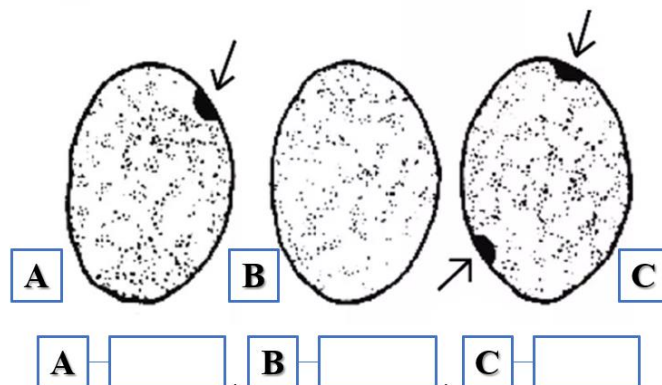
Реципрокные скрещивания

2. Распределите животных по группам в соответствии с их типом определения пола:

А. Синий кит, В. Коловратки, С. Крокодил, D. Дрозофила, Е. Червь Бонеллия, F. Человек

Прогамный тип определения пола	Эпигамный тип определения пола	Сингамный тип определения пола

3. Установите какое количество X-хромосом имеют индивиды, половой хроматин которых изображен на рисунке. Стрелочками отмечены тельца Барра.



4. Решите задачи на наследование признаков.

Задача 1. Отец и сын – дальтоники, а мать различает цвета нормально. Развитие цветовой слепоты обусловлено проявлением рецессивного аллеля гена, локализованного в X-хромосоме. Определите генотипы родителей и ребенка. Правильно ли будет сказать, что в этой семье сын унаследовал свой недостаток от отца?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 2. В некоторых случаях часть X-хромосомы оказывается генетически инертной, а Y-хромосома несет те или иные аллели. У человека в Y-хромосоме находится ген, определяющий развитие перепонки между вторым и третьим пальцами ног. Определите, какие будут дети и внуки у мужчины с перепонками между пальцами и женщины, у которой этих перепонки нет.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 3. У человека есть наследственное аллергическое заболевание – геморрагический диатез, вызываемый рецессивным геном. Аллели этого гена находятся в X- и Y-хромосоме. Определите какие будут дети, если родители: а) жена и все ее предки здоровы, а муж болен; б) муж и все его предки здоровы, а жена больна; в) Муж и жена здоровы, но гетерозиготны по данному гену.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 4. В потомстве от скрещивания рано оперившихся петуха с поздно оперившейся курицей обнаружено 20 поздно оперившихся петушков и 22 рано оперившихся курочки. В обратном скрещивании и петушки, и курочки оперились поздно. Объясните расщепление. Какие результаты вы ожидаете получить в F₂ реципрокных скрещиваний?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 5. При скрещивании кошки, имеющей черепаховую окраску шерсти (трехцветные), с рыжим котом в нескольких пометах получено 18 черепаховых и 14 рыжих кошек, 17 рыжих и 17 черных котов. Скрещивание черепаховой кошки с черным котом дало 10 черепаховых и 13 черных кошек, 11 рыжих и 8 черных котов. Объясните результаты. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

рано облысели. Объясните результаты, определите генотипы всех членов этой семьи.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 8. В потомстве от скрещивания петуха с высокопродуктивной курицей, в первом поколении все курочки обладали высокой яйценоскостью, а во втором произошло расщепление: 65 курочек имели высокую продуктивность, а 20 курочек были низкопродуктивными. Объясните расщепление. Как наследуется признак? Почему анализируются только курочки. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 9*. От скрещивания самца аквариумной рыбки медаки с коричневой самкой в F_1 все самки и самцы оказались коричневыми, а в F_2 – 248 коричневых, 57 голубых, 53 красных и 21 белых. Пол определить удастся у этих рыбок не раньше, чем в годовалом возрасте. Через год среди выживших рыб распределение их по полу и окраске оказалось следующее:
самки: 147 коричневых и 35 красных
самцы: 77 коричневых, 56 голубых, 16 красных, 19 белых.
Как наследуется признак? Определите генотипы исходных рыб. Докажите правильность своей гипотезы с помощью метода χ^2 .

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

5.5 Сцепленное наследование и кроссинговер

1. Дайте определение понятиям:

Рекомбинативная изменчивость

Кроссинговер

Несестринские хроматиды

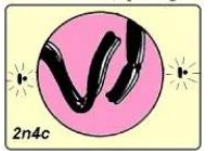
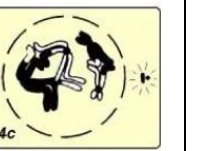
Сестринские хроматиды

Гаплотип

Полное сцепление генов

Неполное сцепление генов

2. Укажите основные события, происходящие в профазу первого деления мейоза.

				
Лептотена	Зиготена	Пахитена	Диплотена	Диакинез

3. Укажите аллельный состав хромосом в профазе I мейоза и распишите состав гамет по указанным генам А и В.



4. Решите задачи на наследование признаков

Задача 1. Особь, гомозиготная по генам С и D, скрещена с гомозиготной особью ccdd и гибриды F1, возвратно скрещены с двойным рецессивом. От этого возвратного скрещивания получено следующее потомство:

903 CcDd

893 ccdd

98 Ccdd

102 ccDd

Объясните результаты, определив силу сцепления между генами С и D. Каковы были бы результаты этого скрещивания в случае независимого распределения С и D.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 2. Особь, гомозиготная по генам E и f, скрещена с гомозиготной особью eeFF. От скрещивания F1 с двойным рецессивом получено:

762 Ef

758 eF

243 EF

237 ef

Определить силу сцепления между генами E и f.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 3. У кукурузы признаки желтых проростков, детерминируемых геном а, и блестящих листьев, детерминируемых геном b, наследуются сцепленно и являются рецессивными по отношению к признакам зеленых проростков и матовых листьев. От скрещивания гомозиготных растений кукурузы имеющих желтые проростки и блестящие листья, с растениями, имеющими зеленые проростки и матовые листья, получили 124 гибрида F1. От скрещивания растений F1 с линией-анализатором получили 726 растений, в том числе 310 с признаками доминантной родительской формы,

Составьте схему скрещивания, выпишите некроссоверные и кроссоверные гаметы, получите и проанализируйте гибриды F_a.

- Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

[illegible]

ОТВЕТ:

1. Сколько растений F1 имели лигульные листья с матовой поверхностью?
2. Сколько процентов растений F_a имели лигулу и глянцевые листья?

3. Сколько процентов растений F_2 не имели лигулы, но были с матовыми листьями?
4. Сколько процентов растений F_2 имели лигулу и матовые листья?
5. Какое расстояние между этими генами?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 5. Каков будет генотип F_1 от скрещивания гомозиготных особей (Ав)(Ав) и (аВ)(аВ)? Какие гаметы будут иметь особи - F_1 ? Каково будет потомство от возвратного скрещивания особей F_1 с двойным рецессивом, если процент перекреста равен 20?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 6. Допустим, что гены А и В сцеплены друг с другом и показывают 40% перекреста. Каков будет генотип F₁, при скрещивании гомозиготной особи (АВ) с (ав)? Какие гаметы и в каких отношениях будут давать особи F₁? Каковы будут фенотипы и генотипы потомства в F₂?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 7. У кроликов в одной хромосоме локализован рецессивный ген b, детерминирующий коричневую окраску меха, и рецессивный ген а - желтая окраска жира. Расстояние между генами 4%. Доминантный ген В обуславливает серую окраску меха, а ген А - белый жир. Линию с серой окраской меха и желтым жиром скрестили с линией, имеющей коричневую окраску меха и белый жир. В F₁ получили 12 животных, в F₂ - 42.

1. Сколько типов гамет может образовать гибрид F₁?
2. Сколько животных F₁ могут иметь серую окраску меха и белый жир?
3. Сколько разных генотипов может быть в F_a?
4. Сколько гибридов F_a могли иметь серую окраску меха и желтый жир?
5. Сколько гибридов F_a могли иметь коричневую окраску меха и белый жир?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 8. Шесть петухов, гетерозиготных по сцепленным с полом генам карликовости (а) и серебристости (В), скрещивали с нормальными золотистыми курами. Всех петушков выбраковывали, а курочек в возрасте пяти месяцев классифицировали следующим образом:

♀♀ F ₁ от петухов	№1, 3, 4	№2, 5, 6
нормальных	153	12
золотистых		
карликовых	137	15
серебристых		
нормальных	13	164
серебристых		
карликовых	11	174
золотистых		
	314	365

Чем вы объясните различия в результатах скрещиваний? Какова сила сцепления между генами а и В? Почему анализировали только курочек?

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Оценка: _____ Подпись: _____ Преподаватель: _____

Замечания:

Раздел VI. Мутационная изменчивость

В результате освоения данного раздела студент должен знать: классификацию мутационной изменчивости по типу изменения генотипа; молекулярные механизмы возникновения мутаций; основные заболевания, обусловленные проявлением мутаций.

6.1. Генные мутации

1. 1. Дайте определения понятиям:

Генная мутация

Транзиция

Трансверсия

Мутации со сдвигом рамки считывания

Делеция

Инсерция

Нонсенс-мутация

Миссенс-мутация

Молчащая мутация

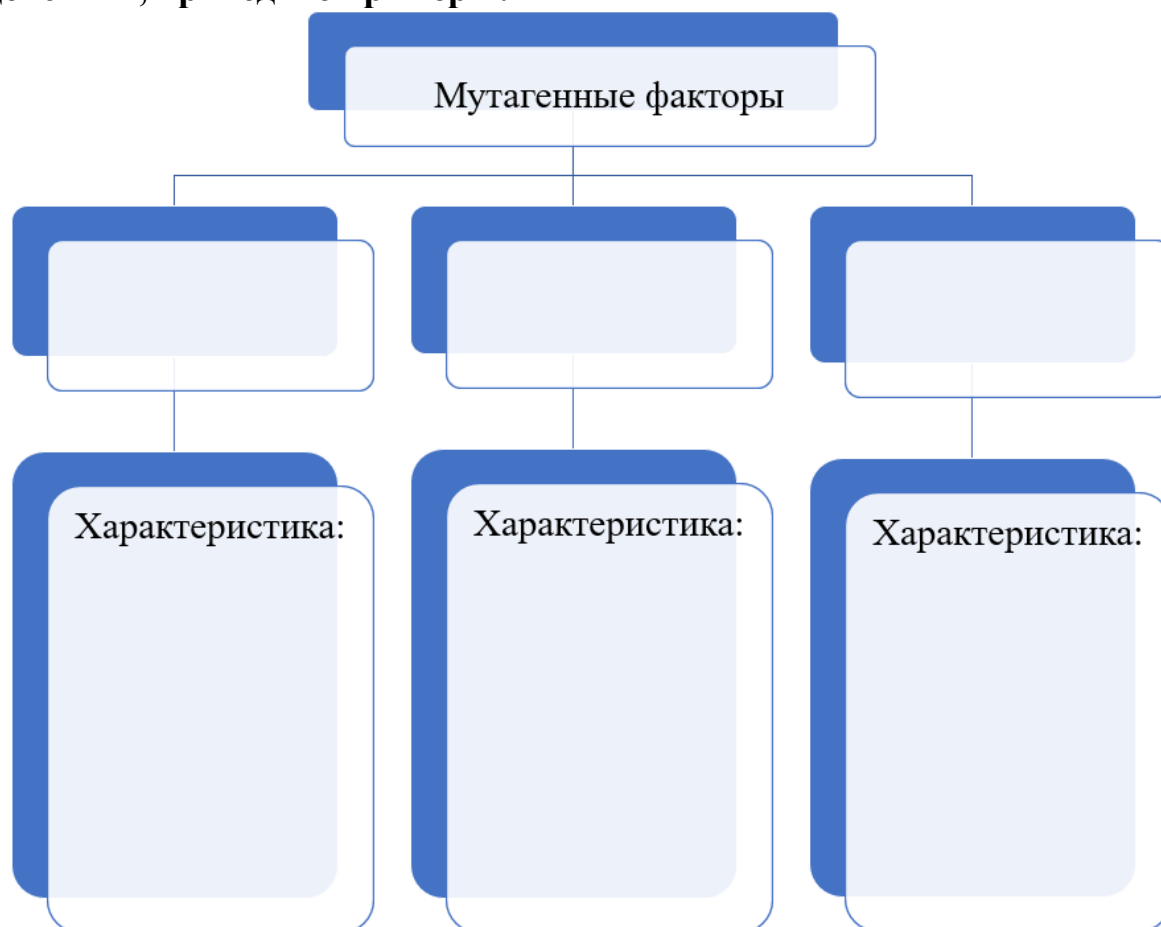
2. Укажите тип нуклеотидной замены: транзиция или трансверсия

A→G	T→G	G→C	C→T	A→C

3. К какому типу мутаций относятся следующие варианты изменения структуры ДНК:

А. Транзиция, В. Делеция, С. Инсерция, D. Трансверсия, Е. Дупликация	
Нуклеотидные замены	Мутации со сдвигом рамки считывания

4. Составьте схему «Типы мутагенных факторов», напишите механизм действия, приведите примеры:



5. Дана нуклеотидная последовательность фрагмента ДНК, кодирующая участок полипептида:

ДНК	ТААСGACAATGATACCTTTACTTTATATAC
РНК	AUUGCUGUUACUAUGGAAAUGAAAUAUAUG
Белок	Изо-Ала-Вал-Тре-Мет-Глут.к-Мет-Лиз-Тир-Мет

В результате мутации изменилась последовательность ДНК. Распишите последовательность мРНК и полипептида, а также укажите к какому типу относится произошедшая мутация по молекулярному механизму (транзиция, трансверсия, делеция, инсерция) и

фенотипическому проявлению (миссенс-мутация, нонсенс-мутация, молчащая мутация, мутация со сдвигом рамки считывания). Кратко охарактеризуйте последствия данной мутации.

ДНК	TAACGACAATGATACCTTTACTTTAT T TAC
РНК	
Белок	
Тип мутации	
Характеристика	

ДНК	TAACGACAATGATAC C TTACTTTATATAC
РНК	
Белок	
Тип мутации	
Характеристика	

ДНК	TAACGACAAT A GATACCTTTACTTTATATAC
РНК	
Белок	
Тип мутации	
Характеристика	

6.2. Хромосомные мутации

1. Дайте определения понятиям:

Хромосомная мутация

Транслокация

Робертсоновская транслокация

Реципрокная транслокация

Транспозиция

Инверсия

Парацентрическая инверсия

Перицентрическая инверсия

2. Укажите тип хромосомной aberrации.



3. Дайте характеристику заболеваниям человека, обусловленных изменением морфологии хромосом. Укажите тип хромосомной мутации, локализацию, кратко опишите симптоматику заболевания.

Название заболевания	Тип хромосомной мутации, локализация	Симптоматика
Синдром «кошачьего крика»		
Синдром Вольфа-Хиршхорна		
Синдром Альфи		

Синдром Орбели		

6.3. Геномные мутации

1. Дайте определения понятиям:

Геномная мутация

Полиплоидия

Автополиплоидия

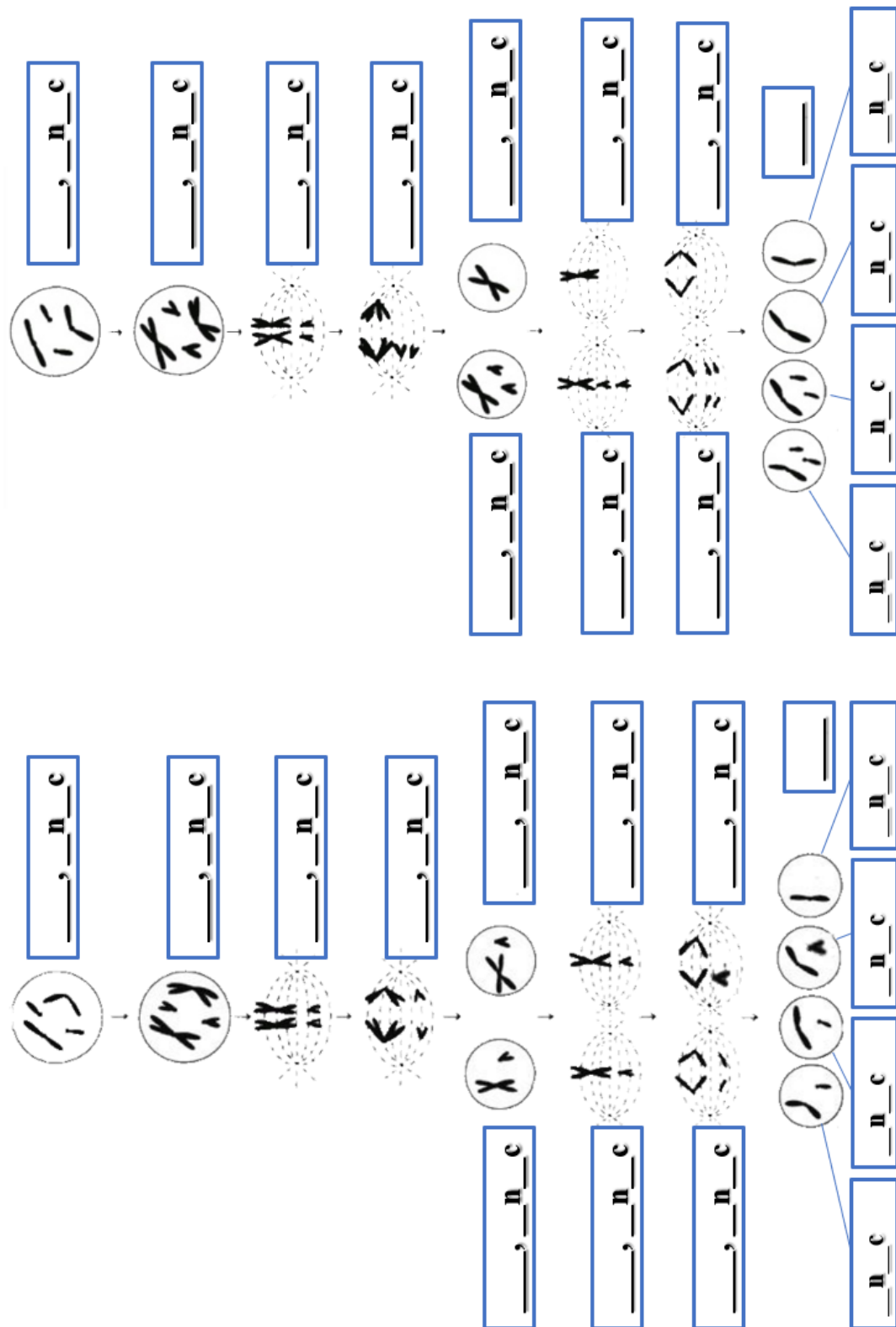
Анеуплоидия

Трисомия

Моносомия

Нулисомия

2. Укажите периоды клеточного цикла, фазы мейоза, количество хромосом и молекул ДНК при не расхождении хромосом в мейозе.



Задача 2. Ребенок с синдромом Дауна имеет 46 хромосом вместо 47, постоянно обнаруживаемых при этой болезни (лишняя хромосома №21). Исследование кариотипа показало, что одна из его хромосом №15 длиннее обычной (это можно изобразить как 15/21). У матери больного, а также у тетки и у бабушки по материнской линии (с нормальной конституцией) обнаружено 45 хромосом с удлинённой хромосомой №15 (15/21). Чем можно объяснить наблюдающееся в этой семье явление? Какие по генотипу могут образоваться зиготы, если мать имеет 45 хромосом (15/21), а отец нормальный.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Оценка: _____ Подпись: _____ Преподаватель: _____

Замечания:

Раздел VII. Модификационная изменчивость

В результате освоения данной темы студент должен знать: типы фенотипической изменчивости; сущность, причины и закономерности модификационной изменчивости; основные понятия и термины; параметры модификационной изменчивости.

1. Дайте определения понятиям:

Фенотипическая изменчивость

Модификации

Морфозы

Фенокопии

Норма реакции

2. Заполните таблицу.

Вид изменчивости Характеристика	Модификационная	Мутационная
Изменяется генотип или фенотип		
Факторы, вызывающие изменчивость		
Наследуется?		
Имеет ли значение для эволюции		

3. Рассчитайте параметры модификационной изменчивости для данной выборки студентов по признаку уровень невербального интеллекта (IQ). Изменился ли уровень IQ в данной выборке в процессе обучения?

№ п\п	ФИО студента	Значение IQ		№ п\п	ФИО студента	Значение IQ	
		1 курс	4 курс			1 курс	4 курс
1	АКП	121	126	16	НЕФ	116	119
2	АМП	109	111	17	ПИН	116	115

3	БРК	124	121	18	ПАК	126	122
4	БРР	130	132	19	ПОД	103	105
5	БАЛ	111	108	20	ПУТ	118	119
6	ВВА	117	116	21	РИК	107	109
7	ВАП	105	109	22	СОМ	102	104
8	ВЛЛ	128	131	23	СКН	111	109
9	ДПР	98	102	24	САА	120	119
10	ЕДО	125	123	25	ТГН	110	112
11	КПП	115	120	26	ТЕН	85	92
12	КНЕ	122	118	27	УПД	127	128
13	МТР	96	99	28	ХЭМ	114	117
14	ММН	105	104	29	ХГФ	106	104
15	МАГ	118	115	30	ЯИВ	109	105

№ п/п	Параметр	Название параметра, формула	Значение	
			1 курс	4 курс
1	X_{cp}			
2	σ			
3	V			
4	m			
5	t			

4. Решите задачи.

Задача 1. Если известно, что в образце №105 в колосе пшеницы $X_{cp}=17,5$ колосков, а $\sigma=\pm 1,5$ колоска, то мог ли принадлежать этому же образцу колос, имеющий 28 колосков?

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 2. Если известно, что масса тушканчиков (*Dipus aegyptius*) самцов равна $165 \pm 5,20$ г, а самок $160 \pm 3,10$ г, то можно ли сказать, что они отличаются по массе?

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 3. Какой высоты может быть самая высокая сосна, если $X_{cp} = 22,5$ м, а $\sigma = \pm 1,5$ м?

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 4. Рассчитайте ошибку среднего арифметического $X_{\text{ср}}=5,0$ см, если известно, что $\sigma=\pm 1,5$ см, $n=100$.

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 5. Отличаются ли по удоям и жирности молока (черно-пестрые коровы) и дочери-помеси, если матери имели процент жира $2,38\pm 0,06$ и удои $3784\pm 64,0$ ку, а дочери – процент жира $4,97\pm 0,10$ и удои $3720\pm 46,0$ кг?

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 6. Если известно, что среднесуточное увеличение массы телят на 560 г при величине ошибки 8г (изменчивость телят по массе характеризуется $V=10\%$), то можно ли на основе этих данных установить, сколько телят было в опыте?

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 7. Если группа 100 особей (выборка) характеризуется $X_{cp}=10,5$ кг; $\sigma=\pm 1,0$ кг, то при повторном взятии выборки из этой же совокупности может получиться среднее арифметическое, равное 10,0 кг?

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Оценка: _____ Подпись: _____ Преподаватель: _____

Замечания:

Раздел VIII. Закономерности наследования признаков в популяциях

В результате освоения данной темы студент должен знать: основные термины и понятия; основные условия равновесной популяции; закономерности наследования признаков в популяции; закон Харди – Вайнберга; алгоритмы решения задач.

1. Дайте определения понятиям:

Популяция

Равновесная популяция

Панмиксия

Генофонд популяции

2. Вставьте пропуски в математической формуле, выражающей закон Харди-Вайнберга. Напишите формулировку данного закона.

$$p + \_\_\_ = 1$$

$$p^2 + \_\_\_ + q^2 = \_\_\_$$

3. Решите задачи.

Задача 1. У крупного рогатого скота породы шортгорн генотип RR имеет красную масть, Rr – чалую и rr – белую. В этой породе было зарегистрировано 4169 красных животных, 3780 чалых и 756 белых. Определите частоты аллелей R и r, выразив их в %.

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 2. В одной панмиктической популяции частота аллеля b равна 0,1, а в другой – 0,9. В какой популяции больше гетерозигот?

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 3. Из 14345 лисиц, изученных Ромашовым и Ильиной, 12 лисиц черные, 678 – промежуточной окраски, а 13655 лисиц – рыжие. Найдите частоты аллелей черной и рыжей окраски меха в популяции лисиц.

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 4. У тихоокеанского лосося-нерки (*Oncorhynchus nerka*), методом электрофореза в крахмальном геле обнаружены три генотипа по локусу фосфоглюкомутазы (Pgm) в пропорции 3819 AA:2271AA':255A'A'.

А) Оцените частоты аллелей А и А'.

Б) Сопоставьте фактические численности генотипов с ожидаемыми из уравнения Харди-Вайнберга.

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 5. В популяции 16% людей имеют группу крови N. Определите долю лиц с группами крови M и MN в этой популяции при условии панмиксии.

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Задача 6. В популяции людей одного города в период между 1928 и 1942 гг. родилось 26 тыс. детей, из которых 11 были больны талассемией (анемия Кули), наследуемой по рецессивному типу (двухаллельная система).

Дано	Определить

Решение:

Ответ:

Оценка: _____ *Подпись:* _____ *Преподаватель:* _____

Замечания:

Раздел IX. Генетические основы селекции

В результате освоения данной темы студент должен знать: методы селекции животных и растений; центры происхождения культурных растений и животных; правила подбора пар для селекционной работы; использование ЦМС в селекции; полиплоидные ряды; способы выведения межвидовых гибридов.

1. Дайте определение понятиям

Селекция

Искусственный отбор

Экстерьер

Интерьер

Чистая линия

Штамм

Сорт

Порода

Гетерозис

Инбридинг

Аутбридинг

Цитоплазматическая мужская стерильность

Межлинейная гибридизация

Отдаленная гибридизация

Полиплоидный ряд

Основное число

Сбалансированные полиплоиды

Несбалансированные полиплоиды

2. Заполните таблицу «Характеристика центров происхождения культурных растений» (по Н.И.Вавилову).

№ п/п	Название центра происхождения культурных растений	Географическое расположение	Перечень культурных растений
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			

3. Заполните таблицу «Характеристика центров доместикиции животных» (по Н.И.Вавилову).

№ п/п	Название центра доместикиции	Географическое расположение	Перечень животных
1			
2			
3			
4			
5			

4. Сравните дикорастущие и культурные растения

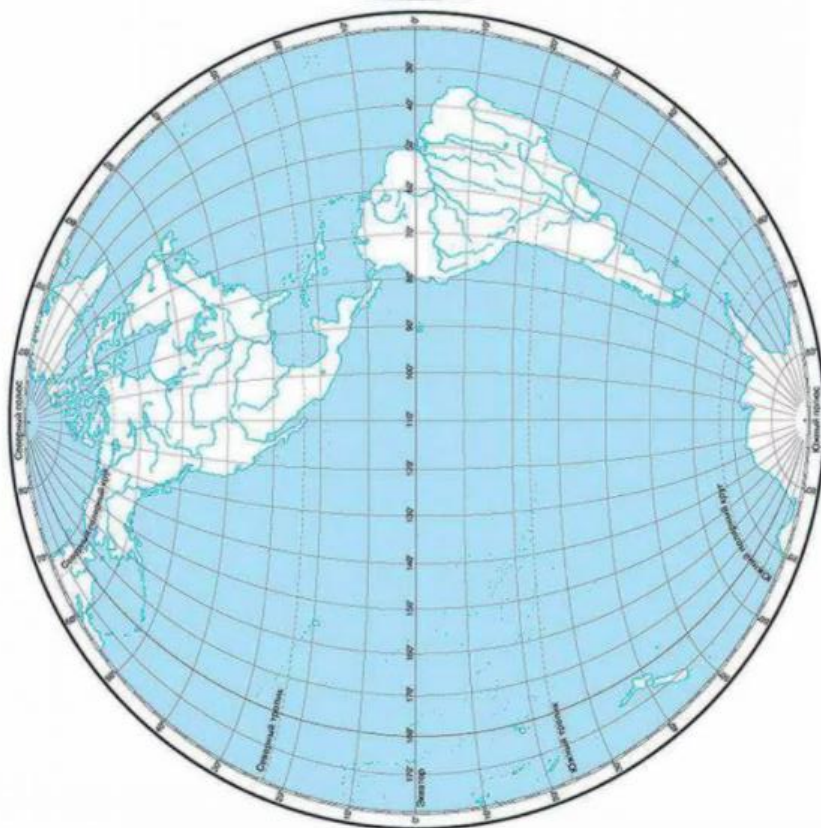
Название растения		Признаки			
		Строение	Кол-во плодов	Вес плодов и других органов	Другие признаки
Фасоль	дикорастущее				
	культурное				
Капуста	дикорастущее				
	культурное				
Пшеница	дикорастущее				
	культурное				

5. Укажите на карте мира расположение центров происхождения культурных растений и доместикиции животных из задания №2 и 3.

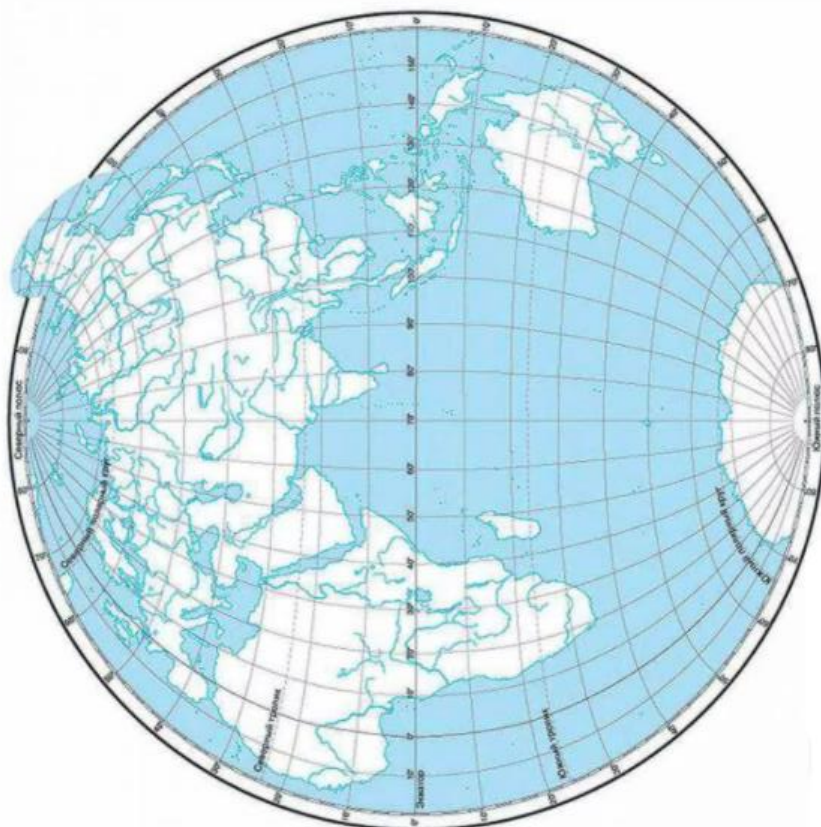
Масштаб 1:30 000 000

ФИЗИЧЕСКАЯ КАРТА ПОЛУШАРИЙ (контурная карта)

ЗАПАДНОЕ ПОЛУШАРИЕ



ВОСТОЧНОЕ ПОЛУШАРИЕ



6. Заполните таблицу «Методы селекции».

Методы	Сущность метода	Результат
Искусственный отбор		
Межлинейная гибридизация		
Отдаленная гибридизация		
Генетически регулируемый гетерозис		
Получение полиплоидов		
Экспериментальный мутагенез		

7. Заполните таблицу «Селекция и биотехнология микроорганизмов».

Биотехнология и ее направления	Сущность метода	Результат
Биотехнология		
Микробиологический синтез		
Клеточная инженерия		
Генная инженерия		

8. Заполните таблицу «Принципы подбора родительских пар для скрещивания»

Принцип	Характеристика	Результат, примеры организмов
По комплексу хозяйственно-биологических признаков		
По продолжительности отдельных фаз вегетации		
По устойчивости к болезням		
По комбинационной способности		
Эколого-географический		

10. Определите основное число полиплоидных рядов растений.

Род	Основное гаплоидное число хромосом	Число хромосом у видов данного рода
Пшеница		14, 28, 42
Пырей		14, 28, 42, 56, 70
Овес		14, 28, 42
Роза		14, 21, 28, 35, 42, 56, 70
Земляника		14, 28, 42, 56, 70, 84, 98
Люцерна		16, 32, 48
Сахарный тростник		48, 56, 64, 72, 80, 96, 112, 120
Свекла		18, 36, 54, 72
Хризантема		18, 27, 36, 45, 54, 63, 72, 81, 90
Щавель		20, 40, 60, 80, 100, 120, 200

11. Определите фертильны или стерильны растения F₁ в следующих скрещиваниях:

♀		♂		F ₁		
Цитоплазма	Ядро	Цитоплазма	Ядро	Цитоплазма	Ядро	Результат
S	RR	N	RR			
S	Rr	S	Rr			
S	rr	N	rr			
N	RR	S	RR			
N	Rr	S	Rr			
N	rr	N	rr			

12. Заполните таблицу «Характеристика межвидовых гибридов животных и растений».

♀		♂		Межвидовой гибрид		
Название	Число хромосом	Название	Число хромосом	Название	Число хромосом	Фертилен/стерил
				Мул		
				Лошак		
				Зеброид		
				Зебрал		
				Лигр		
				Тигон		
				Церападус		
				Йошта		
				Тритикале		
				Слива		

13. Решите задачи.

Задача 1. Какое потомство по окраске плодов должно получиться при самоопылении тетраплоидного растения томата с розовыми плодами с генотипом ААаа, при случайном хромосомном расщеплении и кумулятивном действии аллелей гена? АААА – темно-красная окраска, АААа – красная, ААаа – розовая, Аааа – светло-розовая, аааа – белая.

Дано:

Ген	Генотип	Фенотип

Решение:

Ответ:

Задача 2. Какое соотношение фенотипов вы ожидаете получить от скрещивания автотераплоида ААаа с диплоидом Аа при условии полного доминирования и случайного хромосомного расщепления у полиплоида.

Решение:

Ответ:

Задача 3.* При гибридизации трех видов хлопчатника получены следующие результаты:

Скрещивание	Конъюгация хромосом в профазе мейоза I
Вид 1 × вид 2	13 малых бивалентов + 13 больших унивалентов
Вид 1 × вид 3	13 больших бивалентов + 13 малых унивалентов
Вид 2 × вид 3	13 больших унивалентов + 13 малых унивалентов

Проанализируйте результаты и объясните эволюционное происхождение разных видов хлопчатника. Как можно подтвердить сделанные заключения?

Решение:

Ответ:

Оценка: _____ *Подпись:* _____ *Преподаватель:* _____

Замечания:

**ГУЗЕЛЬ ФАНИЛЕВНА ГАЛИКЕЕВА
ЭЛЬВИРА МАНСУРОВНА ГАЛИМОВА
СВЕТЛАНА ВИКТОРОВНА ЛЮБИНА**

**ГЕНЕТИКА
С ОСНОВАМИ СЕЛЕКЦИИ**

РАБОЧАЯ ТЕТРАДЬ

ПОЛОЖЕНИЕ
О ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЕ
ПО ДИСЦИПЛИНАМ КАФЕДРЫ БИОЭКОЛОГИИ И
БИОЛОГИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ или ГЕНЕТИКИ И ХИМИИ
ЕСТЕСТВЕННО-ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА
ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. АКУМЛЛЫ»

Данное положение разработано в соответствии с Постановлением Правительства РФ от 5 апреля 2001 г. № 264 «Об утверждении Типового положения об образовательном учреждении высшего образования (высшем учебном заведении) Российской Федерации» и Уставом ФГБОУ ВО «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы» 2011 г.

Согласно п. 37 Постановления Правительства РФ «Об утверждении Типового положения об образовательном учреждении высшего образования (высшем учебном заведении) Российской Федерации» учебные занятия в высшем учебном заведении проводятся в виде лекций, консультаций, семинаров, практических занятий, лабораторных работ, контрольных работ, коллоквиумов, самостоятельных работ, научно-исследовательской работы, практики, курсового проектирования (курсовой работы), а также путем выполнения **квалификационной работы** (дипломного проекта или работы, **магистерской диссертации**). То же гласит п. 3.10 раздела III Устава БГПУ им. М. Акмуллы. Выпускные квалификационные работы (ВКР) рассматриваются как вид исследовательской работы и выполняются внеаудиторно.

Характеристика работы

ВКР представляет собой законченный научный труд, содержащий результаты теоретического и эмпирического изучения проблемы. Она выполняется на заключительном этапе обучения, представляет собой самостоятельную научно-исследовательскую разработку и решение выпускником актуальной проблемы по интересующей его теме. ВКР является закономерным итогом целенаправленной подготовки студента к профессиональной деятельности и должна отражать уровень сформированности исследовательских умений выпускника, степень его готовности к решению профессиональных задач.

Защита выпускной квалификационной работы (ВКР) является формой государственной итоговой аттестации для выпускников бакалавриата и магистратуры.

Защита ВКР осуществляется на заседании Государственной экзаменационной комиссии. По ее результатам выставляется оценка.

Цель ВКР:

1) систематизация и углубление теоретических знаний в области филологического образования, а также практических умений и навыков

применения их при решении конкретных задач;

2) совершенствование и закрепление сформированных в процессе обучения умений и навыков научно-исследовательской работы, приобретение самостоятельного опыта научного исследования;

3) овладение методикой исследования, обобщение и логически обоснованное, аргументированное описание полученных результатов и выявленных закономерностей, а также подготовка на их основе необходимых выводов.

Тематика ВКР разрабатывается кафедрами, принимающими участие в реализации основной образовательной программы подготовки бакалавра, и утверждается Советом института.

Тема ВКР определяется в конце 7 семестра. Тема ВКР должна быть посвящена актуальным с точки зрения современной науки вопросам и сформулирована таким образом, чтобы в ней максимально конкретно отражалась основная идея работы и центральная проблема. Содержание ВКР должно соответствовать проблематике дисциплин предметной подготовки в соответствии с ФГОС ВО. Название работы не должно совпадать с научным направлением или целым разделом учебника.

После выбора темы студент подает заявление на имя заведующего профилирующей кафедрой с просьбой разрешить написание ВКР. Для подготовки ВКР каждому студенту назначается руководитель из числа ведущих преподавателей кафедр. Закрепление темы, научного руководителя оформляется по предложению кафедры, на основании которого издается соответствующий приказ ректора.

Руководитель ВКР выдает студенту задание на выполнение работы, оказывает помощь в разработке календарного графика ее выполнения, рекомендует основную литературу и другие источники по теме исследования, проводит систематические консультации, проверяет выполнение работы (по частям и в целом), оформляет отзыв о ВКР. Задание на ВКР считается рабочим документом кафедры, предназначенным для текущего контроля хода выполнения работы. Сроки выполнения ВКР определяются учебным планом и графиком учебного процесса в соответствии с требованиями ФГОС ВО.

Требования к содержанию, объему и структуре выпускной квалификационной работы

Требования к содержанию, объему и структуре ВКР бакалавра определяются на основании Федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки и рекомендаций по оформлению ВКР БГПУ им. М. Акмуллы.

В ходе подготовки и защиты ВКР студент должен продемонстрировать:

- способность использовать научно-понятийный аппарат лингвистики для решения научно-исследовательских и профессиональных задач;
- владение основными методами научного исследования,

информационной и библиографической культурой;

- владение стандартными методиками поиска, анализа и обработки материала исследования с привлечением современных информационных технологий;

- способность оценить качество исследования в данной предметной области, соотнести новую информацию с уже имеющейся, логично и последовательно.

- умение представить результаты собственного исследования.

ВКР имеет определенную структуру, она состоит из нескольких взаимосвязанных частей, из которых обязательными являются следующие:

- титульный лист;
- содержание;
- введение;
- основная часть;
- заключение;
- список использованной литературы.

1. Титульный лист оформляется по образцу (образцы документов представлены в методических рекомендациях по написанию и оформлению ВКР).

2. В содержании приводятся заголовки всех разделов выпускной квалификационной работы и указываются страницы, с которых они начинаются. Заголовки оглавления должны быть тождественны заголовкам в тексте работы. Заголовки начинаются с прописной буквы без точки в конце.

3. Основная функция введения – дать общее представление о ВКР и помочь читателю понять замысел проведенного исследования. Оно включает в себя следующие пункты:

- актуальность исследования;
- цель и задачи исследования;
- научная новизна исследования;
- практическая значимость исследования;
- апробация результатов исследования;
- структура работы.

Объем введения обычно составляет 3-4 страницы.

4. Основная часть, как правило, содержит четыре главы. В теоретической части работы описывается отражение исследуемой проблемы в научной литературе. Это может быть история вопроса или критический обзор научной литературы, включающий современный этап в изучении данной проблематики. На основании рассмотренных точек зрения автор работы должен сформулировать свою позицию по данному вопросу и описать непосредственный объект изучения. Эта часть работы является необходимой теоретической базой для дальнейшего практического анализа.

Во второй главе приводятся материалы и методы исследования, используемые при выполнении экспериментальной части работы.

В практической части представлен анализ фактического

экспериментального материала.

В заключительной части работы приводятся материалы по внедрению результатов ВКР в школьный курс биологии. Тут приводятся методические разработки урока/внеклассного мероприятия по тематике ВКР.

5. В заключении должны быть подведены итоги проделанной работы. Объем заключения должен быть не менее 2 страниц. Далее следуют выводы, сформулированные в соответствии с целями работы.

6. Список использованной литературы должен включать не менее 50 названий. Он составляется в алфавитном порядке, иностранные источники даются после отечественных. Каждый источник должен иметь полное библиографическое описание и получать отражение в тексте квалификационной работе. Словари и справочники оформляются отдельным списком.

7. Приложение содержит таблицы количественных данных, стандартных показателей, методические материалы, иллюстративный материал: графики, схемы, диаграммы, фотографии. Оно помещается после списка использованной литературы, включается в общий объем ВКР, но не является обязательной ее частью. В ВКР может быть несколько приложений. В этом случае каждое приложение имеет свой номер и заголовок.

Порядок защиты выпускной квалификационной работы

Завершенная и оформленная в соответствии с требованиями ВКР передается на электронном и бумажном носителях научному руководителю, который дает отзыв о работе (см. образцы документов в методических рекомендациях по написанию и оформлению ВКР). При предоставлении текста работы он подвергается проверке на долю оригинальности текста по системе «Антиплагиат». Работа, сданная на кафедру и прошедшая процедуру проверки на «Антиплагиат», выносится на рассмотрение на заседание кафедры.

Процедуре защиты ВКР предшествует предзащита на заседании кафедры, по результатам которой осуществляется допуск выпускника к защите. В соответствии с решением кафедры студент получает допуск к защите ВКР – заключение кафедры (см. образцы документов в методических рекомендациях по написанию и оформлению ВКР). Лица, не прошедшие предзащиту, а также не прошедшие проверку на «Антиплагиат», к заседанию государственной экзаменационной комиссии допускаются с отрицательным заключением.

Выпускные квалификационные работы студентов подлежат обязательному рецензированию. Рецензия на ВКР может быть дана преподавателями смежных кафедр из числа кандидатов и докторов наук, а также представителями других образовательных учреждений или учреждений работодателя (см. образцы документов в методических рекомендациях по написанию и оформлению ВКР). Получение отрицательного отзыва не является препятствием к представлению ВКР на защиту.

В государственную экзаменационную комиссию по защите ВКР до

начала защиты представляются следующие документы: ВКР в одном экземпляре;

- заключение кафедры;
- отзыв научного руководителя о ВКР;
- рецензия на ВКР.

Защита ВКР проводится в установленное время на заседании Государственной экзаменационной комиссии (ГЭК). Защита является открытой, на ней, кроме членов ГЭК, могут присутствовать научный руководитель, рецензент и все желающие.

Процедура защиты включает следующие этапы:

1) представление председателем комиссии студента – автора ВКР, темы работы, научного руководителя и рецензента и предоставление автору слова для выступления;

2) выступление автора ВКР с изложением основных положений работы и результатов проведенного исследования, оно должно быть не более 10 минут;

3) после выступления студента члены комиссии, а также присутствующие могут задать вопросы по содержанию ВКР, для подготовки ответов на вопросы студенту дается время и разрешается пользоваться своей работой;

4) отзыв научного руководителя, в котором дается характеристика студента и процесса его работы над ВКР;

5) ознакомление с рецензией на ВКР, в которой содержится характеристика работы, замечания и рекомендуемая оценка;

6) ответы студента на замечания рецензента;

7) свободная дискуссия по защищаемой ВКР;

8) заключительное слово студента.

Общая продолжительность защиты ВКР составляет 0,5 часа.

Решение об итоговой оценке ВКР принимается по завершении защиты всех студентов на закрытой части заседания комиссии.

После принятия решения председатель комиссии объявляет оценки студентам на открытой части заседания.

При положительной оценке успешная защита ВКР означает присвоение автору квалификации «бакалавр».

Выпускная квалификационная работа хранится на кафедре, на которой выполнялась, в течение 5 лет.

Критерии оценивания выпускной квалификационной работы

Оценка сформированности компетенций студента на защите ВКР представляет собой среднее арифметическое оценок, полученных выпускником на процедуре защиты с учетом среднеарифметической оценки сформированности компетенций по всем видам деятельности, и определяется оценками «отлично», «хорошо», «удовлетворительно» «неудовлетворительно».

Студент может претендовать на положительную оценку ВКР при доле авторского текста не менее 70%.

Оценка выставляется по пятибалльной системе с учетом:

- текста выпускной квалификационной работы, объема литературы, количества проанализированного фактического материала, глубины и результативности анализа, умения сформулировать основные положения;
- умения излагать содержание работы при защите, степени владения материалом, умения вести дискуссию по теме;
- мнения научного руководителя и рекомендации рецензента;
- оценки уровня сформированности компетенций, вынесенных на процедуру защиты ВКР;
- среднеарифметической оценки сформированности компетенций по результатам промежуточной аттестации.

Общие подходы к определению уровня сформированности компетенций студентов на защите ВКР изложены в разделе «Компетенции выпускника и формы проверки их сформированности в рамках процедуры государственной итоговой аттестации» в Программы Государственной итоговой аттестации. При проведении процедуры защиты ВКР следует опираться также на дополнительные критерии оценок:

«Отлично» – выпускная квалификационная работа написана на актуальную тему и отражает творческую самостоятельность автора, умение применять теоретические знания при анализе материала; содержит оригинальные наблюдения; правильно оформлена; доклад студента и его ответы на поставленные вопросы являются исчерпывающими и содержательными; работа высоко оценивается рецензентом.

«Хорошо» – выпускная квалификационная работа отражает хороший уровень теоретических знаний выпускника и умение исследовать практический материал, но при этом в работе имеются отдельные недочеты; доклад студента и его ответы на поставленные вопросы являются недостаточно полными и убедительными; работа хорошо оценивается рецензентом.

«Удовлетворительно» – выпускная квалификационная работа содержит недочеты в оформлении текста; имеются замечания членов комиссии по теоретической или исследовательской главе; доклад и ответы студента на вопросы являются неполными и схематичными нарушают логику изложения; работа удовлетворительно оценивается рецензентом.

«Неудовлетворительно» – выставляется при доле авторского текста менее 70 % (для студентов ОЗО менее 50%), а также выпускная квалификационная работа содержит серьезные недочеты в содержании и оформлении текста; доклад студента является неполным и нарушает логику изложения; ответы на вопросы отсутствуют либо даются не по существу; работа отрицательно оценивается рецензентом и кафедрой.

Требования к оформлению выпускной квалификационной работы

Выпускная квалификационная работа представляется в твердом переплете. Текст должен быть набран на компьютере и отпечатан на одной

стороне стандартных листов белой бумаги формата А4 (210x297 мм). Объем выпускной квалификационной работы составляет не менее 50 страниц текста без приложения.

Текст набирается в редакторе MSWord. При наборе используется гарнитура шрифта Times New Roman. Размер основного шрифта – 14 пт, вспомогательного (для сносок и таблиц) – 12 пт, межстрочный интервал – 1,5. Поля: левое – 30 мм; правое – 10 мм; верхнее и нижнее – 20 мм. Абзацный отступ – 1,25 см. Названия разделов, глав, параграфов должны быть по возможности краткими. Выравнивание текста по ширине, без переносов.

Все страницы имеют сквозную нумерацию, включая иллюстрации и приложение, нумеруются по порядку от титульного листа до последней страницы. Титульный лист и содержание включаются в общую нумерацию, но номера страниц на них не проставляются, т.е. нумерация начинается с цифры 3 (как правило, это начало введения). Страницы нумеруются арабскими цифрами. Номера страниц проставляются внизу в центре страницы без точки в конце (Меню – Вставка – Номер страницы).

Материал работы формируется в одном файле MS Word.

Наименования разделов (введение, содержание, главы, заключение, список использованной литературы, список словарей и справочников, приложение) печатаются в виде заголовков первого уровня и располагаются в середине строки без отступа. Подчеркивание, перенос слов, а также отрыв предлога или союза от относящегося к нему слова в заголовках не допускается. Во избежание смещения начала главы рекомендуется перед заголовком ставить разрыв страницы (в меню Вставка – Разрыв – Новая страница).

Текст набирается с соблюдением следующих правил:

- 1) абзацы формируются через команду Формат – Абзац;
- 2) слова разделяются только одним пробелом;
- 3) перед знаком препинания пробелы не ставятся, после знака препинания ставится один пробел;
- 4) при наборе должны различаться тире как пунктуационный знак (длинная черточка) и дефис как орфографический знак (короткая черточка). Тире отделяется пробелами (кроме числовых промежутков), а дефис нет;
- 5) при наборе имен собственных после инициалов перед фамилией, внутри сокращений, перед сокращением г. (указанием года) и т.п. ставится неразрывный пробел (Shift-Ctrl-пробел), для того чтобы не разрывать цельность написания, например: А.С. Пушкин, 1998 г., т. д., т. е.;
- 6) точка в конце заголовка не ставится; рекомендуется смысловое деление заголовка по строкам;
- 7) таблицы набираются кеглем 12 и помещаются в основной текст;
- 8) каждая структурная часть ВКР (введение, содержание, главы, заключение, список использованной литературы, приложение, методическое приложение) начинается с новой страницы;
- 9) при трехуровневой рубрикации (главы – параграфы – пункты) заголовки первого уровня (введение, содержание, названия глав, заключение,

список использованной литературы, приложения) набираются прописными полужирными буквами (шрифт 14), заголовки второго уровня (названия параграфов) – строчными полужирными буквами (шрифт 14), заголовки третьего уровня (названия пунктов параграфа) – строчными обычными буквами (шрифт 14). При двухуровневой рубрикации заголовки первого уровня (см. выше) набираются прописными полужирными буквами (шрифт 14), заголовки второго уровня (названия параграфов) – строчными полужирными буквами (шрифт 14). Выравнивание заголовков – по центру, без отступа. Нумеровать главы следует римскими цифрами (I, II), параграфы и пункты в параграфах – арабскими цифрами (2.1., 2.1.1.). Интервал между заголовками всех уровней и текстом – 2.

Примеры оформления заголовков:

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Молекулярные методы исследования

2.1.1. Методы выделения ДНК

Не допускается:

- формирование отступов с помощью пробелов;
- дополнительные интервалы между абзацами в основном тексте;
- перенос слов (как автоматический, так и принудительный);
- внутритекстовые выделения прописными буквами.

Ссылки в тексте на источники. При написании ВКР студент должен делать ссылки на источники (книги, статьи, архивные материалы, электронные ресурсы и т.п.), используемые (а также упоминаемые) в тексте, из которых он заимствует материалы (точку зрения на проблему, цифровые данные и др.), цитирует отдельные положения. Ссылка приводится после упоминания автора анализируемой работы или приведения данных из источника и оформляется в квадратных скобках с указанием номера источника в списке литературы, а при цитировании – с указанием номера источника в списке литературы и страницы.

Таблицы в тексте. Таблицей называют цифровой и текстовой материал, сгруппированный в определенном порядке в горизонтальные строки и вертикальные графы (столбцы), разделенные линейками. Верхнюю часть таблицы называют головкой (чаще употребляют слово “шапка”), левую графу – боковиком.

Таблицы печатают при их первом упоминании. Небольшие таблицы следуют за абзацем, в котором была ссылка на них, таблицы, занимающие больше половины страницы, – на следующей отдельной странице (страницах). Все таблицы в тексте должны быть пронумерованы. Порядковая нумерация таблиц должна быть сквозной. Ссылки в тексте на таблицы дают в сокращенном виде, например: **табл. 1**, **табл. 5**. Над таблицей в правом верхнем углу обычным шрифтом пишут полностью: **Таблица 3**, а по центру – ее

название (строчным полужирным), на последующих страницах – **Продолжение табл. 3**, на последней – **Окончание табл. 3**. Для таблиц допускается размер шрифта – 12 пт, межстрочный интервал – 1.

Пример оформления таблицы:

Таблица 3

Последовательность праймеров

Название гена (тип полиморфизма)	Последовательность праймеров

Если таблица в работе всего одна, ее не нумеруют и слово **Таблица** над ней не пишут: читатель и так видит, что перед ним таблица.

Сокращения слов в таблицах, кроме общепринятых, не допускаются. В головках таблиц и в боковике текст печатают горизонтально. Таблицы должны быть обязательно разлинованы по вертикали.

Список использованной литературы – обязательный элемент любой исследовательской работы. В него следует включать все использованные студентом научные труды, на которые имеются ссылки в тексте работы, сначала все издания на русском языке, затем – на иностранном. Оформление списка использованной литературы должно быть единообразным. Список использованной литературы помещается после **Заключения** перед **Приложением**.

Примеры библиографических записей:

Книги одного автора:

Белова Е. И. Основы нейрофармакологии. М.: Аспект Пресс, 2006. – 176 с.

Книги двух авторов:

Гусев С.С., Тульчинский Г.Л. Современные проблемы естествознания. – М.: Политиздат, 1985. – 192 с.

Книги трех и более авторов:

Баранов А.Н. и др. Путеводитель Генетические основы спорта / А.Н. Баранов, В.А. Иванов, Е.В.Семенов. – М., 1993. – 270 с.

Книги под общей редакцией:

Современный русский язык: Теория. Анализ языковых единиц: Учебник для студ. вузов. В 2 ч. Ч. 2. Морфология. Синтаксис / Под ред. Е.И. Дибровой. – М.: Академия, 2002. – 704 с.

Статьи из журналов:

Голимбет В.Е. Молекулярно-генетические исследования познавательных нарушений при шизофрении // Молекулярная биология. – 2008. – Т. 42. – № 5. – С. 830–839.

Диссертации, авторефераты диссертаций:

Гумерова О.В. Генетическая обусловленность показателей интеллектуальной деятельности человека: Дис. канд.биол. наук. – Уфа, 2007. – 32с.

Переводные издания:

Джойс Д. Улисс: Роман / Пер. с англ. В. Хинкиса, С. Хоружего. – М.: Республика, 1993. – 671 с.

Словари, справочники:

Большой энциклопедический словарь / Гл. ред. В.Н. Ярцева. – М.: Сов. энциклопедия, 1999. – 682 с.

Электронные ресурсы:

Школьный мир: энциклопедии [Электронный ресурс]. – <http://school.holm.ru/enciclopedia>.

Единое окно доступа к образовательным ресурсам: портал [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://window.edu.ru>. Дата обращения: 01.09.2009.

Составители:

К.б.н., доцент кафедры генетики и химии Галикеева Г.Ф.

К.б.н., доцент кафедры биоэкологии и биологического образования Сафиуллина Л.М.

ПРИЛОЖЕНИЕ

ОБРАЗЦЫ ОФОРМЛЕНИЯ ДОКУМЕНТОВ

МИНПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М. АКМУЛЛЫ»

КАФЕДРА _____

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заведующего кафедрой _____

фамилия, имя, отчество зав. кафедрой

Квалификационная выпускная работа студента _____

фамилия, имя, отчество студента

выполненная на тему _____

_____, В

объеме _____ стр., с приложением _____ стр.

соответствует установленным требованиям и допускается кафедрой к защите.

Заведующий кафедрой _____

« ____ » _____ 20 ____ г.

МИНПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М. АКМУЛЛЫ»

КАФЕДРА _____

ОТЗЫВ РУКОВОДИТЕЛЯ

о работе студента _____,
выполненной на тему

1. Актуальность работы

2. Оценка содержания работы

3. Положительные стороны работы _____

4.Замечания _____

5. Рекомендации по внедрению результатов работы _____

6. Рекомендация к защите _____

7. Дополнительная информация для ГАК _____

Руководитель _____

подпись фамилия, имя, отчество

ученая степень, звание, должность, место работы

« ____ » _____ 20__ г.

МИНПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М. АКМУЛЛЫ»
ЕСТЕСТВЕННО-ГЕОГРАФИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра генетики и химии
Направление 06.03.01 Биология
Профиль «Биоэкология/Генетика»
Курс 4 (ОДО)

ИВАНОВА МАРИНА АЛЬБЕРТОВНА

**ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДЕТЕРМИНАЦИИ
ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАБОЧЕЙ ПАМЯТИ ЧЕЛОВЕКА**

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Научный руководитель:
к.б.н., доц. Э.М.Галимова

Дата представления _____

Работа допущена к защите _____
дата и подпись заведующего кафедрой
Дата защиты _____
Оценка _____

УФА 2020

Р Е Ц Е Н З И Я

на выпускную квалификационную работу студента
Естественно-географического факультета

фамилия, имя, отчество студента в род. падеже
Башкирского государственного педагогического университета
им. М. Акмуллы, выполненную на
тему: _____

1. Актуальность и новизна исследования

Оценка содержания работы

3. Отличительные положительные стороны работы

4. Практическое значение и рекомендации по внедрению

5. Недостатки и замечания по работе

6. Рекомендуемая оценка

Рецензент

подпись, фамилия, имя, отчество

ученая степень, звание, должность, место работы

А Н Н О Т А Ц И Я

Тема:

Автор работы:

Научный руководитель:

фамилия, имя, отчество, должность, ученая степень, звание, место работы

Примерная структура аннотации

- актуальность работы;
- цели и задачи исследования;
- объект и предмет исследования;
- материал исследования;
- методы исследования;
- научная новизна исследования;
- практическая значимость исследования;
- структура работы;
- результаты исследования (основные выводы).

Аннотация состоит из 1-3 полных страниц компьютерного текста формата А4, поля сверху и снизу – 2 см, слева – 3 см, справа – 1 см, шрифт Times New Roman, кегль 14, межстрочный интервал одинарный.

Заведующему кафедрой генетики
БГПУ им. М. Акмуллы
проф., д.б.н. В.Ю. Горбуновой
студента(ки) 4 курса ОДО ЕГФ,
направления 06.03.01
Биология
направленности (профиля)
«Генетика»

(Ф И.О.)

ЗАЯВЛЕНИЕ.

Прошу закрепить за мной выпускную квалификационную работу на
тему: _____

(полное рабочее название темы)

Научный руководитель: _____
(фамилия, имя, отчество, должность, ученая степень, ученое звание)

Научный руководитель: _____ «Согласен»
(подпись)

Дата: _____

Подпись студента _____
(подпись)

Дата: _____

Решение кафедры:

(утвердить, отклонить, доработать)

Зав. кафедрой _____
(подпись)

Дата: _____

Протокол № _____

**ПОЛОЖЕНИЕ О КУРСОВЫХ РАБОТАХ
ПО ДИСЦИПЛИНАМ КАФЕДРЫ БИОКОЛОГИИ И
БИОЛОГИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ или ГЕНЕТИКИ И ХИМИИ
ЕСТЕСТВЕННО-ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА
ФГБОУ ВО «БГПУ ИМ. М. АКУМЛЛЫ»**

**1. Специфика курсовой работы как вида учебной деятельности.
Цели курсовой работы и ее место в образовательном процессе.**

Данное положение разработано в соответствии с Постановлением Правительства РФ от 5 апреля 2001 г. № 264 «Об утверждении Типового положения об образовательном учреждении высшего образования (высшем учебном заведении) Российской Федерации» и Уставом ФГБОУ ВО «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы» 2011 г.

Согласно п. 37 Постановления Правительства РФ «Об утверждении Типового положения об образовательном учреждении высшего образования (высшем учебном заведении) Российской Федерации» учебные занятия в высшем учебном заведении проводятся в виде лекций, консультаций, семинаров, практических занятий, лабораторных работ, контрольных работ, коллоквиумов, самостоятельных работ, научно-исследовательской работы, практики, **курсового проектирования (курсовой работы)**, а также путем выполнения квалификационной работы (дипломного проекта или работы, магистерской диссертации). То же гласит п. 3.10 раздела III Устава БГПУ им. М. Акмуллы. Курсовые работы (проекты) рассматриваются как вид учебной работы по дисциплине и выполняются в пределах часов, отводимых на ее изучение.

Нормативные акты, регулирующие образовательный процесс в высшей школе, предоставляют факультетам и кафедрам вузов значительную свободу и самостоятельность в выборе тематики курсовой работы, ее характера (реферативного, практического или экспериментального), объема, организации ее выполнения и защиты, критериев оценки. Курсовая работа по дисциплине выполняется в сроки, определенные федеральным учебным планом по специальности и рабочим учебным планом университета. Аттестация студента по курсовой работе приравнивается к зачету, формы сдачи которого могут варьироваться в зависимости от решения кафедры и научного руководителя. За курсовую работу выставляется оценка по пятибалльной системе.

Курсовая работа – более сложный, чем реферат, вид самостоятельной письменной работы, направленный на творческое освоение общепрофессиональных и профильных профессиональных дисциплин (модулей) и выработку соответствующих профессиональных компетенций. При написании курсовой работы студент должен полностью раскрыть выбранную тему, соблюсти логику изложения материала, показать умение делать обобщения и выводы.

Организация выполнения курсовых работ на кафедрах осуществляется со

следующими целями:

1) закрепление и систематизация полученных студентами теоретических знаний по общепрофессиональным и специальным дисциплинам, углубление теоретических знаний в соответствии с выбранной темой;

2) выработка у студентов следующих умений, навыков и компетенций:

а) работа с научной, критической, справочной, энциклопедической литературой, каталогами и реферативными изданиями, информационными ресурсами сети Интернет;

б) сбор и систематизация практического материала;

г) самостоятельное осмысление проблемы на основе существующих методик;

д) логичное и грамотное изложение собственных умозаключений и выводов;

е) корректное цитирование или описание идей и результатов исследования других авторов;

ж) соблюдение формы научного исследования;

з) содержательная презентация выполненной работы;

и) выступление с докладом по избранной теме, ответы на вопросы по содержанию работы, ведение научной дискуссии;

3) развитие творческой инициативы, самостоятельности, ответственности и организованности;

4) стимулирование научно-исследовательской работы студентов, развитие их способности осуществлять исследование во взаимодействии с научным руководителем, в коллективе студентов (кружке, проблемной группе), выступать с сообщениями на научных конференциях, фестивалях, конкурсах, готовить научные публикации, приобщение студентов к научно-исследовательской работе кафедры;

5) подготовка к государственной итоговой аттестации в форме выпускной квалификационной работы.

2. Место курсовых работ по дисциплинам кафедры генетики и химии в учебном плане

В соответствии с учебным планом студенты направления 06.03.01 Биология профиля «Генетика» выполняют 2 курсовые работы: курсовые работы по дисциплинам «Современные методы в биологии» (во 2 семестре) и «Генетический анализ» (в 5 семестре).

Студенты могут выбирать тему и научного руководителя из числа преподавателей кафедр, реализующих данную ОПОП. Выбор производится по желанию студента, но подчиняется ограничениям, связанным с учетом количества часов, отведенного на руководство курсовыми работами в учебной нагрузке конкретного преподавателя, и количества тем, предложенных преподавателем студентам.

Студент должен выполнить и представить научному руководителю окончательный текст курсовой работы до середины мая и в случае, если такового будет решение кафедры или требование научного руководителя, осуществить

публичную защиту курсовой работы до начала зачетной недели (не позднее конца мая).

Аттестация студента по курсовой работе производится в виде дифференцированного зачета, проставляемого в единую зачетно-экзаменационную ведомость.

Курсовая работа, оцененная неудовлетворительной оценкой, перерабатывается и возвращается на проверку научному руководителю.

Если курсовая работа не зачтена до окончания экзаменационной сессии, незачет по ней рассматривается как обычная академическая задолженность студента со всеми вытекающими административными последствиями. Задолженность по курсовой работе ликвидируется в установленном порядке.

3. Разработка и выбор тем курсовых работ.

Преподаватели кафедр обязаны представить студентам списки тем курсовых работ. Темы обсуждаются и утверждаются на заседаниях кафедр. Список тем курсовых работ должен быть размещен на странице кафедры, а также должен быть в наличии на кафедрах для предъявления студентам.

Темы курсовых работ должны соответствовать примерной тематике курсовых работ в рабочих программах учебных дисциплин по соответствующим дисциплинам.

При разработке тематики курсовых работ преподаватель должен учитывать ряд факторов:

1) тема курсовой работы предполагает ее реферативный, практический (связанный преимущественно с самостоятельным анализом литературы по теме исследования) или экспериментальный характер;

2) тема курсовой работы должна быть актуальной, соответствовать современному состоянию развития науки, предполагать практическую значимость работы и (или) полезность ее в плане закрепления и углубления теоретических знаний по профильным дисциплинам, уже полученных студентами на аудиторных занятиях;

3) желательно, чтобы тема курсовой работы предполагала элемент исследовательской деятельности. Поэтому преподаватели должны по возможности предусматривать написание студентами работ по новым научным направлениям, по вопросам, недостаточно изученным или являющимся предметом дискуссии в научном мире;

4) целесообразно брать достаточно узкие и конкретные темы.

Тема курсовой работы может быть предложена самим студентом при условии обоснования им ее целесообразности и при согласии научного руководителя.

Не допускается выполнение нескольких курсовых работ на одну тему, в том числе под руководством разных преподавателей или в разные учебные годы.

Научный руководитель и студент должны ознакомиться с курсовыми и выпускными квалификационными работами, а также проведенными на кафедрах и в науке в целом исследованиями по данной или близкой тематике.

4. Организация выполнения курсовых работ.

Общее руководство курсовой работой и контроль за ходом ее выполнения осуществляет научный руководитель, который назначается из числа преподавателей соответствующей дисциплины.

На время выполнения курсовой работы составляется расписание консультаций, утверждаемое заведующим кафедрой. Консультации проводятся за счет объема времени, отведенного в рабочем учебном плане на руководство курсовыми работами.

В ходе консультаций преподавателем разъясняются назначение и задачи, структура и объем, принципы разработки и оформления, примерное распределение времени на выполнение отдельных частей курсовой работы, даются ответы на вопросы студентов.

Приблизительный порядок выполнения курсовой работы следующий:

1. Выбор и осмысление темы. Определение цели, задач, объекта, предмета, материала и методов исследования.
2. Составление плана курсовой работы.
3. Составление списка научной литературы и изучение ее (работа с экспериментальными и обзорными статьями по теме).
4. Обобщение теоретической литературы, формирование своей точки зрения на проблему. Написание теоретической части работы.
5. Сбор материала, проведение эксперимента.
6. Анализ и обобщение фактических данных. Написание практической части работы.
7. Написание введения и заключения к работе.
8. Проверка и доработка курсовой работы.
9. Оформление курсовой работы.

Основными функциями руководителя курсовой работы являются: консультирование по вопросам содержания и последовательности выполнения курсовой работы;

оказание помощи студенту в подборе необходимой литературы;

контроль за ходом выполнения курсовой работы;

подготовка оценочного листа по курсовой работе.

По завершении студентом курсовой работы руководитель проверяет, оценивает, подписывает ее.

5. Требования к содержанию и оформлению курсовой работы.

Объем курсовой работы 20-30 страниц

Количество источников в списке литературы не менее 15.

Курсовая работа представляет собой логически стройный, заверченный текст, полностью раскрывающий избранную тему.

Курсовая работа должна включать введение, основную часть, заключение, список использованной литературы. Приложение к курсовой работе не является обязательным ее компонентом.

Во введении обосновывается актуальность темы, определяются цель и

задачи, объект, предмет, материал и методы исследования, обосновывается практическая значимость работы.

Основная часть разбивается на главы, главы при необходимости разбиваются на параграфы. Обычно теоретическая и практическая часть исследования представляют собой разные главы. Изложение результатов самостоятельно проведенного студентом исследования должно занимать не менее 1/2 объема работы.

В заключении делаются выводы, а также намечаются перспективы дальнейшего исследования данной проблемы.

Оформление курсовой работы должно соответствовать ГОСТам (ГОСТ 7.1. – 2003; 7.89 – 2005).

Текст курсовой работы набирается на компьютере в редакторе Word 6.0, 7.0 и след, печатается на одной стороне стандартного (А-4) листа белой бумаги, межстрочный интервал 1,5, размер шрифта Times New Roman 14, абзацный отступ 1,25 см, поля: верхнее – 2 см, нижнее – 2 см, левое – 3 см, правое – 1 см.

Титульный лист должен содержать следующую информацию:

наименование: Министерство просвещения РФ, ФБГОУ ВО «Башкирский государственный педагогический университет имени М. Акмуллы», Естественно-географический факультет, кафедра генетики

обозначение характера работы (курсовая);

наименование темы курсовой работы;

фамилия, имя, отчество студента;

название отделения и номер учебной группы;

фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание научного руководителя;

дата сдачи, оценка с подписью научного руководителя;

название города, в котором находится учебное заведение;

год написания работы (см. Приложение 1 – образец оформления титульного листа).

За титульным листом идет содержание. В нем даются названия глав и параграфов с указанием страниц. Оно печатается, как и остальной текст, через 1,5 интервала.

После основного текста работы размещается список использованной литературы. Он составляется в алфавитном порядке: по первой букве фамилии автора или названия публикации (коллективных монографий, сборников, справочников). В этом списке указываются все выходные данные: фамилия и инициалы автора, название публикации, место и год издания, год и номер журнала или серийного сборника. Статьи из Интернет-изданий включаются в основной список по фамилии автора с указанием Интернет-адреса. Публикации на иностранных языках помещаются после публикаций на русском языке. Отдельным списком оформляются использованные в работе словари и справочники. Список литературы оформляется согласно ГОСТу 7.1 – 2003 (см. Приложение 2). В список литературы включаются все использованные при подготовке курсовой работы источники, даже если в тексте курсовой работы

нет цитат из них, а имеются лишь упоминания об этих трудах.

После списка использованной литературы размещается приложение к работе (если оно есть).

Каждый структурный элемент работы (введение, главы, заключение, список использованной литературы) начинается с новой страницы. Страницы нумеруются арабскими цифрами с соблюдением сквозной нумерации по всему тексту. Номер страницы проставляется внизу посередине страницы. Титульный лист включается в общую нумерацию страниц, но номер страницы на нем не проставляется. Приложения (если они есть) включаются в общий объем страниц основной части курсовой работы и нумеруются соответствующим образом.

Цитаты приводятся в кавычках, ссылки отсылают к списку использованной литературы и даются в квадратных скобках: [<номер источника в библиографии>, <номер страницы>].

Таблицы, схемы, иллюстрации приводятся в свободной форме непосредственно после текста, в котором они упоминаются впервые. На все таблицы, схемы, иллюстрации должны быть ссылки в работе. Таблицы, схемы, иллюстрации должны быть пронумерованы (нумерация сквозная по всему тексту курсовой работы) и иметь заголовки.

6. Формы аттестации студентов по курсовой работе.

Научный руководитель осуществляет проверку, прием, дает отзыв и оценку курсовой работы вне расписания учебных занятий.

По решению кафедры или научного руководителя возможна защита курсовых работ. Курсовые работы могут выноситься на защиту все без исключения или выборочно.

На защите курсовой работы в обязательном порядке присутствуют автор работы, специальная комиссия (не менее 2-3 человек, включая научного руководителя), назначенная кафедрой, а также по желанию могут присутствовать студенты, преподаватели кафедры, представители директората.

Курсовая работа допускается к защите при условии законченного ее оформления и допуска научного руководителя.

Защита курсовой работы включает в себя следующие этапы:

1) доклад студента (не более 12 минут), в котором в сжатом виде определяется актуальность темы, дается характеристика использованных источников, раскрывается структура работы и основное содержание излагаемых вопросов, а также сообщаются выводы, к которым пришел автор;

2) выступление руководителя работы с кратким отзывом;

3) ответы студента на вопросы всех желающих, касающиеся содержания работы и процесса ее написания.

Проанализировав содержание работы, а также доклад и ответы студента на заданные вопросы, члены комиссии выставляют ему оценку по пятибалльной системе. Оценки курсовой работы записываются в зачетную ведомость и в зачетную книжку за подписью руководителя.

7. Критерии оценки курсовой работы.

Критерии	Оценка			
	отлично	хорошо	удовлетворительно	неудовлетворительно
Объем работы, количество научных публикаций в списке использованной литературы.	Не менее 30 страниц, не менее 25 публикаций.	Не менее 25 страниц, не менее 20 публикаций.	Не менее 20 страниц, не менее 15 публикаций.	Менее 20 страниц, менее 15 публикаций.
Содержание работы.	Тема полностью раскрыта, рассмотрены основные теоретические и практические достижения в избранной области исследования, на достаточно представительном фактическом материале сделаны самостоятельные выводы. Допускаются 1-3 негрубые фактические ошибки.	Тема в основном раскрыта, рассмотрены основные теоретические и практические достижения в избранной области исследования, сделаны самостоятельные выводы на основе анализа фактического материала. Допускаются немногочисленные фактические ошибки.	Тема раскрыта неполно, или есть отступления от темы. Рассмотрены отдельные достижения в избранной области исследования. Самостоятельное практическое исследование представлено слабо или вообще не представлено. Есть серьезные фактические ошибки.	Тема не раскрыта, или содержание работы не соответствует заявленной теме. Нет анализа проделанной учеными работы в данной области. Нет практической части работы, самостоятельного анализа фактического материала.
Логика работы.	Основные мысли излагаются логично, последовательно, непротиворечиво, структура работы соответствует требованиям (есть введение, заключение, содержание которых соответствует указанным выше требованиям, деление работы на главы и	Основные мысли излагаются логично, последовательно, непротиворечиво (допускаются негрубые логические ошибки или отклонения от темы), структура работы в целом соответствует требованиям (допускаются небольшие нарушения, ошибки, пропуски	Есть логические ошибки, нарушения в структуре работы.	Работа не представляет собой логически связного текста. Отсутствуют те или иные необходимые структурные элементы работы (введение, заключение, список использованной литературы, ссылки и под.).

	параграфы соответствует ее содержательному членению, главы и параграфы пропорциональны по объему).	в содержании введения, заключения, не вполне пропорциональные по объему главы и параграфы и т.п.)		
Оформление работы.	Работа оформлена в соответствии со всеми требованиями, сдана в срок, вычитана (в ней нет ошибок и опечаток).	Работа в основном оформлена в соответствии с требованиями, сдана в срок, допускаются отдельные ошибки и опечатки.	Не соблюдены некоторые правила оформления работы (не соответствующий требованиям размер шрифта, междустрочный интервал, поля, недочеты в оформлении титульного листа, списка использованной литературы и т.п.). Допущены существенные ошибки, опечатки.	Есть грубые нарушения правил оформления работы, многочисленные ошибки и опечатки. Работа не вычитана.
Ответы на вопросы.	Студент правильно отвечает на заданные вопросы. Его ответы демонстрируют хорошую ориентацию в избранной проблематике, в содержании своей работы, культуру речи, умение выступать публично. Допускаются негрубые фактические ошибки в ответах или признание своей неосведомленности по некоторым аспектам	Студент делает попытку ответить на заданные вопросы, но допускает фактические неточности. В основном он ориентируется в избранной проблематике и в содержании своей работы, хотя выявляются отдельные пробелы. Студент демонстрирует культуру речи, умение выступать публично.	Студент отвечает лишь на некоторые вопросы, допускает фактические ошибки. Он слабо ориентируется в избранной проблематике и в содержании своей работы. Студент недостаточно владеет культурой речи, не обладает достаточным опытом публичного выступления.	Студент не может ответить ни на один вопрос, не владеет основами культуры речи, не имеет опыта публичного выступления..

	рассматриваемой темы.			

8. Дальнейшее использование результатов курсовых работ.

Фрагменты лучших курсовых работ могут быть использованы в качестве научных докладов на внутривузовских и межвузовских студенческих научных конференциях. По материалам лучших курсовых работ могут быть подготовлены к публикации статьи под руководством преподавателя и изданы как в соавторстве с научным руководителем, так и самостоятельно (но в любом случае после консультации с руководителем и совместной доработки материалов для публикации).

Курсовая работа в целом или отдельные ее фрагменты могут стать основой и составной частью выпускной квалификационной работы студента.

Составители:

К.б.н., доцент кафедры генетики и химии Галикеева Г.Ф.

К.б.н., доцент кафедры биоэкологии и биологического образования Сафиуллина Л.М.

ПРИЛОЖЕНИЕ

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ТИТУЛЬНОГО ЛИСТА

МИНПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М. АКМУЛЛЫ»
ЕСТЕСТВЕННО-ГЕОГРАФИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра генетики и химии

Направление 06.03.01

Биология

Направленность (профиль)

«Биоэкология/Генетика»

Курс III (ОДО)

КУРСОВАЯ РАБОТА
ПО ДИСЦИПЛИНЕ «Геномика и транскриптомика»

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНА ACE

Потаповой Светланы Александровны

Научный руководитель:
к.б.н., доцент Э.М.Галимова

Дата представления _____

Оценка _____

Регистрационный номер _____

УФА 2020

ПРИЛОЖЕНИЕ 2.

ОБРАЗЦЫ БИБЛИОГРАФИЧЕСКОЙ ЗАПИСИ

Книги:

Без автора:

Генетика спорта / Под ред. В.И. Иванова, А.В. Андреева. – М.: Гнозис, 2007.

Один автор:

Новиков Л.А. Генетические основы интеллекта / Л.А. Новиков. – М.: Изд-во МГУ, 2003.

Два автора и более:

Попова З.Д. Очерки по истории развития генетики в России / З.Д. Попова, И.А. Стернин. – Воронеж: Истоки, 2001.

Статьи:

Кубрякова Е.С. Исследование предрасположенности к сахарному диабету в популяции русских // Медицинская генетика. – 1994. – № 4. – С. 34-47.

Интернет-издания:

Бычкова Л.С. Конструктивизм // Культурология 20 век – «К». – (<http://www.philosophy.ru/edu/ref/enc/k.htm> 1).

Работы на иностранных языках:

Wierzbicka A. Ethno-syntax and the philosophy of grammar. – Stud. Lang. – 1979. – Vol. 3. – № 3.

МИНПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М. АКМУЛЛЫ»

О.В. Гумерова, Г.Ф. Галикеева

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДРОЗОФИЛЫ

ПРАКТИКУМ

УФА 2020

УДК 571.1 (075.3)
ББК 28.04я73
Г34

*Печатается по разрешению учебно-методического совета Башкирского
государственного педагогического университета им. М. Акмуллы*

Генетический анализ дрозофилы: практикум / сост
О.В. Гумерова, Г.Ф. Галикеева. Уфа: Изд-во БГПУ, 2020. – 55 с.

Рецензенты:

Саттаров Венер Нуруллович, доктор биологических наук, профессор кафедры биоэкологии и биологического образования, декан естественно-географического факультета БГПУ им. М. Акмуллы;

Маркушева Татьяна Вячеславовна, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии ГБНУ Уфимский институт биохимии и генетики УФИЦ РАН.

В данном практикуме приведены теоретические сведения и методические указания для проведения лабораторных работ, в которых рассматриваются вопросы морфологии, разведения и генетического анализа признаков дрозофилы, по дисциплинам «Большой практикум по генетике» и «Генетический анализ» по направлению «Биология», профиль «Генетика».

Рекомендуется для студентов высших учебных заведений биологического и педагогического профилей, специалистов в области биологии и генетики, аспирантов биологических направлений.

ISBN

© О.В. Гумерова, Г.Ф. Галикеева

© Издательство БГПУ, 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
Тема 1. Морфология, биология и условия содержания дрозофилы	5
<i>Лабораторная работа № 1. Правила работы с дрозофилой</i>	10
<i>Лабораторная работа № 2. Приготовление питательной среды</i>	11
Тема 2. Мутантные формы дрозофилы	12
<i>Лабораторная работа № 3. Сравнительная характеристика мутантных линий Dr. Melanogaster</i>	15
<i>Лабораторная работа № 4. Приготовление фиксированных препаратов дрозофилы различных мутантных линий</i>	15
Тема 3. Генетический анализ моногибридного скрещивания	16
<i>Лабораторная работа № 5. Моногибридное скрещивание дрозофилы</i>	17
Комплект задач по теме «Генетический анализ моногибридного скрещивания»	20
Тема 4. Генетический анализ при взаимодействии неаллельных генов	21
<i>Лабораторная работа № 6. Комплементарное взаимодействие генов при формировании окраски глаз у дрозофилы</i>	24
Комплект задач по теме «Генетический анализ при взаимодействии неаллельных генов»	26
Тема 5. Генетический анализ дигибридного скрещивания	28
<i>Лабораторная работа № 7. Дигибридное скрещивание дрозофилы</i>	29
Комплект задач по теме «Генетический анализ дигибридного скрещивания»	32
Тема 6. Генетический анализ сцепленного наследования признаков	33
<i>Лабораторная работа № 8. Наследование мутаций black и vestigial</i>	34
Комплект задач по теме «Генетический анализ сцепленного наследования признаков»	37
Тема 7. Генетический анализ сцепленного с полом наследования признаков	39
<i>Лабораторная работа № 9. Наследование мутации white</i>	40
Комплект задач по теме «Генетический анализ сцепленного с полом наследования признаков»	42
Тема 8. Генетический анализ наследования нескольких признаков	44
<i>Лабораторная работа № 10. Тригибридное скрещивание дрозофилы</i>	44
Комплект задач по теме «Генетический анализ наследования нескольких признаков»	47
ЛИТЕРАТУРА	51
Приложение 1. Список наиболее используемых мутантных линий <i>Dr. Melanogaster</i>	52
Приложение 2. Таблица Фишера	53
Приложение 3. Генетическая карта <i>Dr. Melanogaster</i>	54

ВВЕДЕНИЕ

Дрозофила является одним из самых ценных для биологических исследований организмов. Целый ряд важнейших научных открытий был совершен при использовании мухи дрозофилы в качестве генетического объекта. В частности, работы Т. Моргана по разработке хромосомной теории наследственности, изучению генетики пола и сцепленного с полом наследования, также исследования по искусственному получению мутаций, вопросам природы гена, экспрессии гена, выяснение некоторых генетических механизмов эволюционных процессов и др. Муха дрозофила является чрезвычайно удобным объектом для генетических исследований. Она неприхотлива в содержании, исключительно плодовита, имеет короткий период развития от яйца до взрослого насекомого, обладает чётко выраженными морфологическими признаками, большим разнообразием мутационных рас с чётким фенотипическим проявлением и малым числом хромосом. Перечисленные качества и возможность проработки основных закономерностей наследственности в течение непродолжительного времени с низкими затратами на проведение опытов делают дрозофилу особенно популярным объектом для проведения лабораторных работ со студентами биологических направлений.

Данный лабораторный практикум включает 10 лабораторных работ, направленных на приобретение обучающимися практических навыков по идентификации различных мутантных линий мухи дрозофилы и использованию генетической номенклатуры, разведению объекта исследований в лабораторных условиях, постановке моно-, ди- и тригибридных скрещиваний, постановке скрещиваний и анализе потомства при сцепленном наследовании, наследовании признаков, сцепленных с X-хромосомой.

Проведение экспериментов с использованием данного руководства даёт возможность закрепить полученные в теоретическом курсе знания, а также приобрести навыки в постановке самостоятельных опытов по генетическому анализу признаков. В ходе выполнения генетических исследований студенты должны научиться планировать эксперимент. Планирование включает четкую постановку цели, выбор адекватных путей ее достижения, определение и выбор соответствующих статистических методов анализа результатов, учет деталей методики. В задачи лабораторного практикума также входит обучение студентов критической оценке и статистической обработке полученные результаты и правильному их оформлению.

ТЕМА 1. МОРФОЛОГИЯ, БИОЛОГИЯ И УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ ДРОЗОФИЛЫ

Drosophila melanogaster, иначе муха плодовая, или уксусная, принадлежит к семейству *Drosophiliciday* из отряда *Diptera*. Родиной *Dr. melanogaster* считается Индо-малайская область. В настоящее время она космополит, населяет Северную и Южную Америку, Африку, Австралию, Японию и Южную Европу. Питается дрозофила ферментируемыми фруктами, овощами и древесным соком.

Раса дрозофилы, которая обитает в природе, носит название дикий тип (wild type), или нормальная (*Normal*). Это мушка величиной 2-3 мм с ярко-красными глазами и серым телом.

Морфологически, самки и самцы отличаются друг от друга по целому ряду признаков (рис. 1):

- Самки несколько **крупнее** самцов.
- **Брюшко** у самки округлое с заостренным концом, у самца – более цилиндрическое с притупленным концом и сильно пигментированными (черными) последними тергитами (скелетные хитиновые пластинки брюшка со спинной стороны);
- У самки 8 хорошо развитых **тергитов**, у самца – 6;
- У самки 4 хорошо развитых **стернита** (хитиновые пластинки с брюшной стороны), у самца – 3;
- У самца присутствуют **половые гребешки** (ряд хитиновых щетинок на первом членике лапки передних ног).

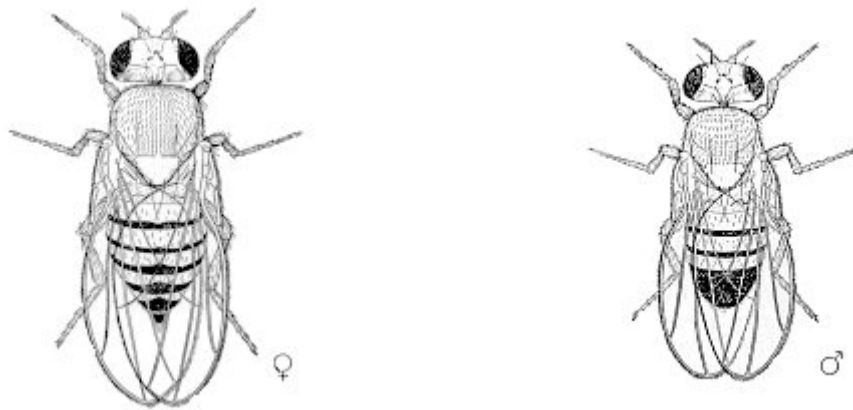


Рис. 1. Самка и самец дрозофилы

Как правило, самки начинают спариваться спустя 24 часа после вылупления. Копуляция длится около 20 минут, этот срок является видовой характеристикой рассматриваемого вида.

Биология развития дрозофилы. При температуре 24-25⁰С цикл развития дрозофилы от яйца до взрослой мухи составляет примерно 10 суток, при температуре 27⁰С цикл сокращается до 9 суток (развитие яйца – 20 часов, развитие личинки - 4 суток, развитие куколки - 4 суток) (рис. 2). В благоприятных условиях каждая самка откладывает до 50-80 яиц в

сутки. Яйца дрозофилы вытянутые, около 0,5 мм в длину. Их легко заметить отложенными на питательной среде поблизости от стенок стаканчика, где содержится меньше влаги. От передней части яйца отходят два длинных отростка, представляющих собой выросты хориона. Это филаменты, предохраняющие яйцо от погружения в жидкую среду. Если откладка оплодотворённого яйца задержана какими-нибудь неблагоприятными условиями, то первые стадии развития оно проходит в половых путях самки и к моменту откладки на питательную среду содержит развитую личинку. Однако в нормальных условиях эмбриональное развитие протекает вне тела матери и при температуре 27°C продолжается около 20 часов.

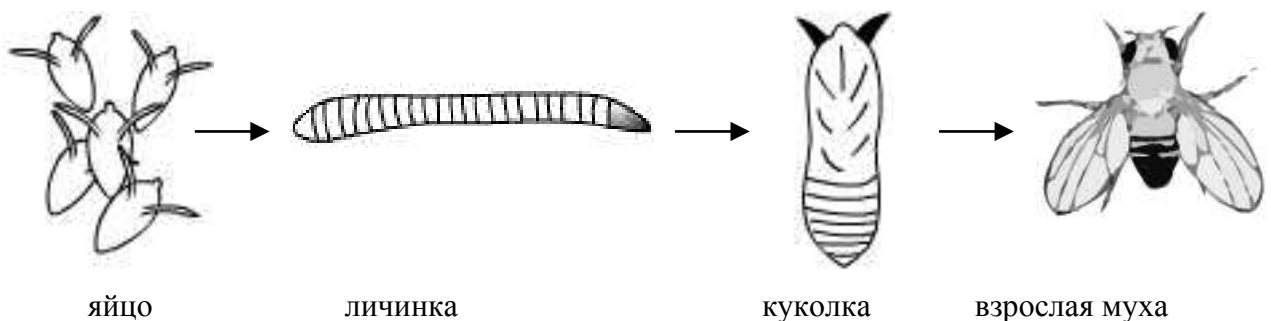


Рис. 2. Цикл развития дрозофилы

Первое время после вылупления личинки остаются на поверхности питательной среды. Затем они уходят вглубь и остаются там до момента окукливания. Заметить начало процесса окукливания можно с того, что личинки покидают среду и некоторое время оживлённо двигаются по стенкам стаканчика. Затем они становятся неподвижными, сокращаются в длину и приобретают характерную бочкообразную форму. В стадии куколки происходит метаморфоз внутренних органов, во время которого разрушаются личиночные органы и ткани (гистолиз) и развиваются из имажинальных дисков органы взрослой мухи (гистогенез). Период кукольного превращения при 27°C равен четырём суткам. Вылупление мухи и освобождение её от покровов куколки (пупариума) достигается нагнетанием жидкости в лобный пузырь, вследствие чего оболочка куколки на переднем конце разрывается, и муха высвобождается.

Молодые мухи имеют значительно более длинное и почти лишенное пигмента желтоватое тело, короткие, не до конца расправившиеся крылья и нежные щетинки. По этим признакам их легко отличить от взрослых мух. На ранних стадиях развития личинки очень удобно различить её пол. Благодаря неравномерному развитию гонады мужских и женских личинок различаются по величине. Семенники в несколько раз крупнее яичников, и при использовании лупы их легко обнаружить у живой личинки при рассмотрении её сверху. Семенники расположены между третьим и

четвёртым задними сегментами и представляются в виде двух светлых овальных пузырьков, хорошо видимых через прозрачную хитиновую оболочку. Через 8-10 часов самки уже готовы к оплодотворению, поэтому для скрещивания необходимо брать девственных (виргинных) самок, не старше 10 часов после вылупления. Самки начинают откладывать яйца с конца вторых суток и продолжают до конца жизни.

Правила работы с дрозофилой. Анализ и подсчёт мух, отбор девственных самок и подбор родительских пар для скрещивания проводят после того, как их усыпят серным эфиром. Наркотизация мух выполняется следующим образом. Легким постукиванием пробирки о ладонь следует отогнать мух от пробки, затем быстро открыть и сразу приставить к отверстию пробирки морилку. Затем морилку необходимо ориентировать по направлению к свету. Так как мух положительно фототропичны, они все вскоре соберутся в морилке. Далее морилку быстро отнимают и закрывают сетчатой крышкой со смоченной эфиром ваткой. Следует остерегаться попадания с ваты капли эфира, мухи в этом случае моментально погибают.

Как только мухи перестали двигаться, их сразу нужно встряхнуть из морилки. От большой дозы дрозофилы погибают через 3-5 мин. Характерный признак погибших от эфира мух – растопыренные кверху и в стороны крылья и безжизненно вытянутые лапки.

Изучение морфологических особенностей дрозофил, а также сравнение мутационных рас удобно проводить, расположив наркотизированных мух на молочно-белом стекле. Брать мух можно только пинцетом за крылышки или ножки, либо перемещать их мягкой кисточкой.

Если наркотизацию необходимо продлить, мух накрывают большим часовым стеклом, под которое кладут ватный тампон, смоченный одной каплей эфира.

Если мухи нужны для последующего размножения, их помещают в чистые пробирки с питательной средой. В одну пробирку для размножения следует помещать 2-3 самок и 3-5 самцов. Для того чтобы сонные мухи не упали на дно пробирки и не увязли в питательной среде, их помещают в свёрнутые из бумажек вороночки, либо выкладывают на чистые стенки стаканчика со средой и держат стаканчик в горизонтальном положении до тех пор, пока мухи не проснутся.

Так как жизнеспособная сперма способна сохраняться в половых путях самки в течение нескольких суток после спаривания, оплодотворённая самка может содержать в семяприёмнике некоторое количество спермы от предыдущей копуляции. Поэтому для скрещиваний необходимость брать заведомо виргинных самок не старше 10 часов после вылупления. Для этой цели из культур за несколько часов до массового вылупления удаляют не девственных мух. После этого культуру просматривают через 8-10 часовые интервалы. Вылупляющихся

девственных самок изолируют от самцов и используют для скрещиваний. Морфологические особенности только что вылупившихся мух описаны выше.

При постановке скрещиваний необходимо фиксировать все наблюдения, цифры, расчеты в дневнике или книге протоколов опытов.

Начинающий исследователь при проведении экспериментов может столкнуться с неудачами генетического характера, т.е. с несоответствием результатов опыта ожидаемым. Причины этого явления чаще всего следующие: а) для скрещивания взяты либо не девственные самки, либо по ошибке вообще не из той культуры; б) неправильно сделаны надписи, или приклеены этикетки на пробирки с культурами мух. Во всех этих случаях следует поставить скрещивание заново.

Условия содержания дрозофил. Успех работы с дрозофилой в большой степени зависит от создания оптимальных условий содержания. Продолжительность жизни взрослой мухи в лабораторных условиях составляет 3-4 недели и зависит температуры, влажности, пищи, плотности населения, наличия в питательной среде бактерий. Оптимальной температурой для содержания дрозофилы в лабораторных условиях является – 24-25⁰С. При поддержании данной температуры в течение года возможно получение 40 поколений мух. При температуре, превышающей 31⁰С, муха становится полностью или частично бесплодной. С понижением температуры развитие сильно замедляется. Жизнеспособность мутационных форм по сравнению с дикой формой в большинстве случаев понижена.

В пробирку ёмкостью 100 мл с 25 мл среды обычно сажают не более 3-4 самок во избежание перенаселения. Перенаселение приводит к измельчанию мух и сокращению продолжительности их жизни. Число яиц, откладываемых самкой, зависит от состояния питательной среды.

Питательные среды

Главными составными частями среды, на которой разводят дрозофилу в лабораториях, являются сахар и дрожжи. Сахар является субстратом, на котором развиваются дрожжи, сами дрожжи составляют главный элемент пищи мух. В качестве основных компонентов в состав среды сводит также агар-агар, который придаёт среде желеобразную консистенцию и пропионовая или этилбензойная кислота для предупреждения развития в культурах плесени.

Для поддержания основных линий дрозофилы, которых пересаживают реже других, рекомендуется использовать среду со следующим составом:

Вода.....	200 мл
Патока.....	20
Кукурузная мука.....	15
Агар-агар.....	1,5

На такой среде интервалы между очередными пересадками культур можно продлить до двух месяцев.

На дрожжевых средах мухи развиваются значительно быстрее, очень крупные, с хорошим проявлением всех признаков. Дрозофила с успехом культивируется на среде следующего состава:

Вода.....350 мл
Дрожжи.....40
Агар-агар.....4,5
Манная крупа...15
Сахароза 13

Однако на дрожжевых средах дрозофилы живут сравнительно не долго. Это происходит из-за наличия в таких средах бактерий и грибков, а также перенаселения мух. Поэтому дрожжевую среду нельзя употреблять для поддержания основных линий из-за нежелательности их частых пересадок и невысокой продолжительности жизни дрозофил, выросших на этой среде.

После окончания варки среду охлаждают до 60-70° С и наливают в пробирки на уровне 1-1,5 см. Предварительное охлаждение необходимо, так как горячую среду трудно равномерно разлить в пробирки. Кроме того, от горячей среды стенки пробирок отпотевают, и мухи, попавшие на мокрые стенки, могут погибнуть. Разливать среду следует при помощи воронки, чтоб она не попадала на стенки пробирки, так как её тонкий слой подсыхает, и отложенные в нём яйца погибают. Готовую среду хранят в холодильнике, где она может оставаться месяц и больше.

При неправильном приготовлении питательной среды возможны следующие последствия: а) в среде мало дрожжей, или нет бензойной кислоты (развилась плесень); б) среда слишком твёрдая (агар-агар взят в избытке), поэтому личинки не смогли проникнуть в глубь среды и погибли; в) среда слишком жидкая (недостаточно агар-агара), в культуре избыток влаги и личинки утонули; г) в культуре избыток дрожжей (толстый беловатый налёт на поверхности питательной среды), так как культура поставлена на не свежую среду. В этих случаях следует пересадить мух на свежую среду.

Посуда, её мытье и хранение. Для разведения дрозофилы удобно пользоваться плоскодонными пробирками 2-3 см в диаметре и 6-8 см высотой. При необходимости можно пользоваться химическими пробирками, стеклянными флаконами от лекарственных препаратов, банками от детского питания и т.п.

Бывшие в употреблении пробирки освобождают от пробок и живых мух. Пробирки заливают водой с небольшим количеством соды или стирального порошка (25г на 10л воды) и нагревают до кипения. Этим достигается растворение в горячей воде засохшей среды и частичная дезинфекция.

Далее пробирки отмываются ёршиком. В обязательном порядке следует очищать стенки пробирок от надписей. Вымытые пробирки ополаскиваются и высушиваются. Для окончательной дезинфекции пробирки помещают на 1-2 часа в сушильный шкаф при температуре + 100 – 120° С. После чего остывшие пробирки складывают в специальные лотки.

Пробки, бывшие в употреблении, не выбрасывают, а стерилизуют в автоклаве (при давлении 2,5 атм., 20 минут) или обжигают на пламени спиртовки.

В зависимости от необходимого объёма питательной среды используют следующие навески реактивов:

Таблица 1.1

Компоненты для приготовления дрожжевой среды

Компоненты	на 100 пробирок	на 50 пробирок	на 25 пробирок
1. вода	700 мл	350 мл	175 мл
2. агар-агар	9 г	4,5 г	2,25 г
3. дрожжи	75 г	37,5 г	18,8 г
4. сахар	25 г	12,5 г	6,25 г
5. манная крупа	25 г	12,5 г	6,25 г

Организация работы на лабораторном практикуме.

1. Студенты работают парами: вдвоём выполняют каждую лабораторную работу и анализируют результаты.

2. Каждый студент ведет лабораторный журнал, в котором записываются скрещивания, промежуточные и окончательные результаты для каждой пары и подгруппы в целом, формулируют выводы.

3. На каждое скрещивание ставят 2 пробирки, в каждую из которых помещают 2-3 девственные самки и 3-5 самцов. Пробирки плотно закрывают хорошо скрученными ватными пробками.

4. На каждую пробирку наклеивают этикетку с указанием генотипов мух, фамилии студентов, даты скрещивания.

5. Пробирки с одним скрещиванием скрепляют резинкой.

6. Пробирки оставляют в горизонтальном положении до тех пор, пока мухи не проснутся от наркоза.

7. Пробирки помещаются в коробку с номером курса и подгруппы. Через неделю из пробирки удаляются родители. Анализ потомства производится через 10-14 дней.

Лабораторная работа № 1. Правила работы с дрозофилой

Цель работы: ознакомиться с учебным объектом *Dr. melanogaster*.

Задачи:

1. Изучить внешний вид особей дрозофилы на разных стадиях развития.

2. Освоить основные правила работы с дрозофилой.
3. Провести сравнение мужских и женских особей *Dr. Melanogaster*.

4. Научиться отбирать виргинных самок дрозофилы для последующих скрещиваний

Биологический материал: культуры *Dr. Melanogaster (Normal)* с мухами разного возраста, культуры *Dr. Melanogaster* не старше 10-12 часов после вылупления.

Оборудование:

- Стаканчики (пробирки) d=4 см, h=10 см и вата (для пробок);
- Эфир и морилка;
- Тонкий пинцет для разбора мух или кисть;
- Молочно-белое стекло (5x10 см), или лист белой бумаги;
- Лупа;
- Этикетки или карандаши для письма по стеклу.

Ход работы:

1. Внимательно рассмотреть особей *Dr. Melanogaster* в пробирках. Обнаружить мух на всех этапах цикла развития – яйца, личинки, куколки и взрослые мухи.
2. Зарисовать дрозофил на разных стадиях развития.
3. Мух из пробирки с дрозофилами разного возраста перенести в морилку и усыпить.
4. Разместить наркотизированных мух на матово-белом стекле, сориентировав их по отношению к источнику света.
5. Рассмотреть, используя лупу, и сравнить морфологические особенности особей мужского и женского полов.
6. Зарисовать в лабораторном журнале самок и самцов дрозофилы. Описать половой диморфизм.
7. Дрозофил из пробирки с молодыми мухами перенести в морилку и усыпить.
8. Расположить мух на матово-белом стекле, выбрать по морфологическим признакам виргинных самок.
9. Изолировать девственных самок в новые пробирки со средой.
10. Сделать выводы.

Лабораторная работа № 2. Приготовление питательной среды

Цель работы: познакомиться с условиями содержания дрозофилы и научиться приготавливать питательную среду.

Задачи:

1. Ознакомиться с оптимальными условиями содержания и разведения дрозофилы.
2. Научиться обрабатывать посуду для разведения дрозофил.
3. Освоить навыки приготовления питательной среды.

Оборудование: весы, колбы, кастрюля и плитка.

Реактивы: вода, агар-агар, дрожжи, сахар, манная крупа.

Ход работы:

1. Все составные части среды отвесить на технических весах.
2. В колбу I поместить навески сахара, манки и агар-агара, в колбу II - дрожжей.
3. Отмерить воду и разделить ее поровну между колбами I и II.
4. Поставить обе колбы в паровую баню, и периодически помешивая довести до растворения агар-агара (30 мин).
5. Соединить содержимое колб и добавить щепотку бензойной кислоты, тщательно перемешать.
6. Поставить в паровую баню на 30 минут.
7. Охладить до +60-70⁰ C, разлить по стерильным пробиркам.

ТЕМА 2. МУТАНТНЫЕ ФОРМЫ ДРОЗОФИЛЫ

Для генетического анализа муху дрозофилу начали использовать с 1910 г., когда Т. Морган обнаружил первую мутационно возникшую наследственную расу – белоглазую муху (white). К числу органов дрозофилы, чаще всего, подвергающихся мутационным изменениям, относятся глаза и крылья.

Мутации глаз. Глаза нормальной мухи (*Normal*) красного цвета, устроены по типу сложных фасеточных глаз насекомых. Сложный глаз состоит из многих простых глазков – фасеток (омматидий). У самок их число приблизительно 780, у самцов – 740. Каждая фасетка состоит из чувствительных клеток и проводящих путей, которые соединяют глаз с головным мозгом. Мутации, затрагивающие различные особенности глаза, разнообразны. Ниже представлены наиболее частые из них.

Изменение пигментации глаз. Характерный диким дрозофилам цвет глаз изменяется с большим спектром переходов от цвета бордо до бесцветного. Примерами таких мутаций являются *bordeaux* (бордовый цвет глаз), *carmine* (карминный), *carnation* (алоглазый), *cinnabar* (киноварноглазый), *light* (светлоглазый), *raspberry* (малиновый цвет глаз) и другие.

Изменение формы глаза, строения и расположения фасеток. У нормальной мухи фасетки расположены наподобие ячеек пчелиных сот, у мутантов правильность их расположения нарушена. К мутациям, затрагивающим данную характеристику глаз, относятся *rough* (грубые фасетки), *Star* (звёздчатый) и другие.

Изменение размера глаз. В этом случае мутации приводят к редукции глазных фасеток. Наиболее яркое проявление уменьшения глаз демонстрируют мутанты *Bar* (полосковидный), *Lobe* (лопастной), *eyeless* (безглазый). Одновременно с редукцией глаз происходит значительное уменьшение размеров головы по сравнению с головой нормальной мухи.

Мутации крыльев. Большинство мутаций крыльев хорошо различимы невооруженным глазом, либо при слабом увеличении. Выделяют три группы мутаций рассматриваемого органа.

Изменение общей конфигурации крыла. У нормальной мухи крыло прямое плоское. У мутантов оно может быть изогнуто в виде арки (*arc*), лыжи (*ski*), закрученное кверху (*Curly*), книзу (*curved*) и т.д.

Изменение жилкования. Такие модификации выражаются в исчезновении одной или нескольких жилок (*crossveinless*), появлении добавочных жилок (*plexus, Delta*).

Изменение размера крыла. У мутантов этой группы наблюдается уменьшение крыла в той или иной степени. Таковы, например, мутанты *cut, dumpy* – вырезанный, *small wing* – маленькие крылья, *vestigial* – зачаточные крылья, *apterous* – бескрылый.

Помимо рассмотренных мутаций довольно часто изменениям подвергаются щетинки и волоски. Для щетинок, или макрохет, характерно их исчезновение или удвоение. Мутационные изменения волосков (микрохет) выражаются в их ином расположении и в образовании добавочных волосков.

Также существует большое число мутантов с измененной пигментацией тела, строением ножек, усиков и тергитов.

Гомеозисные мутации. В особую группу выделяются мутации гомеозисных генов, которые проявляются в трансформации одного сегмента тела в другой. У дрозофилы выделяют два комплекса гомеозисных генов:

1) комплекс **Antennapedia**, включающий гены: *Antennapedia (Antp)*, *Sex comb reduced (Scr)* и *Deformed (Dfd)*. Гены этой области контролируют развитие структур головы, первого грудного сегмента и переднего компартмента второго грудного сегмента. Мутации генов этой группы вызывают превращение головных сегментов в торакальные. Например, гомеозисный мутант *Antennapedia*, у которого структуры антенны трансформированы в структуры ноги. Изредка трансформация может захватывать целую антенну и она вся превращается в ногу, однако чаще она ограничена отдельными члениками антенны.

2) **bithorax-комплекс**, гены которого детерминируют развитие остальных грудных и всех брюшных сегментов. Этот комплекс включает три гена, кодирующих белки: *Ultrabithorax (Ubx)*, *Abdominal A (abd A)* и *Abdominal B (abd B)*. Наиболее известной мутацией данной группы является появление добавочной пары крыльев у мутанта *bithorax*.

Номенклатура мутаций. При работе с *Dr. Melanogaster* принято использовать особую схему обозначения мутаций. Ниже приведены лишь основные положения этой схемы, необходимые для описания проводимых студентами экспериментов. Подробное описание номенклатуры мутаций дрозофилы можно найти в справочнике Линдсли Д., Грел Е., 1968.

Особенности номенклатуры генных мутаций *Dr. Melanogaster*:

- Мутации дается название, отражающее самые яркие мутантные признаки. В качестве названия используют короткое и простое прилагательное (*black*) или существительное (*Bar*), на английском или латинском языке.

- Каждой мутации соответствует свой символ. Он начинается с той же буквы, что и название мутации. Название и символ мутации пишутся курсивом (*blac*, *b*).

- Название и символ рецессивной мутации пишутся, со строчной буквы (*dumpley*, *dp*). Название и символ доминантной мутации пишутся с заглавной буквы (*Bar*, *B*).

- Мутации с одинаковым фенотипическим проявлением, но расположением в разных локусах, имеют индивидуальные название. Например, ярко-красный цвет глаз может быть обусловлен мутациями *scalet*, *cinnabar*, *cardinal*.

- Нормальные аллели обозначаются либо знаком “+”, либо с индексом “+” – “b+”.

- Данные о локализации мутаций приводятся в следующем виде: номер хромосомы, затем, через запятую, место в хромосоме. Например, для *white*, локализованной на 1,5 единиц карты в первой хромосоме, написано: I, 1,5. У дрозофилы первая группа сцепления соответствует X хромосоме, вторая и третья – двум большим аутосомам, четвертая – малой аутосоме.

Характеристика наиболее используемых мутантных линий *Dr. Melanogaste* приведена в приложении 1.

К сожалению, возможности лаборатории не всегда позволяют поддерживать коллекцию большого числа мутантных линий и для изучения фенотипических проявлений мутаций часто приходится использовать фиксированные препараты. Чтобы обеспечить возможность наилучшим образом охарактеризовать фенотипические проявления мутаций, важно правильно приготовить фиксированный препарат.

Методика приготовления фиксированных препаратов из биологических объектов включает в себя следующие этапы:

1. **Фиксация.** Это сохранение материала в состоянии, близком к прижизненному. Для фиксации необходимо быстро умертвить ткани. Используемое для этого вещество называется **фиксатором**. Быстрой фиксацией обеспечивается сохранение изначальной структуры объекта.

2. **Обезвоживание.** Обезвоживание подразумевает удаление из биологического объекта водной среды. Воду необходимо удалить также потому, что иначе со временем препарат будет разрушен бактериями. Для того чтобы сохранить ультраструктуру, обезвоживание надо проводить постепенно, обрабатывая материал рядом водных растворов этанола или пропанона (ацетона) со все возрастающей концентрацией, и закончить обработку "абсолютным" (чистым) этанолом или пропаномом.

3. **Просветление.** Некоторые из общеупотребимых сред для заливки и заключения не смешиваются со спиртом. Поэтому его надо постепенно замещать средой (**просветляющее вещество**), с которой заливочная среда смешивается, например ксилолом. Это приводит также к тому, что материал становится прозрачным.

4. **Заливка** препарата: для сохранения структуры препарат помещается в определенную среду, чаще всего канадский бальзам. При работе с дрозофилой особенно важно учесть объем фиксируемого объекта.

Лабораторная работа № 3. Сравнительная характеристика мутантных линий *Dr. melanogaster*

Цель работы: ознакомиться с коллекцией мутантных линий *Dr. melanogaster*.

Задачи:

1. Рассмотреть мужские и женские особи мутантов дрозофилы.
2. Провести сравнение мутантов дрозофилы с мухами дикого типа.
3. Описать мутантные линии дрозофилы.
4. Изучить основные обозначения, принятые при работе с *Dr. melanogaster*

Биологический материал: мутантные линии *Dr. Melanogaster*, мухи *Normal*, коллекция фиксированных препаратов мутантов дрозофилы.

Оборудование: эфир и морилки, молочно-белое стекло, лупа, пинцеты, кисти, микроскопы.

Ход работы:

1. Перенести мух в морилку и усыпить их.
2. Разместить мух в ряд на матово-белом стекле, сориентировав их по отношению к источнику света.
3. Внимательно рассмотреть, используя лупу, морфологические особенности мутантов и сравнить их с признаками мух дикого типа.
4. Аналогично провести ознакомление с мутантными линиями, представленными на фиксированных препаратах.
5. Дать подробное описание изученным мутантам дрозофилы.
6. Сделать выводы.

Лабораторная работа № 4. Приготовление фиксированных препаратов дрозофилы различных мутантных линий

Цель работы: освоение методики приготовления микропрепаратов с использованием *Dr. melanogaster*.

Задачи:

1. Дать характеристику исследуемых линий *Dr. melanogaster*.
2. Провести сравнительный анализ исследуемых мутантных линий.
3. Приготовить постоянный препарат объекта *Dr. melanogaster*.

Оборудование: микроскопы, чашки Петри, предметные и покровные стекла, кисточки, пинцеты, пробирки, пипетки, планшетка для мух, эппендорфы.

Реактивы: 70% и 96% этиловый спирт; эфир; растворы с отношением 2 части спирта к 1 части ксилола, 1 часть спирта и 1 часть ксилола; ксилол 1; ксилол 2; канадский бальзам.

Ход работы:

1. Приготовить морилку и наркотизировать мух.
2. Наркотизированных мух поместить в эппендорф объёмом 1,5 мл, закрепленный на планшетке.
3. Залить мух раствором 70% этилового спирта до отметки 0,2 в эппендорфе и выдержать 2-3 минуты.
4. Пипеткой удалить раствор из эппендорфа и перенести в ёмкость с надписью «Слив».
5. Залить мух раствором 96% этилового спирта до отметки 0,2 в эппендорфе и выдержать 2-3 минуты.
6. Пипеткой удалить раствор из эппендорфа и перенести в ёмкость с надписью «Слив».
7. Залить мух раствором из 2 частей спирта и 1 части ксилола до отметки 0,2 в эппендорфе и выдержать 2-3 минуты.
8. Пипеткой удалить раствор из эппендорфа и перенести в ёмкость с надписью «Слив».
9. Залить мух раствором из 1 части спирта и 1 части ксилола до отметки 0,2 в эппендорфе и выдержать 2-3 минуты.
10. Пипеткой удалить раствор из эппендорфа и перенести в ёмкость с надписью «Слив».
11. Залить мух раствором чистого ксилола 1 до отметки 0,2 в эппендорфе и выдержать 2-3 минуты.
12. Пипеткой удалить раствор из эппендорфа и перенести в ёмкость с надписью «Слив».
13. Залить мух раствором чистого ксилола 2 до отметки 0,2 в эппендорфе и выдержать 2-3 минуты.
14. Пипеткой удалить раствор из эппендорфа и перенести в ёмкость с надписью «Слив».
15. Поместить по 2 мушки (самку и самца) на предметное стекло, смоченное ксилолом, и тщательно расправить под бинокуляром.
16. Нанести сверху 1-2 капли канадского бальзама.
18. Аккуратно накрыть покровным стеклом, стараясь не допустить образования пузырьков воздуха. Не прижимать покровное стекло!
19. Подписать этикетку с указанием мутантной линии и фамилии студента.
20. Поместить препарат в планшетку до полного высыхания бальзама. Ни в коем случае не помещать препарат ПОВЕРХ других!

ТЕМА 3. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОНОГИБРИДНОГО СКРЕЩИВАНИЯ

Моногенным называется наследование, в котором в анализе участвуют признаки, определяемые одним геном. В **моногибридном скрещивании** родительские организмы отличаются по одной паре контрастных альтернативных признаков. Например, серое и черное тело у дрозофилы. Скрещивание особей с такими альтернативными признаками и является моногибридным. В первом поколении этого скрещивания появляются гибридные особи. Из двух альтернативных вариантов у гибридов первого поколения развивается только один доминантный признак (серое тело у дрозофилы), а второй – рецессивный – не проявляется (черное тело у дрозофилы). Преобладание у гибрида первого поколения признака одного из родителей Мендель назвал **доминированием**, а закон получил название **первого закона Менделя или единообразия гибридов первого поколения**.

При скрещивании гибридных особей первого поколения между собой во втором поколении наблюдается появление потомков с признаками обоих родителей. Причем, расщепление признаков подчиняется строгим количественным закономерностям: $\frac{3}{4}$ всех гибридов второго поколения несут доминантный признак (серое тело дрозофилы), а $\frac{1}{4}$ – рецессивный (черное тело дрозофилы). Расщепление во втором поколении в определенном количественном соотношении доминантных и рецессивных форм называется **законом расщепления или вторым законом Менделя**.

Лабораторная работа № 5. Моногибридное скрещивание дрозофилы

Цель работы: освоить правила постановки скрещиваний *Drosophila melanogaster*, изучить закономерности моногенного наследования признаков.

Задачи:

1. Освоить методику постановки скрещиваний.
2. Осуществить скрещивание дрозофил линий Normal и ebony.
3. Провести статистический анализ моногенного наследования мутации ebony с использованием метода χ^2 .

Биологический материал: линии *Drosophila melanogaster* Normal (серое тело), ebony (черное тело).

Оборудование: стаканчики или широкие пробирки диаметром 4 см со свежеприготовленной средой; ватные пробки; эфир и морилки; молочно-белое стекло; лупа; пинцеты; кисти.

Ход работы:

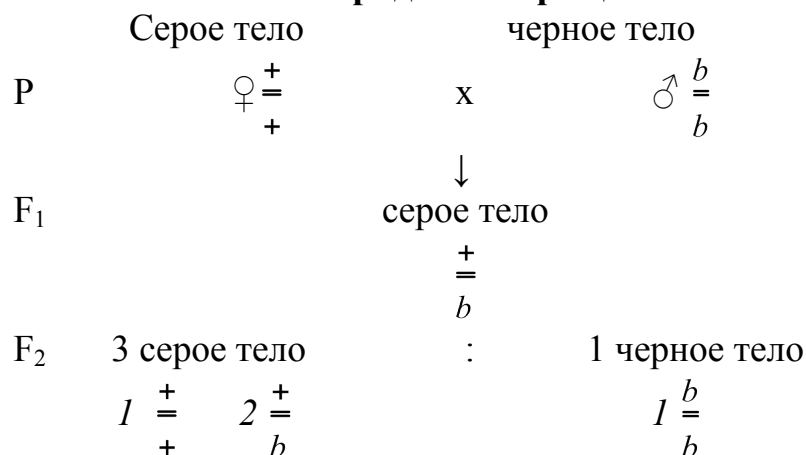
1. Проведите наркотизацию мух. Правила наркотизации приведены в лабораторной работе №1.

2. Изучите и опишите морфологию линий дрозофилы Normal и ebony, пользуясь данными лабораторной работы №2.

3. Проведите постановку скрещивания: 2-3 виргинные самки линии black поместить в стаканчик со средой с 3-5 самцами линии Normal. Для обратного скрещивания 2-3 виргинные самки Normal поместите в стаканчик со средой с 3-5 самцами black. Пробирки подпишите (прямое/обратное скрещивание, ФИО, дата). Данные занесите в ваш лабораторный журнал.

4. Составьте схему скрещивания и определите ожидаемое расщепление по фенотипу и генотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая рецессивный характер мутации ebony. Сформулируйте нулевую гипотезу о характере наследования данной мутации.

Схема моногибридного скрещивания



5. Через 10-12 суток после постановки скрещивания, когда в стаканчике начнется массовое вылупление мух F₁, их следует усыпить и проанализировать фенотипы гибридов первого поколения прямого и обратного скрещиваний относительно цвета тела и подсчитать точное число потомков. Результаты занесите в таблицу 5.1.

Таблица 5.1

Результаты гибридологического анализа при скрещивании дрозофил линий black и Normal

Фенотипы гибридов	Прямое скрещивание ♀black x ♂Normal			Обратное скрещивание ♀ Normal x ♂ black		
	Всего	В том числе		Всего	В том числе	
		♀	♂		♀	♂
Гибриды F ₁ :	65	35	30	40	25	15
Гибриды F ₂ :						

6. Среди гибридов F₁ отберите 2-3 женские особи и 5-6 мужских и поместить их в чистые пробирки с питательной средой для получения F₂. Подпишите пробирки.

7. Через 10-12 дней в стаканчиках начнется массовое вылупление мух F₂. Их следует усыпить и анализировать на матово-белом стекле. Проанализируйте фенотипы гибридов второго поколения относительно цвета тела. Согласно закону расщепления Менделя у ¼ гибридов второго поколения, как от прямого, так и от обратного скрещивания дрозофил, должна проявиться рецессивная мутация – черное тело. Результаты занести в таблицу 5.1.

8. Пользуясь методом соответствия (χ^2) определите теоретически ожидаемую величину для каждого фенотипического класса расщепления во втором поколении: суммарное значение потомков разделить на суммарное число возможных генотипических классов (4 класса для моногибридного скрещивания) и умножить получившуюся величину для каждого фенотипического класса в соответствии с предполагаемой формулой расщепления (3:1 в данном случае). Полученные значения занести в таблицу 5.2.

Таблица 5.2

Результаты гибридологического анализа при моногибридном скрещивании дрозофил линий black и Normal

Линии и гибриды	Получено мух			Теоретически ожидаемое	
	Всего	В том числе		Normal	black
		Normal	black		
F ₁ ♀ black- ♂ Normal	65	65	-		
F ₁ ♀ Normal- ♂ black	40	40	-		
F ₂ ♀ black- ♂ Normal	60	47	13	45	15
F ₂ ♀ Normal- ♂ black	80	55	25	60	20

9. Определите величину χ^2 формуле $\chi^2 = \sum (o-n)^2/o$, где n - наблюдаемые данные, o – ожидаемые, теоретические данные. В данном примере:

$$\chi^2 = (15-15)^2/15 + (30-32)^2/30 = 0,4 \text{ (для прямого скрещивания)}$$

$$\chi^2 = (60-55)^2/60 + (20-25)^2/20 = 1,72 \text{ (для обратного скрещивания)}$$

10. Оцените величину χ^2 по таблице Фишера с учетом степеней свободы и допустимой вероятностью (см. приложение 2). Число степеней свободы – это число независимо рассчитанных теоретически ожидаемых

величин. Число степеней свободы определяется как число фенотипических классов минус один (в данном опыте число степеней свободы равно 1). Вероятность есть не что иное, как вероятность данной нулевой гипотезы. Для биологических дисциплин принята вероятность 95%, поэтому допустимой границей вероятности является величина 0,05. Это означает, что на каждые 20 показателей допускается 1 ошибка.

11. Сформулируйте выводы о правильности нулевой гипотезы о характере наследования мутации ebony. Если величина χ^2 в опыте меньше теоретической, то различия между наблюдаемыми и ожидаемыми данными случайны и гипотеза не отвергается. Нулевая гипотеза отвергается, если значение χ^2 выше того, что дано в графе $P=0,05$ при соответствующем числе степеней свободы. В данном примере χ^2 наблюдаемое (0,4 и 1,72) < чем χ^2 ожидаемое (3,84), следовательно, гипотеза о моногенном наследовании мутации black и расщеплении по фенотипу у гибридов второго поколения в соотношении 3:1 верна при 1 степени свободы.

Комплект задач по теме «Генетический анализ моногибридного скрещивания»

1. У мухи дрозофилы полосковидные глаза (Var) доминируют над нормальным расположением фасеток. Скрещиваются гомозиготная дрозофила с нормальными глазами с гетерозиготной мухой с полосковидными глазами. Какой генотип и фенотип будет иметь потомство от этого скрещивания и в каком соотношении?

2. При скрещивании нормальных мух между собой в потомстве 25 % мух оказались бескрылыми (мутация apterous). Их скрестили с нормальными мухами и получили 41 особь без крыльев и 43 особи с нормальными крыльями. Определите генотипы скрещиваемых форм и потомства.

3. При скрещивании дрозофил с серым телом получено поколение F_1 : 7 серых мух и 2 с темной полоской на груди (мутация band). Как наследуется данный признак и каковы генотипы родителей?

4. При скрещивании серых мух и мух с темной полоской на груди (мутация band) получено потомство: 50 серых мух и 50 мух с мутацией band. Каковы генотипы родителей?

5. У дрозофилы серая окраска тела доминирует над черной (black). Каким следует ожидать поколение F_1 от скрещиваний: $+/+$ и $+/b$, $+/+$ и bb , $+/b$ и bb ?

6. Каким будет поколение F_2 от скрещивания мух со стекловидными глазами с нормальными (гомозиготными по изучаемому признаку)?

7. При скрещивании дрозофил нормального фенотипа $1/4$ потомков оказалась с уменьшенными глазами. Их повторно скрестили с нормальными мухами и получили 37 особей с уменьшенными глазами и 39 с нормальными. Объясните результаты. Определите генотипы скрещиваемых форм.

8. У дрозофилы серая окраска тела доминирует над черной. Каковы генотипы родительских форм в следующих скрещиваниях:

Родители	Потомство
черная×черная	233 с черной
черная×серая	119 с серой, 123 с черной
серая×серая	237 с серой
серая×черная	225 с серой
серая×серая	170 с серой, 60 с черной

9. При скрещивании фенотипически нормальной самки и самца дрозофилы в первом случае получено потомство, состоящее из 98 особи дикого типа и 51 мутантного фенотипа, во втором случае – только из 159 особей дикого типа. Объясните полученные результаты. Как можно проверить выдвинутые гипотезы?

10. При скрещивании дрозофил с зачаточными крыльями и нормальных особей в F₂ получено расщепление: 4626 длиннокрылых и 1234 мухи с зачаточными крыльями. Нетрудно убедиться (например, методом χ^2), что отклонение от теоретически ожидаемого 3:1 значительно. В чем, по-вашему, причина такого отклонения? Можно ли из данных опыта определить относительную жизнеспособность зигот, гомозиготных по аллелю зачаточных крыльев?

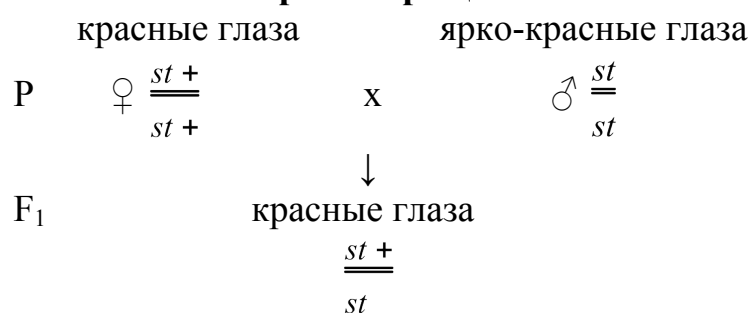
ТЕМА 4. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ НЕАЛЛЕЛЬНЫХ ГЕНОВ

У дрозофилы в наследовании ряда признаков довольно четко проявляется комплементарный тип взаимодействия генов, в случае которого совместное наличие в генотипе доминантных аллелей двух генов (*A-B-*) обуславливает развитие нового признака по сравнению с действием каждого гена в отдельности (*A-вв*) и (*aaB-*).

Явление комплементарности можно рассмотреть на примере наследования окраски глаз у дрозофилы, у которой наряду с дикой окраской глаз встречается коричневая и ярко-красная.

Для генетического анализа этих окрасок необходимо провести три скрещивания: 1) красноглазых мух (*Normal*) с ярко-красными (*scarlet*, *st*, III), 2) красноглазых с коричневоглазыми (*brown*, *bw*, II) и 3) мух, имеющих ярко-красные глаза и коричневые глаза.

Первое скрещивание



$$F_2 \quad 3 \text{ красные глаза} \quad : \quad \text{ярко-красные глаза}$$

$$\frac{\underline{st+}}{st+} \quad 2 \frac{\underline{st+}}{st} \quad \frac{\underline{st}}{st}$$

Приведенное скрещивание свидетельствует о том, что красная и ярко-красная окраски глаз наследуются моногенно, причем аллель красного пигмента доминантна (st^+), а ярко-красного – рецессивна (st).

Второе скрещивание

$$P \quad \begin{array}{cc} \text{красные глаза} & \text{коричневые глаза} \\ \text{♀ } \frac{\underline{bw+}}{bw+} & \times \quad \text{♂ } \frac{\underline{bw}}{bw} \end{array}$$

$$\downarrow$$

$$F_1 \quad \text{красные глаза} \quad \frac{\underline{bw+}}{bw}$$

$$F_2 \quad 3 \text{ красные глаза} \quad : \quad 1 \text{ коричневые глаза}$$

$$\frac{\underline{bw+}}{bw+} \quad 2 \frac{\underline{bw+}}{bw} \quad \frac{\underline{bw}}{bw}$$

Из второго скрещивания следует, что красная и коричневая окраски также определяются аллелями одного гена, причем красный пигмент (bw^+) доминирует над коричневым (bw).

Третье скрещивание

$$P \quad \begin{array}{cc} \text{коричневые} & \text{ярко-красные глаза} \\ \text{♀ } \frac{\underline{st+}}{st+} \text{Equation.3} \frac{\underline{bw}}{bw} & \times \quad \text{♂ } \frac{\underline{st}}{st} \end{array}$$

$$\text{Equation.3} \quad \frac{\underline{bw+}}{bw+} \text{Equation.3} \quad \downarrow$$

$$F_1 \quad \text{красные глаза} \quad \frac{\underline{st+} \underline{bw+}}{st \quad bw}$$

$$F_2 \quad 9 \text{ красные глаза} : 3 \text{ коричневые глаза} : 3 \text{ ярко-красные глаза} : 1 \text{ белые глаза}$$

$$\frac{\underline{st+} \underline{bw+}}{— \quad —} \quad \frac{\underline{st+} \underline{bw+}}{— \quad bw} \quad \frac{\underline{st}}{st} \text{Equation.3} \quad \frac{\underline{bw+}}{—}$$

$$\frac{\underline{st}}{st} \text{Equation.3} \quad \frac{\underline{bw}}{bw}$$

Из первых двух скрещиваний вытекало, что коричневоглазые мухи имеют генотип $\frac{\underline{bw}}{bw}$, ярко-красные – $\frac{\underline{st}}{st}$. Появление в F_1 третьего

скрещивания красноглазых мух, которые, согласно первому и второму скрещиванию, имеют доминантные аллели st^+ и br^+ , свидетельствует о том, что данные аллели должны быть в том или ином сочетании в генотипах мух всех исходных линий. Таким образом, генотип красноглазых мух будет $\frac{st^+ bw^+}{st^+ bw^+}$, мух с ярко-красными глазами – $\frac{st bw^+}{st bw^+}$, с коричневыми глазами – $\frac{st^+ bw}{st^+ bw}$. Следовательно, скрещивания красноглазых мух ($\frac{st^+ bw^+}{st^+ bw^+}$) с мухами, имеющими ярко-красные глаза ($\frac{st bw^+}{st bw^+}$), как и с мухами с коричневыми глазами ($\frac{st^+ bw}{st^+ bw}$) являются моногибридными скрещиваниями, дающими в F_2 расщепление 3:1.

В третьем скрещивании проявляются два новообразования, характерных для комплементарного взаимодействия генов – красная окраска глаз у гибридов F_1 и белая у одного из фенотипических классов F_2 . Используя результаты первых двух скрещиваний, делаем вывод, что гибриды F_1 третьего скрещивания – дигетерозиготы $\frac{st^+ bw^+}{st bw}$, дающие в потомстве расщепление по генотипу, как в дигибридном скрещивании: 3 красноглазые *Normal* : 3 *brown* : 3 *scarlet* : 1 *white*. Появившиеся в F_2 белоглазые мухи (*white*) имеют генотип $\frac{st bw}{st bw}$. В отдельности каждый из рецессивных аллелей имеет самостоятельное проявление (st – ярко-красная пигментация глаз, br – коричневая).

Для изучения комплементарного взаимодействия генов могут быть проведены скрещивания также между иными линиями дрозофил. Так, очень наглядным является скрещивание мутантов *ebony* (eb) и *black* (b) с черной окраской тела. Данная пигментация тела у дрозофилы может быть обусловлена различными генами: либо геном, локализованным в III хромосоме (eb), либо геном, локализованным во II хромосоме (b). Каждый из этих генов рецессивен по отношению к гену *Normal*, обуславливающему серую окраску тела. При скрещивании мутантов *ebony* и *black*, имеющих черную окраску тела, все особи F_1 имеют серую окраску тела, что может быть обусловлено только одновременным присутствием двух этих генов. В F_2 должно быть: 9 *Normal* : 3 *ebony* : 3 *black* : 1 *ebony-black*. Фенотипически все особи *ebony*, *black*, *ebony-black*, имеющие черную окраску тела, неотличимы, поэтому по фенотипу расщепление будет 9/16 серых : 7/16 черных.

Другим опытом, демонстрирующим взаимодействия генов, может быть скрещивание между мутантами *Lobe* и *eyeless*. Мутанты *Lobe* и *eyeless* имеют различную степень редукции глаз. Ген *Lobe* локализован во II, а ген *eyeless* в IV хромосомах. Анализ мух F_2 скрещивания *Lobe* x *eyeless*

показывает, что 3/16 мух имеют нормальные глаза, а 13/16 – имеют глаза в различной степени редуцированные, в зависимости от того, находится ли ген *L*, либо ген *eu*, либо оба вместе.

Лабораторная работа № 6. Комплементарное взаимодействие генов при формировании окраски глаз у дрозофилы

Цель работы: ознакомиться с комплементарным взаимодействием генов на примере наследования окраски глаз у дрозофилы.

Задачи:

1. Составить схемы скрещиваний № 1 - ♀ *Normal* x ♂ *scarlet*, № 2 - ♀ *Normal* x ♂ *brown*, № 3 - ♀ *scarlet* x ♂ *brown* и рассчитать теоретически ожидаемое расщепление в F₂.
2. Провести скрещивание № 1 - ♀ *Normal* x ♂ *scarlet*.
3. Провести скрещивание № 2 - ♀ *Normal* x ♂ *brown*.
4. Провести скрещивание № 3 - ♀ *scarlet* x ♂ *brown*.
5. Проанализировать F₁ скрещиваний № 1, № 2, № 3 и подобрать пары для получения F₂.
6. Получить мух поколения F₂ от трёх скрещиваний и проанализировать результаты.

Биологический материал: линии *Drosophila melanogaster Normal* (красные глаза), *scarlet* (ярко-красные глаза), *brown* (коричневые глаза).

Оборудование: пробирки со свежеприготовленной средой, ватные пробки, эфир и морилки, молочно-белое стекло, лупа, пинцеты, кисти.

Ход работы:

Студенты работают подгруппами по 3 человека в каждой, в соответствии с тремя типами анализируемых скрещиваний.

1. Скрещивание мух с красными и ярко-красными глазами.

1.1. Составить схему первого скрещивания, определить теоретически ожидаемое расщепление.

1.2. Отобрать 2-3 виргинные самки *Normal* и поместить в стаканчик со средой с 3-4 самцами линии *scarlet*.

1.3. Дождаться массового вылупления мух F₁ (через 10-12 суток после постановки скрещивания), усыпить и проанализировать. Следует убедиться, что все мухи имеют красные глаза и установить доминирование красной окраски над ярко-красной. Результаты записать в таблицу 6.1.

1.4. Среди гибридов F₁ следует отобрать 2-3 женские особи и 3-4 мужских и поместить их в чистые пробирки с питательной средой для получения F₂.

1.5. Через 10-12 дней усыпить и проанализировать мух F₂. Необходимо установить явление расщепления, подсчитать мух в каждом классе (мухи красными и ярко-красными глазами), занести результаты в таблицу 6.1.

Таблица 6.1

**Результаты гибридологического анализа при скрещивании
дрозофил линий *Normal* и *scarlet***

Линии или гибриды	Проанализировано особей			Расщепление	
	Всего	В том числе		Теоретически ожидаемое	фактически полученное
		с красными глазами	с ярко-красными глазами		
Гибриды F ₁					
Гибриды F ₂					

1.6. Провести статистическую обработку результатов методом χ^2 и доказать их соответствие расщеплению 3:1; убедиться, что данное скрещивание - моногибридное.

2. Скрещивание мух с красными (*Normal*) и коричневыми (*brown*) глазами.

2.1. Составить схему второго скрещивания, определить теоретически ожидаемое расщепление.

2.2. Отобрать 2-3 виргинные самки *Normal* и поместить в стаканчик со средой с 3-4 самцами линии *brown*.

2.3. Дождаться массового вылупления мух F₁ (через 10-12 суток после постановки скрещивания), усыпить и проанализировать. Следует убедиться, что все мухи имеют красные глаза и установить доминирование красной окраски над коричневой. Результаты записать в таблицу 6.2.

Таблица 6.2

**Результаты гибридологического анализа при скрещивании
дрозофил линий *Normal* и *brown***

Линии или гибриды	Проанализировано особей			Расщепление	
	Всего	В том числе		Теоретически ожидаемое	фактически полученное
		с красными глазами	с коричневыми глазами		
Гибриды F ₁					
Гибриды F ₂					

2.4. Среди гибридов F₁ следует отобрать 2-3 женские особи и 3-4 мужских и поместить их в чистые пробирки с питательной средой для получения F₂.

2.5. Через 10-12 дней усыпить и проанализировать мух F₂. Необходимо установить явление расщепления, подсчитать мух в каждом классе (мухи красными и коричневыми глазами), занести результаты в таблицу 6.2.

2.6. Провести статистическую обработку результатов методом χ^2 и доказать их соответствие расщеплению 3:1; убедиться, что данное скрещивание - моногибридное.

3. Скрещивание мух с ярко-красными (*scarlet*) и коричневыми (*brown*) глазами.

3.1. Составить схему третьего скрещивания, определить теоретически ожидаемое расщепление.

3.2. Отобрать 2-3 виргинные самки *brown* и поместить в стаканчик со средой с 3-4 самцами линии *scarlet*.

3.3. Дождаться массового вылупления мух F_1 (через 10-12 суток после постановки скрещивания), усыпить и проанализировать. Следует убедиться, что все мухи имеют красные глаза, т.е. установить факт проявления нового признака. Результаты записать в таблицу 6.3.

Таблица 6.3

**Результаты гибридологического анализа при скрещивании
дрозофил линий *scarlet* и *brown***

Линии или гибриды	Проанализировано особей					Расщепление	
	Всего	В том числе				Теорети- чески ожидаемое	Фактиче- ски полученное
		с красными глазами	с ярко- красными глазами	с коричневыми глазами	с белыми глазами		
Гибриды F_1							
Гибриды F_2							

3.4. Среди гибридов F_1 следует отобрать 2-3 женские особи и 3-4 мужских и поместить их в чистые пробирки с питательной средой для получения F_2 .

3.5. Через 10-12 дней усыпить и проанализировать мух F_2 . Необходимо разбить потомство на четыре фенотипических класса (мухи красными глазами, с ярко-красными, коричневыми и белыми глазами), установить явление расщепления и появления ещё одного новообразования. Подсчитать мух в каждом классе, занести результаты в таблицу 6.3.

3.6. Провести статистическую обработку результатов методом χ^2 и доказать их соответствие расщеплению 9:3:3:1; убедиться, что данное скрещивание - дигибридное.

4. Познакомиться с результатами скрещиваний № 1, № 2 и № 3 у товарищей по группе и записать результаты в таблицы 6.1, 6.2, 6.3.

5. Сформулировать общие выводы о характере наследования изученных мутаций, определяющих цвет глаз у дрозофилы.

**Комплект задач по теме «Генетический анализ при взаимодействии
неаллельных генов»**

1. От скрещивания самок дрозофилы, имеющих коричневые глаза, с самцами, имеющими ярко-красные глаза, в F_1 получено красноглазое потомство. В F_2 наблюдалось следующее расщепление: 128 с ярко-красными глазами, 40 с белыми глазами, 383 с красными глазами, 121 с

коричневыми глазами. Определите генотипы родителей и потомства и объясните полученные результаты.

2. В распоряжении исследователя имеются две линии дрозофилы: одна, имеющая ярко-красную, вторая – коричневую окраску глаз. Линии отличаются друг от друга по двум неаллельным рецессивным генам, наследующимся независимо. Как исследователю можно получить гомозиготную линию с дикой окраской глаз?

3. У дрозофилы при трансплантации глазных имажинальных дисков на личиночной стадии в реципиентных организмах они развиваются в окрашенные глазные структуры, расположенные на брюшке мух. Бидл и Эфрусси проводили эксперименты по пересадке имажинальных дисков с использованием трех линий дрозофилы: линии 1 дикого типа, линии 2 с ярко-красной окраской глаз – *v* (*vermilion*, I) и линии 3 – *cn* (*cinnabar*, II). Были получены следующие результаты:

Донор	Реципиент	Окраска добавочного глаза
<i>v/v</i>	<i>v/v</i>	ярко-красная
<i>cn/cn</i>	<i>cn/cn</i>	ярко-красная
<i>v/v</i>	Дикий тип (<i>v⁺/v⁺</i> ; <i>cn⁺/cn⁺</i>)	дикого типа
<i>cn/cn</i>	Дикий тип (<i>v⁺/v⁺</i> ; <i>cn⁺/cn⁺</i>)	дикого типа
<i>cn/cn</i>	<i>v/v</i>	ярко-красная
<i>v/v</i>	<i>cn/cn</i>	дикого типа

Объясните полученные данные. Приведите скрещивания, подтверждающие выдвинутые предположения.

4. У дрозофилы доминантный аллель гена *H* уменьшает число щетинок на теле. В гомозиготном состоянии он летален. Доминантный аллель гена *S* вызывает формирование звездчатой формы глаз, обладает рецессивным летальным действием и супрессирует морфологическое проявление аллеля *H* (особи *H-S* имеют нормальное число щетинок). Какое расщепление будет наблюдаться в потомстве особей с нормальным количеством щетинок, супрессированным аллелем *H* и звездчатыми глазами? Какой результат ожидается в возвратном скрещивании «бесщетиновых» гибридов *F*₁ с родительскими особями с нормальным числом щетинок?

5. При скрещивании лабораторной линии дрозофилы, имеющей коричневые глаза, с другой линией, имеющей ярко-красные глаза, все потомство *F*₁ имело нормальные темно-красные глаза (дикий фенотип). Во втором поколении было обнаружено: 110 мух с нормальными глазами, 42 – с коричневыми, 38 – с ярко-красными и 12 – с белыми глазами. Объясните появление в *F*₂ белоглазых мух. Составьте схему скрещивания. Определите характер взаимодействия генов и дайте характеристику действия каждого из них в процессе образования глазных пигментов у дрозофилы.

6. При скрещивании двух генетически различных линий дрозофилы, имеющих ярко-красные глаза, в первом поколении все особи оказались с

темно-красными глазами (дикий тип), а во втором поколении наблюдалось расщепление: 100 мух с нормальными глазами и 75 – с ярко-красными. Сколько генов определяет цвет глаз в данном скрещивании? Что будет, если скрестить мух с нормальными глазами из первого поколения с дрозфилами одной из родительских линий?

7. При скрещивании линии дрозофил с ярко-красными глазами с линией, имеющей пурпурную окраску глаз, в первом поколении все особи оказались с нормальными глазами красного цвета, а в F₂ произошло расщепление: 39 частей с красными глазами, 13 частей с ярко-красными, 9 – с пурпурными и 3 – с оранжевыми глазами. Объясните полученное расщепление. Напишите генотипы родительских линий и потомков обоих поколений.

8. Ниже приведены результаты двух реципрокных скрещиваний на дрозофиле:

I опыт			
Прямое		Обратное	
P	♀ ярко-красные глаза (из линии 1) × ♂ дикого типа	P	♀ дикого типа × ♂ ярко-красные глаза (из линии 1)
F ₁	♀ и ♂ дикого типа	F ₁	♀ и ♂ дикого типа
II опыт			
Прямое		Обратное	
P	♀ ярко-красные глаза (из линии 2) × ♂ дикого типа	P	♀ дикого типа × ♂ ярко-красные глаза (из линии 2)
F ₁	♀ дикого типа ♂ с ярко-красными глазами	F ₁	♀ и ♂ дикого типа

Каков характер наследования в этих скрещиваниях? Можно ли на основании этих данных определить число генов, контролирующих окраску глаз?

ТЕМА 5. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДИГИБРИДНОГО СКРЕЩИВАНИЯ

Скрещивание особей, различающихся двумя парами альтернативных признаков, получило название *дигибридного*. Если признаков больше двух, то скрещивание называют *полигибридным*. Гены, отвечающие за развитие этих признаков, должны быть неаллельными, т.е. находиться в разных парах хромосом. Тогда при скрещивании двух чистых линий, отличающихся двумя парами альтернативных признаков, дигетерозиготные гибриды первого поколения, в соответствии с 1-ым законом Менделя, будут единообразные и по генотипу, и по фенотипу. Признаки, проявившиеся у гибридов первого поколения, являются доминантными. Во втором поколении расщепление по двум признакам составит 9А-В-(особи с двумя доминантными признаками):3А-bb (особи с

доминантным признаком А):3ааВ- (особи с доминантным признаком В):1ааbb (особи с рецессивными признаками).

Если подсчитать количество особей по каждой паре признаков отдельно, то окажется, что соотношение 9А-В- + 3А-bb + 3ааВ- + 1ааbb соответствует независимой комбинации результатов двух скрещиваний (3А- + 1аа) x (3В- + 1 bb). Очевидно, что в дигибридном скрещивании каждая пара признаков при расщеплении в потомстве ведет себя так же, как в моногибридном скрещивании, т.е. независимо от другой пары признаков. То есть и задатки признаков этих пар комбинируются независимо. Таким образом, Мендель объективно установил существование 3-го закона наследования – **закона независимого комбинирования признаков** – при скрещивании 2-х гомозиготных особей, различающихся по 2-ум парам альтернативных признаков, гены и соответствующие им признаки наследуются независимо друг от друга и комбинируются во всех возможных сочетаниях. Непременное условие свободной рекомбинации генов в F₂ при дигибридном скрещивании – локализация их в разных хромосомах.

Лабораторная работа № 7. Дигибридное скрещивание у дрозофилы

Цель работы: изучить закономерности дигибридного скрещивания признаков на примере наследования мутаций black и white у *Drosophila melanogaster*,

Задачи:

1. Составить схему скрещивания линий black и white.
2. Определить теоретическое расщепление у гибридов второго поколения.
3. Осуществить скрещивание дрозофил линий black и white .
4. Провести статистический анализ полученных данных с использованием метода χ^2 .

Биологический материал: линии *Drosophila melanogaster* black (черное тело, красные глаза) и white (серое тело, белые глаза).

Оборудование: стаканчики или широкие пробирки диаметром 4 см со свежеприготовленной средой; ватные пробки; эфир и морилки; молочно-белое стекло; лупа; пинцеты; кисти.

Ход работы:

1. Проведите наркотизацию мух. Правила наркотизации приведены в лабораторной работе №1.
2. Изучите и опишите морфологию линий дрозофилы black и white, пользуясь данными лабораторной работы №2. Обратите особое внимание, что изучаемые мутации при дигибридном скрещивании должны быть локализованы в разных гомологичных парах хромосом.
3. Постановка скрещивания дрозофилы.

3.1. Отобрать 2-3 виргинные самки black и поместить в стаканчик со средой с 3-5 самцами white. Провести обратное скрещивание.

3.2. Через 10-12 суток после постановки скрещивания, когда в стаканчике начнется массовое вылупление мух F_1 , их следует усыпить и проанализировать. Все они как при прямом, так и при обратном скрещивании будут иметь нормальную серую окраску тела и нормальный цвет глаз. Результаты подсчета следует записать в таблицу 6.1.

3.3. Среди гибридов F_1 следует отобрать по 2-3 женские особи и по 5-6 мужских и поместить их в чистые пробирки с питательной средой для получения F_2 .

Таблица 7.1.

Результаты гибридологического анализа при дигибридном скрещивании ♀ black и ♂ white

Линии и гибриды	Получено мух					Расщепление	
	Всего	В том числе				Теоретически ожидаемое	Фактически полученное
		Normal	black	white	black, white		
♀ black ♂ white F_1 black x white F_2 black x White							

3.4. Через 10-12 дней в стаканчиках начнется массовое вылупление мух F_2 . Их следует усыпить в эфиризаторе и анализировать на матово-белом стекле. При внимательном осмотре определить и подсчитать мух с красными глазами и серым телом, затем мух с красными глазами и черным телом, с белыми глазами и серым телом и с белыми глазами и черным телом. Результаты занести в таблицу 7.1.

4. Анализ наследования мутации black (черное тело)

4.1. Проанализируйте число потомков первого и второго поколения относительно цвета тела (таблица 7.1).

4.2. Составьте схемы реципрокных скрещиваний и определите ожидаемое расщепление по генотипу и фенотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая только цвет тела особей (см. лабораторная работа №4).

4.3. Проведите статистическую проверку гипотезы.

4.4. Сформулируйте выводы относительно характера наследования мутации black.

5. Анализ наследования мутации white (белые глаза)

5.1. Проанализируйте число потомков первого и второго поколения относительно цвета глаз (таблица 7.1).

5.2. Составьте схемы рецiproкных скрещиваний и определите ожидаемое расщепление по генотипу и фенотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая только цвет глаз особей (см. лабораторная работа №7).

5.3. Проведите статистическую проверку гипотезы.

5.4. Сформулируйте выводы относительно характера наследования мутации white.

6. Анализ результатов дигибридного скрещивания дрозофилы (на примере наследования мутаций black и white).

6.1. Составьте схему скрещивания и определите ожидаемое расщепление по фенотипу и генотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая рецессивный характер мутаций black и ♂ white. Сформулируйте нулевую гипотезу о характере наследования данной мутации.

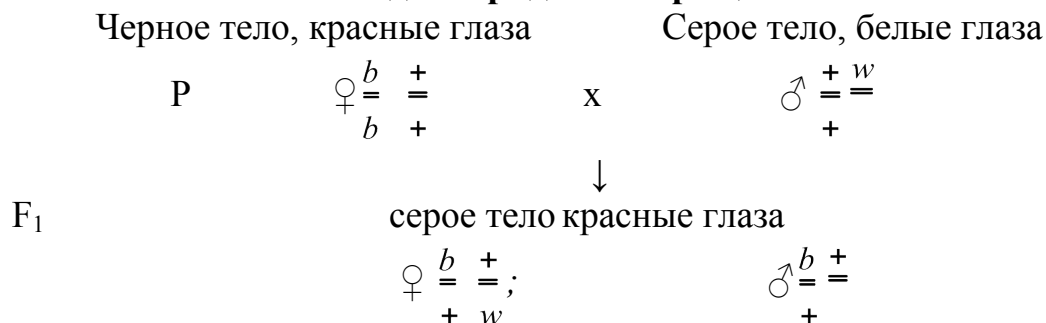
6.2. Пользуясь таблицей 7.1, проанализируйте фенотипы гибридов первого поколения относительно цвета тела и глаз. Все они обладают диким фенотипом – имеют серое тело и красные глаза.

6.3. Проанализируйте фенотипы гибридов второго поколения относительно цвета тела и глаз. Согласно 3-му закону Менделя 9/16 гибридов второго поколения будут обладать диким фенотипом (серое тело и красные глаза), у 3/16 гибридов проявится одна рецессивная мутация (черное тело, красные глаза), у 3/16 другая рецессивная мутация (белые глаза, серое тело) и 1/16 потомков будут нести обе рецессивные мутации (черное тело, белые глаза).

6.4. Определите величину χ^2 по результатам дигибридного скрещивания. Помните, что число генотипических классов в этом случае составит 16, а число степеней свободы - 3.

6.5. Сформулируйте общие выводы о характере наследования изученных мутаций при дигибридном скрещивании.

Схема дигибридного скрещивания



Гаметы ♂	$\underline{b} \quad \pm$	$\pm \quad \pm$	$\pm$	$\underline{b}$
♀	$\underline{b} \quad \pm$	$\frac{b}{+} \frac{+}{+} \text{♀} b$	$\frac{b}{+} \frac{+}{+} \text{♀} N$	$\frac{b}{+} \frac{+}{+} \text{♂} b$

F_2	$\underline{b} \quad \underline{w}$	$\begin{array}{c} b \ w \\ = = \text{♀} b \\ b + \end{array}$	$\begin{array}{c} b \ w \\ = = \text{♀} N \\ + + \end{array}$	$\begin{array}{c} b \ w \\ = \text{♂} w \\ + \end{array}$	$\begin{array}{c} b \ w \\ = = \text{♂} bw \\ b \end{array}$
	$\pm \quad \pm$	$\begin{array}{c} b + \\ = = \text{♀} N \\ + + \end{array}$	$\begin{array}{c} + + \\ = = \text{♀} N \\ + + \end{array}$	$\begin{array}{c} + + \\ = = \text{♂} N \\ + \end{array}$	$\begin{array}{c} + + \\ = = \text{♂} N \\ b \end{array}$
	$\pm \quad \underline{w}$	$\begin{array}{c} b \ w \\ = = \text{♀} N \\ + + \end{array}$	$\begin{array}{c} + \ w \\ = = \text{♀} N \\ + + \end{array}$	$\begin{array}{c} + \ w \\ = = \text{♂} w \\ + \end{array}$	$\begin{array}{c} + \ w \\ = = \text{♂} w \\ b \end{array}$

Расщепление по признакам: 9 Normal : 3 black : 3 white : 1 black, white

Комплект задач по теме «Генетический анализ дигибридного скрещивания»

1. Рecessивные признаки обрезанный края крыла и редуцированная крыловая пластинка у дрозофилы контролируются независимо наследуемыми генами. Как сконструировать линию, гомозиготную по обоим генам?

2. У мухи серая окраска тела доминирует над черной (black). Прерванное поперечное жилкование крыльев (detached) является recessивным признаком, а нормальное жилкование – доминантным. Муху с серой окраской тела и прерванным жилкованием скрестили с мухой с черным телом и нормальным жилкованием. Каких мух следует ожидать в результате этого скрещивания?

3. Скрестили двух мух со следующими признаками: черное тело и нормальные крылья, серое тело и крылья в форме лыж (ski). В F_1 все мухи имели серое тело и нормальные крылья. В F_2 наблюдалось следующее расщепление: 24 мухи имели черное тело и крылья с мутацией ski, 70 – черное тело и нормальные крылья, 73 – серое тело и крылья в форме лыж, 210 – серое тело и нормальные крылья. Определите генотипы исходных форм и потомства F_1 и F_2 .

4. Правильное расположение фасеток у дрозофилы – recessивный признак, звездчатые глаза (Star) – доминантный. Серая окраска тела доминирует над черной (black). Какими признаками будут обладать гибридные особи от скрещивания гомозиготных мух с нормальными глазами и серой окраской тела и черных мух со звездчатыми глазами?

5. Особи дрозофил с мутацией Cat (грубые глаза) в гомозиготном состоянии летальны. Черная окраска тела – recessивный признак. Какое следует ожидать потомство от скрещивания между собой гетерозиготных мух с серым телом и грубыми глазами?

6. Муху дрозофилы с серым телом и грубыми глазами (Cat) скрестили с мухой с черным телом (black) и нормальными глазами. Какими будут особи в F_1 ?

7. При скрещивании мух с нормальной формой крыльев и нормальными глазами с мухами, обладающими зачаточными крыльями (vestigial) и нормальными глазами получены мухи с нормальными

крыльями. Однако у некоторых и особей F_1 были стекловидные глаза (glass). Объясните данное явление. Каковы генотипы родителей и гибридов F_1 ?

8. При скрещивании мух с серой окраской тела и красными глазами и мух с желтым телом (yellow) и розовыми глазами (rose) получили следующее потомство мух: серое тело и красные глаза, серое тело и розовые глаза, желтое тело и абрикосовые глаза, желтое тело и красные глаза. Определите генотипы родителей и потомства. Определите соотношение фенотипических классов у потомства.

9. Скрещиваются две дрозофилы дикого типа. В потомстве, полученном от этого скрещивания, обнаружены следующие фенотипы: с закрученными вверх крыльями и укороченными щетинками; закрученными вверх крыльями и нормальными щетинками; с нормальными крыльями и укороченными щетинками; с нормальными крыльями и нормальными щетинками (дикий тип). Объясните результат. Определите генотипы исходных мух и потомства.

10. Четверо исследователей, независимо друг от друга, скрестили мушек дрозофил, имеющих черное тело, с особями с зачаточными крыльями. В F_2 от скрещивания этих двух генетически различающихся линий они получили следующие результаты:

Фамилия исследователя	Расщепление по фенотипу в F_2				Всего
	серое тело, нормальные крылья	серое тело, зачаточные крылья	черное тело, нормальные крылья	черное тело, зачаточные крылья	
Иванов	273	92	90	31	486
Степанов	190	48	45	12	295
Сидоров	269	64	83	24	440
Федоров	42	23	22	5	70

Один ли и тот же процесс изучали исследователи? Проверьте их результаты на однозначность, используя χ^2 в качестве критерия однородности. Какую генетическую закономерность, и с какой вероятностью иллюстрируют данные эксперименты?

ТЕМА 6. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ

Т. Морган сформулировал закон сцепления, согласно которому гены, локализованные в одной хромосоме, наследуются совместно, так как в мейозе они обязательно попадают в одну гамету. Число групп сцепления соответствует гаплоидному числу хромосом данного вида. У дрозофилы изучено более 500 генов. Все они локализованы в 4 парах хромосом.

Сцепленное наследование генов, находящихся в одной хромосоме, нарушается вследствие конъюгации гомологичных хромосом и обмена участками между ними (кроссинговера) в мейозе с последующим соединением их в местах разрыва. В результате кроссинговера происходит

перегруппировка исходных признаков. Так, у мух гены, определяющие черную окраску тела (black) и зачаточные крылья (vestigial), находятся во второй хромосоме и наследуются совместно. Тогда потомки от анализирующего скрещивания гетерозиготных гибридов должны быть представлены только двумя классами, повторяющими фенотип родительских особей – серое тело и нормальные крылья и черное тело и зачаточные крылья. Но среди F_1 могут появиться мухи с новыми фенотипами, что свидетельствует об обмене генов у гетерозиготной особи вследствие перекреста хромосом.

Гаметы, зиготы и взрослые особи, возникшие в результате перекреста хромосом, называются кроссоверными или кроссоверами. Число кроссоверных особей свидетельствует о величине расстояния между данными генами в хромосоме: чем больше кроссоверных особей, тем дальше гены расположены в хромосоме один от другого.

Наличие перекреста между генами принято обозначать вертикальной линией. Например, кроссинговер между генами b и vg обозначают как b/vg .

Величину перекреста вычисляют в процентах к общему числу потомков в данной комбинации. Мерой расстояния между генами является отрезок хромосомы, в пределах которого наблюдается 1 % кроссинговера. Это расстояние называется единицей перекреста, или морганидой.

Лабораторная работа № 8. Наследование мутаций black и vestigial

Цель работы: изучить закономерности совместного наследования признаков при полном сцеплении генов и кроссинговере.

Задачи:

1. Познакомиться с явлениями сцепления и кроссинговера.
2. Изучить линии дрозофил с черной окраской тела (black) и зачаточными крыльями (vestigial)
3. Провести скрещивание ♀ Normal x ♂ $b-vg$, ♀ F_1 x ♂ $b-vg$.
4. Составить схему теоретически ожидаемого расщепления при полном сцеплении генов и кроссинговере.
5. Проанализировать F_1 и поставить их на скрещивание для получения F_2 .
6. Получить мух F_2 и проанализировать их.

Биологический материал: линии *Drosophila melanogaster* Normal (серое тело, нормальные крылья), $b-vg$ (черное тело, зачаточные крылья).

Оборудование: стаканчики или широкие пробирки диаметром 4 см со свежеприготовленной средой; ватные пробки; эфир и морилки; молочно-белое стекло; лупа; пинцеты; кисти.

Ход работы:

1. Проведите наркотизацию мух. Правила наркотизации приведены в лабораторной работе №1.

2. Изучите и опишите морфологию линий дрозофилы black- vestigial, пользуясь данными лабораторной работы №2. Обратите особое внимание, что изучаемые мутации при изучении сцепленного наследования должны быть локализованы в одной гомологичной паре хромосом.

3. Постановка скрещивания дрозофилы.

3.1. Отобрать 2-3 виргинные самки Normal и поместить в стаканчик со средой с 3-5 самцами black-vestigial.

3.2. Через 10-12 суток после постановки скрещивания, когда в стаканчике начнется массовое вылупление мух F_1 , их следует усыпить и проанализировать. Все они будут иметь нормальную серую окраску тела и нормальные крылья. Результаты подсчета следует записать в таблицу 8.1.

Таблица 8.1

Анализ гибридов Normal x black-vestigial при неполном сцеплении признаков

Линии и гибриды	Получено мух					Расщепление	
	Всего	В том числе				Теоретически ожидаемое	Фактически полученное
		Normal	black-vestigal	black	vestigal		
♀ Normal ♂ black-vestigal F ₁ Normal x black-vestigal F _b F ₁ black x vestigal							

3.3. Отобрать среди гибридов F_1 по 2-3 женские особи и поместить в стаканчик со средой с 3-5 самцами black-vestigial для проведения анализирующего скрещивания.

3.4. Через 10-12 дней в стаканчиках начнется массовое вылупление потомков анализирующего скрещивания F_2 . Их следует усыпить и анализировать на матово-белом стекле. При внимательном осмотре определить и подсчитать мух с нормальными крыльями и серым телом, затем мух с нормальными крыльями и черным телом, с зачаточными крыльями и серым телом, с зачаточными крыльями и черным телом. Результаты занести в таблицу 8.1.

4. Анализ сцепленного наследования мутаций black и vestigial у дрозофилы.

4.1. Составьте схемы скрещивания и определите ожидаемое расщепление по фенотипу и генотипу у гибридов первого поколения и потомков анализирующего скрещивания при полном сцеплении генов.

Теоретически ожидаемые расщепления в случае полного сцепления генов

$$\begin{array}{lcl}
 & \text{♀ Normal} \times \text{♂ black vestigial} & \\
 \text{PP} & \text{♀ } \frac{++}{++} \times \text{♂ } \frac{b\text{ }vg}{b\text{ }vg} & \\
 \text{Гаметы PP} & ++ \quad b\text{ }vg & \\
 \text{F}_1 & \text{♀ } \frac{++}{b\text{ }vg} \times \text{♂ } \frac{b\text{ }vg}{b\text{ }vg} & \\
 \text{Гаметы PP} & \text{♀ } ++ \quad b\text{ }vg \quad \text{♂ } b\text{ }vg & \\
 \text{Fa} & \frac{++}{b\text{ }vg} \text{Equation.3} ; \quad \frac{b\text{ }vg}{b\text{ }vg} \text{Equation.3} & \\
 \text{Расщепление: } & 1 \text{ Normal} : 1 \text{ black-vestigial} &
 \end{array}$$

4.2. Пользуясь таблицей 8.1, проанализируйте фенотипы гибридов первого поколения относительно цвета тела и длины крыльев. Все они обладают диким фенотипом – имеют серое тело и нормальные крылья.

4.3. Проанализируйте фенотипы потомков анализирующего скрещивания относительно цвета тела и длины крыльев. Хотя в соответствии с полным сцеплением при анализирующем скрещивании должно быть только два класса мух – Normal и black-vestigial, обычно в небольшом количестве оказываются особи и других классов – black и vestigial. Появление в анализирующем скрещивании двух дополнительных классов мух свидетельствует о том, что в мейозе у самок произошел кроссинговер между гомологичными хромосомами второй пары хромосом, в которой локализованы гены black и vestigial.

4.4. Составьте схему скрещивания гетерозиготной самки Normal с самцом black-vestigial с учетом кроссинговера.

$$\begin{array}{lcl}
 \text{P} & \text{♀ } \frac{++}{b\text{ }vg} \text{Equation.3} \times \text{♂ } & \\
 & \frac{b\text{ }vg}{b\text{ }vg} \text{Equation.3} & \\
 \text{Гаметы PP} & \text{♀ } ++ \quad b\text{ }vg \text{ некроссоверные} \quad \text{♂ } b\text{ }vg & \\
 & \quad b\text{ }+ \quad +vg \text{ кроссоверные} & \\
 \text{Fa} & \frac{++}{b\text{ }vg} \text{Equation.3} ; \quad \frac{b\text{ }vg}{b\text{ }vg} \text{Equation.3} ; & \text{некроссоверные} \\
 & (>50\%) &
 \end{array}$$

$$\frac{b}{bvg} \text{Equation.3} ; \quad \frac{+vg}{bvg} \text{Equation.3} ; \text{ кроссоверные}$$

(<50%)

4.5. Определите величину кроссинговера между генами black и vestigal как отношение кроссоверных особей к общему числу потомков от скрещивания. Помните, что кроссинговер не может превышать 50%.

4.6. Сформулируйте выводы о характере наследования мутаций black и vestigal у дрозофилы. Оцените расстояние между этими генами в морганидах (1 морганида соответствует 1% кроссинговера).

Комплект задач по теме «Генетический анализ сцепленного наследования признаков»

1. У дрозофилы рецессивный ген cut (ct), обуславливающий вырезку на крыльях, и рецессивный ген tan (t), обуславливающий темную окраску тела, сцеплены с полом. Можно ли установить расстояние между этими генами, скрещивая гетерозиготную самку с самцом, доминантным по обоим признакам? Объясните, какое скрещивание следует поставить для определения расстояния между этими генами. Определите генотипы мух во всех скрещиваниях.

2. При скрещивании самок дрозофилы серым телом и нормальными щетинками с самцом, имеющим желтое тело и расщепленные щетинки, в F₁ и самки, и самцы имеют серое тело и нормальные щетинки. В F₁ обратного скрещивания наблюдается крисс-кросс наследование по обоим признакам, а в F₂ получили многочисленное потомство, среди которого 3% особей имели серое тело и расщепленные щетинки или желтое тело и нормальные щетинки. Как это можно объяснить? Как наследуются признаки? Определите генотипы исходных мух и гибридов F₁ прямого и обратного скрещиваний.

3. В F₂ от скрещивания нормальной самки дрозофилы с самцом, имевшим черное тело и загнутые вверх крылья, было получено 87 чернотелых мух с загнутыми вверх крыльями и 269 нормальных. Как наследуются признаки? Объясните полученные результаты, определите генотипы исходных мух и генотип и фенотип гибридов F₁.

4. Гомозиготная по гену cinnabar (cn, ярко-красные глаза) самка скрещена с самцом black (b, черное тело). Какое расщепление можно ожидать в F₂ и анализирующем скрещивании, если расстояние между генами равно 10 морганидам?

5. У дрозофилы белые глаза и скомканные крылья обусловлены рецессивными генами, локализованными в половой хромосоме. Расстояние между ними 15% кроссинговера. Каким будет потомство от скрещивания гомозиготной красноглазой длиннокрылой самки дрозофилы с белоглазым комкокрылым самцом? Каким будет потомство от скрещивания самца F₁ с белоглазой комкокрылой самкой?

6. У дрозофилы ген киноварной окраски глаз находится в локусе 33, а ген рассеченного крыла в локусе 65 X-хромосомы. Оба признака - киноварная окраска глаз и рассеченное крыло – рецессивны. Гомозиготная самка с киноварными глазами и нормальными крыльями была скрещена с самцом, имевшим нормальную окраску глаз и рассеченные крылья. Определите генотипы и соотношение фенотипов (по самцам и самкам отдельно) в F_1 и F_2 .

7. У дрозофилы доминантный ген, определяющий «лопастную» форму глаз, располагается в той же аутосоме, что и рецессивный ген укороченности тела. Гомозиготную самку с укороченным телом и «лопастными» глазами скрестили с нормальным самцом. Какими окажутся гибриды первого поколения, и каким будет потомство F_2 , если расстояние между генами равно 0.5% кроссинговера?

8. У дрозофилы рецессивные признаки – срезанные крылья и гранатовые глаза – сцеплены между собой. Доминантные аллели этих генов обуславливают нормальную длину крыльев и красную окраску глаз. В одном опыте было получено следующее потомство F_2 :

	Самцы		Самки
106	с красными глазами и длинными крыльями	26	с красными глазами и длинными крыльями
98	с красными глазами и со срезанными крыльями	77	с гранатовыми глазами и длинными крыльями
204		75	с красными глазами и со срезанными крыльями
		22	с гранатовыми глазами и со срезанными крыльями
		200	

В какой хромосоме – в половой или аутосоме – локализованы гены? Определите генотипы родителей и расстояние между генами.

9. Ниже приведены результаты двух скрещиваний на дрозофиле:

1. Самка черная с длинными крыльями × самец серый с короткими крыльями; самки F_1 × самцы черные с короткими крыльями:

F_a : 272 серые с длинными крыльями
 774 черные с длинными крыльями
 801 серые с короткими крыльями
 239 черные с короткими крыльями
 2086

2. Самка черная с короткими крыльями × самец дикого типа; самки F_1 × самцы черные с короткими крыльями:

F_a : 360 серые с длинными крыльями
 103 черные с длинными крыльями
 97 серые с короткими крыльями
 314 черные с короткими крыльями
 874

Как наследуются признаки? Определите генотипы исходных мух, генотип и фенотип самок F_1 в обоих скрещиваниях. Чем объясняется разница между этими скрещиваниями?

10. Ниже приведены результаты двух скрещиваний на дрозофиле:

1. Самка черная с дуговидными крыльями $\times$ самец серый прямокрылый:

самки $F_1 \times$ самец черный с дуговидными крыльями. От этого скрещивания получено следующее расщепление:

1641	серые прямокрылые
1180	черные прямокрылые
1251	серые с дуговидными крыльями
1532	черные с дуговидными крыльями
5604	

2. Самка черная с прямокрылая $\times$ самец серый с дуговидными крыльями:

самки $F_1 \times$ самец черный с дуговидными крыльями. От этого скрещивания получено следующее расщепление:

281	серые прямокрылые
335	серые с дуговидными крыльями
336	черные прямокрылые
239	черные с дуговидными крыльями
1191	

Как наследуются признаки? Определите генотип исходных мух и F_1 . Чем можно объяснить разницу результатов в этих скрещиваниях?

11. От скрещивания самцов дрозофилы с темно-коричневыми глазами и волосатым телом с самками дикого типа в F_1 все мухи были дикого типа. В возвратном скрещивании самок из F_1 с исходным самцом получили расщепление: 1264 мухи дикого типа, 8 – красными глазами и волосатым телом, 5 – с темно-коричневыми глазами и нормальным телом и 1277 с темно-коричневыми глазами и волосатым телом. Как наследуются признаки? Определите генотипы исходных мух и гибридов F_1 . Какое расщепление вы ожидаете получить в потомстве от скрещивания гибридов F_1 между собой?

ТЕМА 7. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЦЕПЛЕННОГО С ПОЛОМ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ

Признаки, гены которых локализованы на половых хромосомах, называют **признаками, сцепленными с полом**. Закономерности наследования этих признаков определяются особенностями наследования самих половых хромосом. У большинства живых организмов (в том числе человек и дрозофила) самки являются гомогаметным полом: они содержат две одинаковые X хромосомы. Самцы гетерогаметны, они содержат две хорошо различимые по строению хромосомы: X и Y. Наследование пола осуществляется по следующей схеме:

Р	♀XX		♂XY
Яйцеклетки	x		Сперматозоиды
X			X, Y
F ₁		Зиготы	
	♀♀XX		♂♂XY

Гомогаметные по половым хромосомам самки образуют только один тип гамет X, а гетерогаметные самцы образуют 2 типа гамет – X и Y. В результате оплодотворения образуются самцы с генотипом XY и самки с генотипом XX. Такой механизм наследования пола обеспечивает наличие в популяции одинакового числа мужских и женских особей.

В X-хромосоме локализован ряд генов, которые, следовательно, наследуются сцепленно с полом. Учитывая, что у самцов Y-хромосома таких генов не содержит, всякий ген, локализованный в X-хромосоме, независимо от того, доминантный он или рецессивный, проявляется так, как будто он находится в гомозиготном состоянии. Подобное состояние называется *гемизиготным*. Например, все самцы дрозофилы, у которых в X-хромосоме локализован рецессивный ген *white*, будут белоглазыми.

Для изучения наследования признаков, сцепленных с полом, рекомендуется взять мух с генотипом Normal и скрещивать с рецессивным мутантом *white* (ген *white* локализован на X-хромосоме). В F₁ и в F₂ отношение мужских и женских особей будет одинаково – 1:1, наследование окраски глаз зависит от генотипов материнской и отцовской особей. При скрещивании, когда материнская особь Normal, а отцовская *white*, все мухи F₁ имеют красные глаза, присущие материнским особям. В F₂ по окраске глаз наблюдается расщепление 3:1. Причем, все самки имеют красные глаза, а у самцов 50% особей красноглазых и 50% - белоглазых. При обратном скрещивании белоглазых самок с красноглазыми самцами в F₁ все самки имеют красные глаза, а самцы - белые. В F₂ по окраске глаз наблюдается расщепление 1:1. Причем, как у самок, так и у самцов 50% имеют красные, 50% - белые глаза.

Лабораторная работа №9. Наследование мутации *white*

Цель работы: изучить закономерности наследования признаков, сцепленных с полом на примере наследования мутации *white* у дрозофилы.

Задачи:

1. Познакомиться с определением пола у дрозофилы.
2. Провести скрещивание ♀Normal x ♂*white*, ♂Normal x ♀*white*.
3. Составить схему теоретически ожидаемого расщепления.
4. Проанализировать F₁ и поставить их на скрещивание для получения F₂.
5. Получить мух F₂ и проанализировать их.

Биологический материал: линии *Drosophila melanogaster* Normal (красные глаза), *white* (белые глаза).

Оборудование: стаканчики или широкие пробирки диаметром 4 см со свежеприготовленной средой; ватные пробки; эфир и морилки; молочно-белое стекло; лупа; пинцеты; кисти.

Ход работы:

1. Постановка скрещивания дрозофилы.

1.1. Отобрать 2-3 виргинные самки white и поместить в стаканчик со средой с 3-4 самцами линии Normal.

1.2. Отобрать 2-3 виргинные самки Normal и поместить в стаканчик со средой с 3-4 самцами white.

1.3. Через 10-12 суток после постановки скрещивания, когда в стаканчике начнется массовое вылупление мух F_1 , их следует усыпить и проанализировать. Сначала отделяют самцов от самок, а затем подсчитывают число белоглазых и красноглазых особей в каждой группе. Результаты подсчета следует записать в таблицу.

1.4. Среди гибридов F_1 следует отобрать 2-3 женские особи и 3-4 мужских и поместить их в чистые пробирки с питательной средой для получения F_2 .

1.5. Через 10-12 дней в стаканчиках начнется массовое вылупление мух F_2 . Их следует усыпить и анализировать на матово-белом стекле. Результаты занести в таблицу 8.1.

2. Анализ наследования мутации white у дрозофилы.

2.1. Составьте схему скрещивания и определите ожидаемое расщепление по фенотипу и генотипу у гибридов первого и второго поколения от прямого и обратного скрещивания, учитывая рецессивный характер мутации white.

Прямое скрещивание

P $\text{♀ } X^+X^+$ (Normal) x $\text{♂ } X^aY$ (white)

F_1 : $\text{♀ } X^+X^a$ (Normal), $\text{♂ } X^+Y$ (Normal)

F_2 : $\text{♀ } X^+X^+$ (Normal), $\text{♀ } X^+X^a$ (Normal), $\text{♂ } X^+Y$ (Normal), $\text{♂ } X^aY$ (white)
3 Normal : 1 white (♂)

Обратное скрещивание

P $\text{♀ } X^aX^a$ (white) x $\text{♂ } X^+Y$ (Normal)

F_1 : $\text{♀ } X^+X^a$ (Normal), $\text{♂ } X^aY$ (white)

Расщепление 1 Normal (♀) : 1 white (♂)

F_2 : $\text{♀ } X^aX^a$ (white), $\text{♀ } X^+X^a$ (Normal), $\text{♂ } X^+Y$ (Normal), $\text{♂ } X^aY$ (white)

Расщепление 1 Normal : 1 white

2.2. Сформулируйте нулевую гипотезу о характере наследования данной мутации. В прямом скрещивании, когда материнская особь Normal, а отцовская white, все мухи F_1 имеют красные глаза, а у гибридов F_2 наблюдается расщепление в соотношении 3:1. Причем, все самки имеют красные глаза, а у самцов 50% особей красноглазых и 50% - белоглазых. При обратном скрещивании белоглазых самок с красноглазыми самцами в F_1 все самки имеют красные глаза, а самцы - белые. В F_2 по окраске глаз

наблюдается расщепление 1:1. Причем, как у самок, так и у самцов 50% имеют красные, 50% - белые глаза.

2.3. Пользуясь методом соответствия (χ^2) найдите теоретически ожидаемое число потомков каждого фенотипического класса у гибридов первого поколения (обратное скрещивание) и второго поколения и определить величину χ^2 .

2.4. Сформулируйте выводы о правильности нулевой гипотезы о характере наследования мутации white.

Таблица 9.1

Результаты гибридологического анализа при наследовании признаков, сцепленных с полом

Линии и гибриды	Проанализировано мух					Расщепление по окраске глаз	
	всего о	В том числе				Теоретически ожидаемое	Фактически полученное
		♀	♂	Normal	white		
Прямое скрещивание							
♀ Normal ♂ white F ₁ Normal x white: самки самцы F ₂ Normal x white: самки самцы							
Обратное скрещивание							
♀ white ♂ Normal F ₁ white x Normal: самки самцы F ₂ white x Normal: самки самцы							

Комплект задач по теме «Генетический анализ сцепленного с полом наследования признаков»

1. При скрещивании белоглазых мух (white) с мухами красноглазыми в потомстве все мухи оказываются красноглазыми. Объяснить характер наследования данного признака. Какой цвет является доминантным, а какой рецессивным?

2. При скрещивании мух с красными глазами получено потомство мух как с красными, так и с белыми глазами (white). Каков генотип родителей, если особи с белыми глазами составляют $\frac{1}{4}$ всего потомства?

3. У дрозофил малиновый цвет глаз (raspberry) – рецессивный признак, сцепленный с X хромосомой. Самец с нормальным цветом глаз скрещивается с мухой, у которой родитель самец имел малиновые глаза, а мать и её предки были с нормальными глазами. Определить генотип и фенотип потомства от этого скрещивания.

4. Зазубренные крылья у дрозофилы обусловлены мутацией (Beadex), локализованной в хромосоме 1. Каким следует ожидать поколение F_1 от скрещивания гетерозиготной по данному признаку самки с самцом, имеющим нормальные крылья?

5. Скрестили двух мух дрозофил с плосковидными глазами (Bag) между собой. Полученного от этого скрещивания самца с нормальным расположением фасеток скрестили с самкой, имеющей плосковидные глаза. Данную самку получили в результате скрещивания нормального самца и самки с плосковидными глазами. Определите генотипы во всех скрещиваниях.

6. У дрозофилы мутация ширококрылый (broad) находится в X хромосоме. Скрестили гомозиготную самку с нормальными крыльями и самца с широкими крыльями. Самку с нормальными крыльями из полученного потомства скрестили с самцом, имеющим нормальные крылья. Каким будет потомство от этого скрещивания?

7. Гомозиготная самка с нормальными крыльями скрещивается с самцом, у которого край крыла обрезан (cut). Какие крылья будут иметь самцы и самки в F_1 и в F_2 ?

8. Мутация дрозофилы Bag (мешковидный) локализована в хромосоме 1. При скрещивании самки мешковидными крыльями и нормального самца в F_1 получено следующее расщепление: $2\text{♀}:1\text{♂}$. Причем все самцы были нормальными, а среди самок половина – нормальные, половина – несущие мутацию Bag. Объясните данное явление.

9. При скрещивании самки дрозофилы с зазубренными крыльями (мутация Beadex) с самцом с нормальными крыльями все особи в поколении F_1 оказались с зазубренными крыльями. Каковы генотипы родителей?

10. Гетерозиготная красноглазая самка дрозофилы скрещена с белоглазым самцом. Каких особей следует ожидать в F_1 .

11. При скрещивании белоглазых самок дрозофилы с красноглазыми самцами получено 895 самцов с белыми глазами и 882 самки с красными глазами. Кроме того, в потомстве от этого скрещивания обнаружено две самки с белыми глазами и один самец с красными глазами. Как можно объяснить появление необычных самок и самцов? Как проверить правильность вашего предположения?

12. У дрозофилы ген l является рецессивным, локализованным в X-хромосоме и летальным. Каково будет численное соотношение полов в потомстве от скрещивания самки $+/l$ с нормальным самцом?

13. У дрозофилы рецессивный ген желтой окраски тела (*yellow*) локализован в X-хромосоме. Определите генотип и фенотип потомства от скрещивания самца с желтым телом с гетерозиготной самкой.

14. Какие расщепления возможны в потомстве первого и второго поколения от скрещивания мух с желтым и серым телом?

15. В локусе *white* дрозофилы известна серия множественных аллелей, определяющая окраску глаз от темно-красного до белого цвета, причем каждый предыдущий аллель по мере убывания интенсивности окраски полно доминирует над последующим. Приводим часть этой серии аллелей: w^+ (красный цвет глаз) $> w^{bl}$ (кровавый) $> w^{co}$ (коралловый) $> w^a$ (абрикосовый) $> w^{bf}$ (рыжий или цвета буйволовой кожи) $> w$ (белый). Сколько различных генотипов и фенотипов возможно при участии этих аллелей? Запишите их.

ТЕМА 8. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАСЛЕДОВАНИЯ НЕСКОЛЬКИХ ПРИЗНАКОВ

Для постановки скрещивания используются линии, отличающиеся по трем альтернативным парам признаков – цвет тела, цвет глаз и форма крыльев. Две из этих мутаций - *white* (белые глаза) и *cut* (обрезанные крылья) - локализованы на X-хромосоме. Мутация *ebony* (черное тело) локализована на 3 хромосоме. Анализ результатов данного скрещивания должен включать в себя индивидуальный анализ каждого моногенного признака, анализ сцепленного наследования мутаций *white* и *cut*, а также совместный анализ всех трёх признаков.

Лабораторная работа № 10. Тригибридное скрещивание

Цель работы: изучить закономерности наследования трёх признаков - цвета тела (мутация *ebony*), цвета глаз (мутация *white*) и формы крыльев (мутация *cut*); определение генотипов родителей, сцепления генов и расстояния между сцепленными генами.

Задачи:

1. Изучить линии дрозофил с черной окраской тела (*ebony*), красными глазами и нормальными крыльями; серым телом, белыми глазами (*white*) и обрезанными крыльями (*cut*).

2. Провести реципрокные скрещивания линий *ebony* -Normal- Normal и линий Normal-*white*-*cut*.

3. Проанализировать F_1 и поставить их на скрещивание для получения F_2 .

4. Получить мух F_2 и проанализировать их.

5. Повести анализ наследования каждого из трех моногенных признаков.

6. Провести анализ сцепленного наследования мутаций *white* и *cut*, определить расстояние между генами.

7. Составить итоговую схему скрещивания по совместному наследованию всех трех признаков.

Биологический материал: линии *Drosophila melanogaster* ebony - Normal- Normal (черное тело, красные глаза, нормальные крылья), Normal-white-cut (серое тело, белые глаза, обрезанные крылья).

Оборудование: стаканчики или широкие пробирки диаметром 4 см со свежеприготовленной средой; ватные пробки; эфир и морилки; молочно-белое стекло; лупа; пинцеты; кисти.

Ход работы:

1. Проведите наркотизацию мух. Правила наркотизации приведены в лабораторной работе №1.

2. Изучите и опишите морфологию мутантных рас дрозофилы ebony, white и cut, пользуясь данными лабораторной работы №3. Обратите особое внимание, что изучаемые мутации при изучении сцепленного наследования должны быть локализованы в одной гомологичной паре хромосом.

3. Постановка скрещивания дрозофилы.

3.1. Отобрать 2-3 виргинные самки линии ebony-Normal и поместить в стаканчик со средой с 3-5 самцами линий Normal-white-cut.

3.2. Поставить обратное скрещивание.

3.3. Через 10-12 суток после постановки скрещивания, когда в стаканчике начнется массовое вылупление мух F_1 , их следует усыпить и проанализировать. Все они будут иметь нормальную серую окраску тела, красные глаза и нормальные крылья. Результаты подсчета следует записать в таблицу 10.1. Необходимо заполнить две таблицы: для прямого и обратного скрещивания.

3.4. Провести скрещивание гибридов F_1 .

Таблица 10.1

Результаты гибридологического анализа скрещивания дрозофил линий ebony и white-cut

№	Фенотип	Пробирка 1		Пробирка 2	
		♀	♂	♀	♂

3.5. Через 10-12 дней в стаканчиках начнется массовое вылупление потомков гибридов F_2 . Их следует усыпить в эфиризаторе и анализировать на матово-белом стекле. При внимательном осмотре определить и подсчитать мух 8 фенотипических классов: серым телом, красными глазами и нормальными крыльями; мух с черным телом, красными глазами и нормальными крыльями; мух с серым телом, красными глазами и обрезанными крыльями; мух с серым телом, белыми глазами и нормальными крыльями; мух с серым телом, белыми глазами и обрезанными крыльями; мух с черным телом, красными глазами и обрезанными крыльями; мух с черным телом, белыми глазами и нормальными крыльями и мух с черным телом, белыми глазами и

обрезанными крыльями. Результаты занести в таблицу 10.2. Нужно заполнить две таблицы: для прямого и обратного скрещивания.

Таблица 10.2

Результаты скрещивания гибридов первого поколения

№	Фенотип	Пробирка 1		Пробирка 2		Пробирка 3		Пробирка 4		Пробирка 5	
		♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											

4. Анализ наследования мутации ebony (черное тело).

4.1. Проанализируйте число потомков первого и второго поколения относительно цвета тела.

4.2. Составьте схемы реципрокных скрещиваний и определите ожидаемое расщепление по генотипу и фенотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая только цвет тела особей (см. лабораторная работа №4). Поскольку данная мутация носит рецессивный характер, все потомки 1-го поколения, как от прямого, так и от обратного скрещивания, будут нести признаки дикого типа. У гибридов второго поколения, в соответствии со вторым законом Менделя, должно проявиться расщепление в соотношении 3 Normal : 1 ebony.

4.3. Проведите статистическую проверку гипотезы.

4.4. Сформулируйте выводы относительно характера наследования мутации **ebony**.

5. Анализ наследования мутации cut (обрезанные крылья).

5.1. Проанализируйте число потомков первого и второго поколения относительно формы крыльев.

5.2. Составьте схемы реципрокных скрещиваний и определите ожидаемое расщепление по генотипу и фенотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая только форму крыльев особей (см. лабораторная работа №7).

5.3. Проведите статистическую проверку гипотезы.

5.4. Сформулируйте выводы относительно характера наследования мутации **cut**.

6. Анализ наследования мутации white (белые глаза).

6.1. Проанализируйте число потомков первого и второго поколения относительно цвета глаз (таблица 7.1).

6.2. Составьте схемы реципрокных скрещиваний и определите ожидаемое расщепление по генотипу и фенотипу у гибридов первого и

второго поколения, учитывая только цвет глаз особей (см. лабораторная работа №7).

6.3. Проведите статистическую проверку гипотезы.

6.4. Сформулируйте выводы относительно характера наследования мутаций white.

7. Анализ сцепленного наследования мутаций cut (обрезанные крылья) и white (белые глаза).

7.1. Поскольку два гена - cut и white – локализованы в одной хромосоме, необходимо провести анализ совместного наследования данных признаков. Составьте схему реципрокных скрещиваний и определите ожидаемое расщепление по фенотипу и генотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая наследование мутаций white и cut. Теоретическое расщепление среди гибридов 2-го поколения в случае независимого наследования генов должно составить: 1 (Normal):1 (Normal, cut) : 1 (white, Normal):1 (white, cut).

7.2. Однако, особи двух фенотипических классов – с красными глазами и обрезанными крыльями; с белыми глазами и нормальными крыльями – встречаются намного реже, чем особи с другими признаками. Значит это фенотипы, возникшие в результате кроссинговера. Составьте схемы скрещивания с учетом сцепления генов и определите расстояние между ними в прямом и обратном скрещивании (см. лабораторная работа №8). Определите среднее расстояние между генами.

8. Анализ совместного наследования трех признаков.

8.1. Составьте итоговую схему скрещивания, учитывая совместное наследование мутаций white и cut и независимый характер наследования мутации ebony.

Прямое скрещивание

Обратное скрещивание

$$\begin{array}{lcl}
 \text{PP} & \text{♀ ee}^{\frac{++}{++}} \text{Equation.3} & \times \text{♂ } +/+^{\frac{wc}{wc}} \text{Equation.3} & \text{PP} \\
 & & & \\
 & \text{♀ } +/+^{\frac{wc}{wc}} \text{Equation.3} & \times \text{♂ ee}^{\frac{++}{++}} \text{Equation.3} &
 \end{array}$$

♀ Черное тело x ♂ белые глаза,
обрезанные крылья

♀ белые глаза x ♂ Черное тело
обрезанные крылья

8.2. Сформулируйте общие выводы по лабораторной работе.

Комплект задач по теме «Генетический анализ наследования нескольких признаков»

1. При скрещивании самок дрозофилы с белыми глазами, вильчатыми щетинками и уменьшенными крыльями с самцами, имевшими красные глаза, нормальные щетинки и нормальные крылья, в F₁ получили

самок с красными глазами, нормальными щетинками и нормальными крыльями и белоглазых самцов с вильчатыми щетинками и уменьшенными крыльями. В F_2 было получено следующее расщепление среди самок и самцов:

542	с красными глазами, нормальными щетинками и нормальными крыльями
68	с красными глазами, нормальными щетинками и уменьшенными крыльями
138	с красными глазами, вильчатыми щетинками и нормальными крыльями
262	с красными глазами, вильчатыми щетинками и уменьшенными крыльями
266	с белыми глазами, нормальными щетинками и нормальными крыльями
130	с белыми глазами, нормальными щетинками и уменьшенными крыльями
64	с белыми глазами, вильчатыми щетинками и нормальными крыльями
530	с белыми глазами, вильчатыми щетинками и уменьшенными крыльями
2000	

Как наследуются признаки? Определите генотипы исходных форм. Если гены сцеплены, то определите силу сцепления между ними и порядок их расположения в хромосоме. Проверьте, имеет ли место интерференция.

2. При скрещивании самок дрозофилы с желтым цветом тела, киноварным цветом глаз и обрезанными крыльями с самцами дикого типа в F_1 все самки оказались дикого типа, а самцы – желтые с киноварным цветом глаз и обрезанными крыльями, а во втором поколении самки и самцы дали следующее расщепление:

1781	с серым телом, красными глазами и нормальными крыльями
53	с серым телом, красными глазами и обрезанными крыльями
296	с серым телом, киноварными глазами и нормальными крыльями
470	с серым телом, киноварными глазами и обрезанными крыльями
442	с желтым телом, красными глазами и нормальными крыльями
265	с желтым телом, красными глазами и обрезанными крыльями
48	с желтым телом, киноварными глазами и нормальными крыльями
1712	с желтым телом, киноварными глазами

и обрезанными крыльями

5067

Как наследуются признаки? Определите генотипы исходных мух и F_1 . Если гены сцеплены, определите расстояние между ними и порядок их расположения в хромосоме.

3. При скрещивании дрозофил получено следующее потомство:

	Самцы		Самки
75	с красными глазами, серым телом и длинными крыльями	92	с красными глазами, серым телом и длинными крыльями
70	с белыми глазами, желтым телом и длинными крыльями	75	с белыми глазами, желтым телом и длинными крыльями
21	с белыми глазами, желтым телом и зачаточными крыльями	20	с красными глазами, серым телом и зачаточными крыльями
27	с красными глазами, серым телом и зачаточными крыльями	28	с белыми глазами, желтым телом и зачаточными крыльями
2	с красными глазами, желтым телом и длинными крыльями	215	
1	с белыми глазами, серым телом и зачаточными крыльями		
196			

Как наследуются признаки? Определите генотипы и фенотипы исходных мух. Если гены сцеплены, определите расстояние между ними.

4. У дрозофилы в одном опыте по изучению сцепления генов было получено следующее расщепление в F_2 :

	Самки		Самцы
ABC	248		2
ABc	-		37
AbC	-		28
Abc	-		171
aBC	252		190
aBc	-		26
abC	-		42
Abc	-		4
	500		500

Определите генотипы родителей. Определите расположение генов в хромосоме и рассчитайте расстояние между ними.

5. У дрозофилы серой цвет тела доминирует над черным, прямые крылья над изогнутыми, а нормальные глаза над стекловидными. Гомозиготная серая самка с прямыми крыльями и стекловидными глазами скрещена с черным самцом с изогнутыми крыльями и нормальными

глазами. Гибриды первого поколения были использованы в анализирующем скрещивании, в котором получено следующее потомство:

342	с серым телом, прямыми крыльями и стекловидными глазами
80	с серым телом, прямыми крыльями и нормальными глазами
11	с серым телом, изогнутыми крыльями и стекловидными глазами
84	с серым телом, изогнутыми крыльями и нормальными глазами
78	с черным телом, прямыми крыльями и стекловидными глазами
7	с черным телом, прямыми крыльями и нормальными глазами
72	с черным телом, изогнутыми крыльями и стекловидными глазами
326	с черным телом, изогнутыми крыльями и нормальными глазами
1000	

Каков характер наследования признаков? Определите генотипы родителей и гибридов первого поколения. Если гены сцеплены, определите расстояние между ними и порядок их расположения в хромосоме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамова З.В., Карлинский О.А. Практикум по генетике. – Л.: Колос, 1974.
2. Барабанщиков Б.И., Сапаев Е.А. Сборник задач по генетике. – Казань: Издательство Казанского университета, 1988. – 191 с.
3. Ватти К.В., Тихомирова М.М. Руководство к практическим занятиям по генетике. – М.: Просвещение, 1972.
4. Глазер В.М., Ким А.И., Орлова Н.Н., Удина И.Г., Алтухов Ю.П. Задачи по современной генетике: Учеб. Пособие – М.: КДУ, 2005. – 224 с., ил.
5. Гусаченко А.М., Волошина М.А., Назарова Н.К. Малый генетический практикум: генетика *Dr. Melanogaster*. Учеб.-метод. пособие. 2-е изд., испр. и доп./ Новосиб. Гос. Ун-т. Новосибирск, 2013. – 40 с.
6. Лобашов М.Е., Ватти К.В., Тихомирова М.М. Генетика с основами селекции. – М.: Просвещение, 1970.
7. Машкина Е.В. Методическое пособие для проведения большого практикума. Часть 2. Генетический анализ. – Ростов-на-Дону: Изд-во РГУ, 2000.
8. Медведев Н.Н. Практическая генетика. – М.: Наука, 1968.
9. Орлова М.М. Генетический анализ: Учебное пособие. – М.: МГУ, 1991.

**Список наиболее часто используемых мутантных линий
*Dr. melanogaster***

apterous, *ap*, II, 55,4. Бескрылый. Жужжальцы отсутствуют, стерильны.

arc, *a*, II, 99,2. Дугообразные, широкие крылья, загнуты книзу; поперечные жилки сближены.

Bar, *B*, I, 57,0. Полосковидные глаза. Гомозиготы жизнеспособны. дупликация.

black, *b*, II, 48,5. Черный. Тело, ножки, жилки очень темные.

bordeaux, *bo*, I, 12,5. Бордовый цвет глаз. Трансгрессия с диким типом.

carmine, *cm*, I, 18,9. Карминный. Темно-рубиновый цвет глаз.

caranation, *car*, I, 62,5. Алоглазый. Темно-рубиновый цвет глаз.

cinnabar, *cn*, II, 57,5. Киноварноглазый. Цвет глаз яркий, шарлаховый, глазки бесцветны.

curved, *c*, II, 75,5. Крылья тонкие, растопырены, приподняты и закручены.

Curly, *Cy*, II, 8,5±. Крылья загнуты вверх. Гомозиготы летальны. Инверсии.

cut, *ct*, I, 20,0. Обрезанный край крыла.

dumpy, *dp*, II, 13,0. Короткокрылый. На груди воронкообразные углубления.

ebony, *e*, III, 70,7. Черный цвет тела.

eyeless, *ey*, IV, 0,2. Безглазый. Глаза редуцированы частично или полностью.

Lobe, *L*, II, 72,0. Лопастной. Глаза уменьшены, с вырезкой на переднем крае. Гомозиготы жизнеспособны.

raspberry, *ras*, I, 32,8. Малиновый цвет глаз.

scarlet, *st*, III, 44,0. Шарлаховый, багряно-красный цвет глаз, глазки бесцветны.

vestigial, *vg*, II, 67,0. Зачаточнокрылый. Крылья и жужжальцы зачаточные.

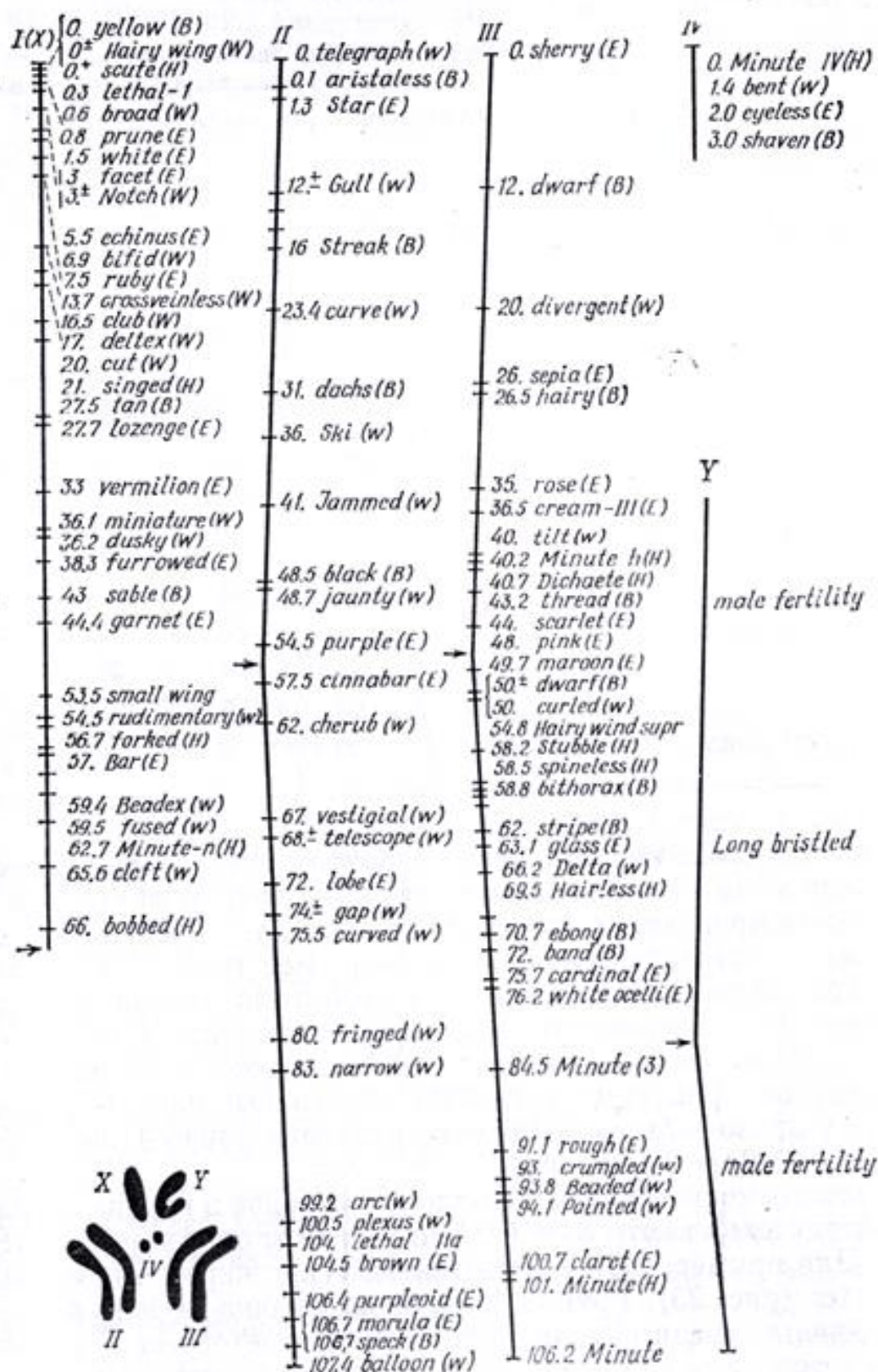
white, *w*, I, 1,5. Белоглазый. Глаза белые, глазки, мальпигиевые сосуды и семенники бесцветные.

yellow, *y*, II, 0,0. Желтый цвет тела; ротовой аппарат личинки коричневый.

Значения χ^2 при различных степенях свободы

Число степеней свободы (n)	Вероятность (P)									
	0,99	0,95	0,90	0,75	0,50	0,25	0,10	0,05	0,025	0,01
1	0,00	0,00	0,02	0,10	0,45	1,32	2,71	3,84	5,02	6,63
2	0,02	0,10	0,21	0,58	1,39	2,77	4,61	5,99	7,38	9,21
3	0,11	0,35	0,58	1,21	2,37	4,11	6,25	7,81	9,35	11,34
4	0,30	0,71	1,06	1,92	3,36	5,39	7,78	9,49	11,14	13,28
5	0,55	1,15	1,61	2,67	4,35	6,63	9,24	11,07	12,83	15,09

Генетическая карта *Dr. melanogaster*



ОКСАНА ВЛАДИМИРОВНА ГУМЕРОВА

ГУЗЕЛЬ ФАНИЛЕВНА ГАЛИКЕЕВА

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ
АНАЛИЗ ДРОЗОФИЛЫ**

ПРАКТИКУМ

МИНПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М. АКМУЛЛЫ»

О.В. Гумерова, Г.Ф. Галикеева

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДРОЗОФИЛЫ

ПРАКТИКУМ

УФА 2020

УДК 571.1 (075.3)
ББК 28.04я73
Г34

*Печатается по разрешению учебно-методического совета Башкирского
государственного педагогического университета им. М. Акмуллы*

Генетический анализ дрозофилы: практикум / сост
О.В. Гумерова, Г.Ф. Галикеева. Уфа: Изд-во БГПУ, 2020. – 55 с.

Рецензенты:

Саттаров Венер Нуруллович, доктор биологических наук, профессор кафедры биоэкологии и биологического образования, декан естественно-географического факультета БГПУ им. М. Акмуллы;

Маркушева Татьяна Вячеславовна, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии ГБНУ Уфимский институт биохимии и генетики УФИЦ РАН.

В данном практикуме приведены теоретические сведения и методические указания для проведения лабораторных работ, в которых рассматриваются вопросы морфологии, разведения и генетического анализа признаков дрозофилы, по дисциплинам «Большой практикум по генетике» и «Генетический анализ» по направлению «Биология», профиль «Генетика».

Рекомендуется для студентов высших учебных заведений биологического и педагогического профилей, специалистов в области биологии и генетики, аспирантов биологических направлений.

ISBN

© О.В. Гумерова, Г.Ф. Галикеева

© Издательство БГПУ, 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
Тема 1. Морфология, биология и условия содержания дрозофилы	5
<i>Лабораторная работа № 1. Правила работы с дрозофилой</i>	10
<i>Лабораторная работа № 2. Приготовление питательной среды</i>	11
Тема 2. Мутантные формы дрозофилы	12
<i>Лабораторная работа № 3. Сравнительная характеристика мутантных линий Dr. Melanogaster</i>	15
<i>Лабораторная работа № 4. Приготовление фиксированных препаратов дрозофилы различных мутантных линий</i>	15
Тема 3. Генетический анализ моногибридного скрещивания	16
<i>Лабораторная работа № 5. Моногибридное скрещивание дрозофилы</i>	17
Комплект задач по теме «Генетический анализ моногибридного скрещивания»	20
Тема 4. Генетический анализ при взаимодействии неаллельных генов	21
<i>Лабораторная работа № 6. Комплементарное взаимодействие генов при формировании окраски глаз у дрозофилы</i>	24
Комплект задач по теме «Генетический анализ при взаимодействии неаллельных генов»	26
Тема 5. Генетический анализ дигибридного скрещивания	28
<i>Лабораторная работа № 7. Дигибридное скрещивание дрозофилы</i>	29
Комплект задач по теме «Генетический анализ дигибридного скрещивания»	32
Тема 6. Генетический анализ сцепленного наследования признаков	33
<i>Лабораторная работа № 8. Наследование мутаций black и vestigial</i>	34
Комплект задач по теме «Генетический анализ сцепленного наследования признаков»	37
Тема 7. Генетический анализ сцепленного с полом наследования признаков	39
<i>Лабораторная работа № 9. Наследование мутации white</i>	40
Комплект задач по теме «Генетический анализ сцепленного с полом наследования признаков»	42
Тема 8. Генетический анализ наследования нескольких признаков	44
<i>Лабораторная работа № 10. Тригибридное скрещивание дрозофилы</i>	44
Комплект задач по теме «Генетический анализ наследования нескольких признаков»	47
ЛИТЕРАТУРА	51
Приложение 1. Список наиболее используемых мутантных линий <i>Dr. Melanogaster</i>	52
Приложение 2. Таблица Фишера	53
Приложение 3. Генетическая карта <i>Dr. Melanogaster</i>	54

ВВЕДЕНИЕ

Дрозофила является одним из самых ценных для биологических исследований организмов. Целый ряд важнейших научных открытий был совершен при использовании мухи дрозофилы в качестве генетического объекта. В частности, работы Т. Моргана по разработке хромосомной теории наследственности, изучению генетики пола и сцепленного с полом наследования, также исследования по искусственному получению мутаций, вопросам природы гена, экспрессии гена, выяснение некоторых генетических механизмов эволюционных процессов и др. Муха дрозофила является чрезвычайно удобным объектом для генетических исследований. Она неприхотлива в содержании, исключительно плодовита, имеет короткий период развития от яйца до взрослого насекомого, обладает чётко выраженными морфологическими признаками, большим разнообразием мутационных рас с чётким фенотипическим проявлением и малым числом хромосом. Перечисленные качества и возможность проработки основных закономерностей наследственности в течение непродолжительного времени с низкими затратами на проведение опытов делают дрозофилу особенно популярным объектом для проведения лабораторных работ со студентами биологических направлений.

Данный лабораторный практикум включает 10 лабораторных работ, направленных на приобретение обучающимися практических навыков по идентификации различных мутантных линий мухи дрозофилы и использованию генетической номенклатуры, разведению объекта исследований в лабораторных условиях, постановке моно-, ди- и тригибридных скрещиваний, постановке скрещиваний и анализе потомства при сцепленном наследовании, наследовании признаков, сцепленных с X-хромосомой.

Проведение экспериментов с использованием данного руководства даёт возможность закрепить полученные в теоретическом курсе знания, а также приобрести навыки в постановке самостоятельных опытов по генетическому анализу признаков. В ходе выполнения генетических исследований студенты должны научиться планировать эксперимент. Планирование включает четкую постановку цели, выбор адекватных путей ее достижения, определение и выбор соответствующих статистических методов анализа результатов, учет деталей методики. В задачи лабораторного практикума также входит обучение студентов критической оценке и статистической обработке полученные результаты и правильному их оформлению.

ТЕМА 1. МОРФОЛОГИЯ, БИОЛОГИЯ И УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ ДРОЗОФИЛЫ

Drosophila melanogaster, иначе муха плодовая, или уксусная, принадлежит к семейству *Drosophiliciday* из отряда *Diptera*. Родиной *Dr. melanogaster* считается Индо-малайская область. В настоящее время она космополит, населяет Северную и Южную Америку, Африку, Австралию, Японию и Южную Европу. Питается дрозофила ферментируемыми фруктами, овощами и древесным соком.

Раса дрозофилы, которая обитает в природе, носит название дикий тип (wild type), или нормальная (*Normal*). Это мушка величиной 2-3 мм с ярко-красными глазами и серым телом.

Морфологически, самки и самцы отличаются друг от друга по целому ряду признаков (рис. 1):

- Самки несколько **крупнее** самцов.
- **Брюшко** у самки округлое с заостренным концом, у самца – более цилиндрическое с притупленным концом и сильно пигментированными (черными) последними тергитами (скелетные хитиновые пластинки брюшка со спинной стороны);
- У самки 8 хорошо развитых **тергитов**, у самца – 6;
- У самки 4 хорошо развитых **стернита** (хитиновые пластинки с брюшной стороны), у самца – 3;
- У самца присутствуют **половые гребешки** (ряд хитиновых щетинок на первом членике лапки передних ног).

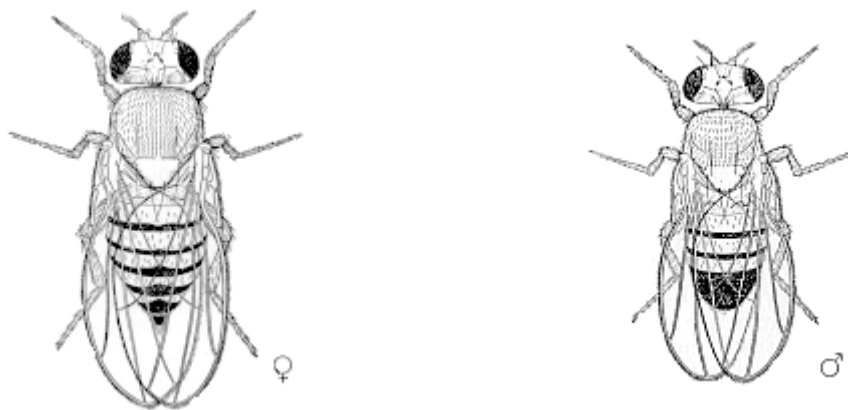


Рис. 1. Самка и самец дрозофилы

Как правило, самки начинают спариваться спустя 24 часа после вылупления. Копуляция длится около 20 минут, этот срок является видовой характеристикой рассматриваемого вида.

Биология развития дрозофилы. При температуре 24-25⁰С цикл развития дрозофилы от яйца до взрослой мухи составляет примерно 10 суток, при температуре 27⁰С цикл сокращается до 9 суток (развитие яйца – 20 часов, развитие личинки - 4 суток, развитие куколки - 4 суток) (рис. 2). В благоприятных условиях каждая самка откладывает до 50-80 яиц в

сутки. Яйца дрозофилы вытянутые, около 0,5 мм в длину. Их легко заметить отложенными на питательной среде поблизости от стенок стаканчика, где содержится меньше влаги. От передней части яйца отходят два длинных отростка, представляющих собой выросты хориона. Это филаменты, предохраняющие яйцо от погружения в жидкую среду. Если откладка оплодотворённого яйца задержана какими-нибудь неблагоприятными условиями, то первые стадии развития оно проходит в половых путях самки и к моменту откладки на питательную среду содержит развитую личинку. Однако в нормальных условиях эмбриональное развитие протекает вне тела матери и при температуре 27⁰С продолжается около 20 часов.

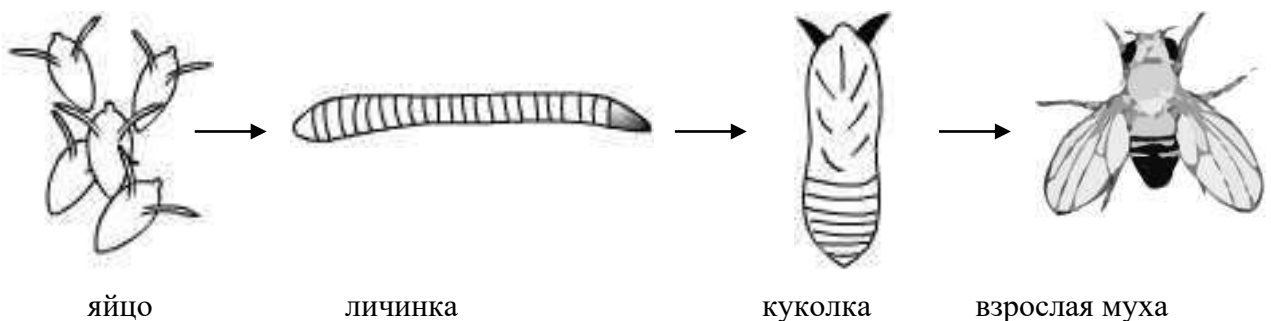


Рис. 2. Цикл развития дрозофилы

Первое время после вылупления личинки остаются на поверхности питательной среды. Затем они уходят вглубь и остаются там до момента окукливания. Заметить начало процесса окукливания можно с того, что личинки покидают среду и некоторое время оживлённо двигаются по стенкам стаканчика. Затем они становятся неподвижными, сокращаются в длину и приобретают характерную бочкообразную форму. В стадии куколки происходит метаморфоз внутренних органов, во время которого разрушаются личиночные органы и ткани (гистолиз) и развиваются из имажинальных дисков органы взрослой мухи (гистогенез). Период кукольного превращения при 27⁰С равен четырём суткам. Вылупление мухи и освобождение её от покровов куколки (пупариума) достигается нагнетанием жидкости в лобный пузырь, вследствие чего оболочка куколки на переднем конце разрывается, и муха высвобождается.

Молодые мухи имеют значительно более длинное и почти лишенное пигмента желтоватое тело, короткие, не до конца расправившиеся крылья и нежные щетинки. По этим признакам их легко отличить от взрослых мух. На ранних стадиях развития личинки очень удобно различить её пол. Благодаря неравномерному развитию гонады мужских и женских личинок различаются по величине. Семенники в несколько раз крупнее яичников, и при использовании лупы их легко обнаружить у живой личинки при рассмотрении её сверху. Семенники расположены между третьим и

четвёртым задними сегментами и представляются в виде двух светлых овальных пузырьков, хорошо видимых через прозрачную хитиновую оболочку. Через 8-10 часов самки уже готовы к оплодотворению, поэтому для скрещивания необходимо брать девственных (виргинных) самок, не старше 10 часов после вылупления. Самки начинают откладывать яйца с конца вторых суток и продолжают до конца жизни.

Правила работы с дрозофилой. Анализ и подсчёт мух, отбор девственных самок и подбор родительских пар для скрещивания проводят после того, как их усыпят серным эфиром. Наркотизация мух выполняется следующим образом. Легким постукиванием пробирки о ладонь следует отогнать мух от пробки, затем быстро открыть и сразу приставить к отверстию пробирки морилку. Затем морилку необходимо ориентировать по направлению к свету. Так как мух положительно фототропичны, они все вскоре соберутся в морилке. Далее морилку быстро отнимают и закрывают сетчатой крышкой со смоченной эфиром ваткой. Следует остерегаться попадания с ваты капли эфира, мухи в этом случае моментально погибают.

Как только мухи перестали двигаться, их сразу нужно встряхнуть из морилки. От большой дозы дрозофилы погибают через 3-5 мин. Характерный признак погибших от эфира мух – растопыренные кверху и в стороны крылья и безжизненно вытянутые лапки.

Изучение морфологических особенностей дрозофил, а также сравнение мутационных рас удобно проводить, расположив наркотизированных мух на молочно-белом стекле. Брать мух можно только пинцетом за крылышки или ножки, либо перемещать их мягкой кисточкой.

Если наркотизацию необходимо продлить, мух накрывают большим часовым стеклом, под которое кладут ватный тампон, смоченный одной каплей эфира.

Если мухи нужны для последующего размножения, их помещают в чистые пробирки с питательной средой. В одну пробирку для размножения следует помещать 2-3 самок и 3-5 самцов. Для того чтобы сонные мухи не упали на дно пробирки и не увязли в питательной среде, их помещают в свёрнутые из бумажек вороночки, либо выкладывают на чистые стенки стаканчика со средой и держат стаканчик в горизонтальном положении до тех пор, пока мухи не проснутся.

Так как жизнеспособная сперма способна сохраняться в половых путях самки в течение нескольких суток после спаривания, оплодотворённая самка может содержать в семяприёмнике некоторое количество спермы от предыдущей копуляции. Поэтому для скрещиваний необходимость брать заведомо виргинных самок не старше 10 часов после вылупления. Для этой цели из культур за несколько часов до массового вылупления удаляют не девственных мух. После этого культуру просматривают через 8-10 часовые интервалы. Вылупляющихся

девственных самок изолируют от самцов и используют для скрещиваний. Морфологические особенности только что вылупившихся мух описаны выше.

При постановке скрещиваний необходимо фиксировать все наблюдения, цифры, расчеты в дневнике или книге протоколов опытов.

Начинающий исследователь при проведении экспериментов может столкнуться с неудачами генетического характера, т.е. с несоответствием результатов опыта ожидаемым. Причины этого явления чаще всего следующие: а) для скрещивания взяты либо не девственные самки, либо по ошибке вообще не из той культуры; б) неправильно сделаны надписи, или приклеены этикетки на пробирки с культурами мух. Во всех этих случаях следует поставить скрещивание заново.

Условия содержания дрозофил. Успех работы с дрозофилой в большой степени зависит от создания оптимальных условий содержания. Продолжительность жизни взрослой мухи в лабораторных условиях составляет 3-4 недели и зависит температуры, влажности, пищи, плотности населения, наличия в питательной среде бактерий. Оптимальной температурой для содержания дрозофилы в лабораторных условиях является – 24-25⁰С. При поддержании данной температуры в течение года возможно получение 40 поколений мух. При температуре, превышающей 31⁰С, муха становится полностью или частично бесплодной. С понижением температуры развитие сильно замедляется. Жизнеспособность мутационных форм по сравнению с дикой формой в большинстве случаев понижена.

В пробирку ёмкостью 100 мл с 25 мл среды обычно сажают не более 3-4 самок во избежание перенаселения. Перенаселение приводит к измельчанию мух и сокращению продолжительности их жизни. Число яиц, откладываемых самкой, зависит от состояния питательной среды.

Питательные среды

Главными составными частями среды, на которой разводят дрозофилу в лабораториях, являются сахар и дрожжи. Сахар является субстратом, на котором развиваются дрожжи, сами дрожжи составляют главный элемент пищи мух. В качестве основных компонентов в состав среды сводит также агар-агар, который придаёт среде желеобразную консистенцию и пропионовая или этилбензойная кислота для предупреждения развития в культурах плесени.

Для поддержания основных линий дрозофилы, которых пересаживают реже других, рекомендуется использовать среду со следующим составом:

Вода.....	200 мл
Патока.....	20
Кукурузная мука.....	15
Агар-агар.....	1,5

На такой среде интервалы между очередными пересадками культур можно продлить до двух месяцев.

На дрожжевых средах мухи развиваются значительно быстрее, очень крупные, с хорошим проявлением всех признаков. Дрозофила с успехом культивируется на среде следующего состава:

Вода.....350 мл
Дрожжи.....40
Агар-агар.....4,5
Манная крупа...15
Сахароза 13

Однако на дрожжевых средах дрозофилы живут сравнительно не долго. Это происходит из-за наличия в таких средах бактерий и грибков, а также перенаселения мух. Поэтому дрожжевую среду нельзя употреблять для поддержания основных линий из-за нежелательности их частых пересадок и невысокой продолжительности жизни дрозофил, выросших на этой среде.

После окончания варки среду охлаждают до 60-70° С и наливают в пробирки на уровне 1-1,5 см. Предварительное охлаждение необходимо, так как горячую среду трудно равномерно разлить в пробирки. Кроме того, от горячей среды стенки пробирок отпотевают, и мухи, попавшие на мокрые стенки, могут погибнуть. Разливать среду следует при помощи воронки, чтоб она не попадала на стенки пробирки, так как её тонкий слой подсыхает, и отложенные в нём яйца погибают. Готовую среду хранят в холодильнике, где она может оставаться месяц и больше.

При неправильном приготовлении питательной среды возможны следующие последствия: а) в среде мало дрожжей, или нет бензойной кислоты (развилась плесень); б) среда слишком твёрдая (агар-агар взят в избытке), поэтому личинки не смогли проникнуть в глубь среды и погибли; в) среда слишком жидкая (недостаточно агар-агара), в культуре избыток влаги и личинки утонули; г) в культуре избыток дрожжей (толстый беловатый налёт на поверхности питательной среды), так как культура поставлена на не свежую среду. В этих случаях следует пересадить мух на свежую среду.

Посуда, её мытье и хранение. Для разведения дрозофилы удобно пользоваться плоскодонными пробирками 2-3 см в диаметре и 6-8 см высотой. При необходимости можно пользоваться химическими пробирками, стеклянными флаконами от лекарственных препаратов, банками от детского питания и т.п.

Бывшие в употреблении пробирки освобождают от пробок и живых мух. Пробирки заливают водой с небольшим количеством соды или стирального порошка (25г на 10л воды) и нагревают до кипения. Этим достигается растворение в горячей воде засохшей среды и частичная дезинфекция.

Далее пробирки отмываются ёршиком. В обязательном порядке следует очищать стенки пробирок от надписей. Вымытые пробирки ополаскиваются и высушиваются. Для окончательной дезинфекции пробирки помещают на 1-2 часа в сушильный шкаф при температуре + 100 – 120° С. После чего остывшие пробирки складывают в специальные лотки.

Пробки, бывшие в употреблении, не выбрасывают, а стерилизуют в автоклаве (при давлении 2,5 атм., 20 минут) или обжигают на пламени спиртовки.

В зависимости от необходимого объёма питательной среды используют следующие навески реактивов:

Таблица 1.1

Компоненты для приготовления дрожжевой среды

Компоненты		на 100 пробирок	на 50 пробирок	на 25 пробирок
1.	вода	700 мл	350 мл	175 мл
2.	агар-агар	9 г	4,5 г	2,25 г
3.	дрожжи	75 г	37,5 г	18,8 г
4.	сахар	25 г	12,5 г	6,25 г
5.	манная крупа	25 г	12,5 г	6,25 г

Организация работы на лабораторном практикуме.

1. Студенты работают парами: вдвоём выполняют каждую лабораторную работу и анализируют результаты.

2. Каждый студент ведет лабораторный журнал, в котором записываются скрещивания, промежуточные и окончательные результаты для каждой пары и подгруппы в целом, формулируют выводы.

3. На каждое скрещивание ставят 2 пробирки, в каждую из которых помещают 2-3 девственные самки и 3-5 самцов. Пробирки плотно закрывают хорошо скрученными ватными пробками.

4. На каждую пробирку наклеивают этикетку с указанием генотипов мух, фамилии студентов, даты скрещивания.

5. Пробирки с одним скрещиванием скрепляют резинкой.

6. Пробирки оставляют в горизонтальном положении до тех пор, пока мухи не проснутся от наркоза.

7. Пробирки помещаются в коробку с номером курса и подгруппы. Через неделю из пробирки удаляются родители. Анализ потомства производится через 10-14 дней.

Лабораторная работа № 1. Правила работы с дрозофилой

Цель работы: ознакомиться с учебным объектом *Dr. melanogaster*.

Задачи:

1. Изучить внешний вид особей дрозофилы на разных стадиях развития.

2. Освоить основные правила работы с дрозофилой.
3. Провести сравнение мужских и женских особей *Dr. Melanogaster*.

4. Научиться отбирать виргинных самок дрозофилы для последующих скрещиваний

Биологический материал: культуры *Dr. Melanogaster (Normal)* с мухами разного возраста, культуры *Dr. Melanogaster* не старше 10-12 часов после вылупления.

Оборудование:

- Стаканчики (пробирки) d=4 см, h=10 см и вата (для пробок);
- Эфир и морилка;
- Тонкий пинцет для разбора мух или кисть;
- Молочно-белое стекло (5x10 см), или лист белой бумаги;
- Лупа;
- Этикетки или карандаши для письма по стеклу.

Ход работы:

1. Внимательно рассмотреть особей *Dr. Melanogaster* в пробирках. Обнаружить мух на всех этапах цикла развития – яйца, личинки, куколки и взрослые мухи.
2. Зарисовать дрозофил на разных стадиях развития.
3. Мух из пробирки с дрозофилами разного возраста перенести в морилку и усыпить.
4. Разместить наркотизированных мух на матово-белом стекле, сориентировав их по отношению к источнику света.
5. Рассмотреть, используя лупу, и сравнить морфологические особенности особей мужского и женского полов.
6. Зарисовать в лабораторном журнале самок и самцов дрозофилы. Описать половой диморфизм.
7. Дрозофил из пробирки с молодыми мухами перенести в морилку и усыпить.
8. Расположить мух на матово-белом стекле, выбрать по морфологическим признакам виргинных самок.
9. Изолировать девственных самок в новые пробирки со средой.
10. Сделать выводы.

Лабораторная работа № 2. Приготовление питательной среды

Цель работы: познакомиться с условиями содержания дрозофилы и научиться приготавливать питательную среду.

Задачи:

1. Ознакомиться с оптимальными условиями содержания и разведения дрозофилы.
2. Научиться обрабатывать посуду для разведения дрозофил.
3. Освоить навыки приготовления питательной среды.

Оборудование: весы, колбы, кастрюля и плитка.

Реактивы: вода, агар-агар, дрожжи, сахар, манная крупа.

Ход работы:

1. Все составные части среды отвесить на технических весах.
2. В колбу I поместить навески сахара, манки и агар-агара, в колбу II - дрожжей.
3. Отмерить воду и разделить ее поровну между колбами I и II.
4. Поставить обе колбы в паровую баню, и периодически помешивая довести до растворения агар-агара (30 мин).
5. Соединить содержимое колб и добавить щепотку бензойной кислоты, тщательно перемешать.
6. Поставить в паровую баню на 30 минут.
7. Охладить до +60-70⁰ С, разлить по стерильным пробиркам.

ТЕМА 2. МУТАНТНЫЕ ФОРМЫ ДРОЗОФИЛЫ

Для генетического анализа муху дрозофилу начали использовать с 1910 г., когда Т. Морган обнаружил первую мутационно возникшую наследственную расу – белоглазую муху (white). К числу органов дрозофилы, чаще всего, подвергающихся мутационным изменениям, относятся глаза и крылья.

Мутации глаз. Глаза нормальной мухи (*Normal*) красного цвета, устроены по типу сложных фасеточных глаз насекомых. Сложный глаз состоит из многих простых глазков – фасеток (омматидий). У самок их число приблизительно 780, у самцов – 740. Каждая фасетка состоит из чувствительных клеток и проводящих путей, которые соединяют глаз с головным мозгом. Мутации, затрагивающие различные особенности глаза, разнообразны. Ниже представлены наиболее частые из них.

Изменение пигментации глаз. Характерный диким дрозофилам цвет глаз изменяется с большим спектром переходов от цвета бордо до бесцветного. Примерами таких мутаций являются *bordeaux* (бордовый цвет глаз), *carmine* (карминный), *carnation* (алоглазый), *cinnabar* (киноварноглазый), *light* (светлоглазый), *raspberry* (малиновый цвет глаз) и другие.

Изменение формы глаза, строения и расположения фасеток. У нормальной мухи фасетки расположены наподобие ячеек пчелиных сот, у мутантов правильность их расположения нарушена. К мутациям, затрагивающим данную характеристику глаз, относятся *rough* (грубые фасетки), *Star* (звёздчатый) и другие.

Изменение размера глаз. В этом случае мутации приводят к редукции глазных фасеток. Наиболее яркое проявление уменьшения глаз демонстрируют мутанты *Bar* (полосковидный), *Lobe* (лопастной), *eyeless* (безглазый). Одновременно с редукцией глаз происходит значительное уменьшение размеров головы по сравнению с головой нормальной мухи.

Мутации крыльев. Большинство мутаций крыльев хорошо различимы невооруженным глазом, либо при слабом увеличении. Выделяют три группы мутаций рассматриваемого органа.

Изменение общей конфигурации крыла. У нормальной мухи крыло прямое плоское. У мутантов оно может быть изогнуто в виде арки (*arc*), лыжи (*ski*), закрученное кверху (*Curly*), книзу (*curved*) и т.д.

Изменение жилкования. Такие модификации выражаются в исчезновении одной или нескольких жилок (*crossveinless*), появление добавочных жилок (*plexus, Delta*).

Изменение размера крыла. У мутантов этой группы наблюдается уменьшение крыла в той или иной степени. Таковы, например, мутанты *cut, dumpy* – вырезанный, *small wing* – маленькие крылья, *vestigial* – зачаточные крылья, *apterous* – бескрылый.

Помимо рассмотренных мутаций довольно часто изменениям подвергаются щетинки и волоски. Для щетинок, или макрохет, характерно их исчезновение или удвоение. Мутационные изменения волосков (микрохет) выражаются в их ином расположении и в образовании добавочных волосков.

Также существует большое число мутантов с измененной пигментацией тела, строением ножек, усиков и тергитов.

Гомеозисные мутации. В особую группу выделяются мутации гомеозисных генов, которые проявляются в трансформации одного сегмента тела в другой. У дрозофилы выделяют два комплекса гомеозисных генов:

1) комплекс **Antennapedia**, включающий гены: *Antennapedia (Antp)*, *Sex comb reduced (Scr)* и *Deformed (Dfd)*. Гены этой области контролируют развитие структур головы, первого грудного сегмента и переднего компартмента второго грудного сегмента. Мутации генов этой группы вызывают превращение головных сегментов в торакальные. Например, гомеозисный мутант *Antennapedia*, у которого структуры антенны трансформированы в структуры ноги. Изредка трансформация может захватывать целую антенну и она вся превращается в ногу, однако чаще она ограничена отдельными члениками антенны.

2) **bithorax-комплекс**, гены которого детерминируют развитие остальных грудных и всех брюшных сегментов. Этот комплекс включает три гена, кодирующих белки: *Ultrabithorax (Ubx)*, *Abdominal A (abd A)* и *Abdominal B (abd B)*. Наиболее известной мутацией данной группы является появление добавочной пары крыльев у мутанта *bithorax*.

Номенклатура мутаций. При работе с *Dr. Melanogaster* принято использовать особую схему обозначения мутаций. Ниже приведены лишь основные положения этой схемы, необходимые для описания проводимых студентами экспериментов. Подробное описание номенклатуры мутаций дрозофилы можно найти в справочнике Линдсли Д., Грел Е., 1968.

Особенности номенклатуры генных мутаций *Dr. Melanogaster*:

- Мутации дается название, отражающее самые яркие мутантные признаки. В качестве названия используют короткое и простое прилагательное (*black*) или существительное (*Bar*), на английском или латинском языке.

- Каждой мутации соответствует свой символ. Он начинается с той же буквы, что и название мутации. Название и символ мутации пишутся курсивом (*blac*, *b*).

- Название и символ рецессивной мутации пишутся, со строчной буквы (*dumpley*, *dp*). Название и символ доминантной мутации пишутся с заглавной буквы (*Bar*, *B*).

- Мутации с одинаковым фенотипическим проявлением, но расположением в разных локусах, имеют индивидуальные название. Например, ярко-красный цвет глаз может быть обусловлен мутациями *scalet*, *cinnabar*, *cardinal*.

- Нормальные аллели обозначаются либо знаком “+”, либо с индексом “+” – “b+”.

- Данные о локализации мутаций приводятся в следующем виде: номер хромосомы, затем, через запятую, место в хромосоме. Например, для *white*, локализованной на 1,5 единиц карты в первой хромосоме, написано: I, 1,5. У дрозофилы первая группа сцепления соответствует X хромосоме, вторая и третья – двум большим аутосомам, четвертая – малой аутосоме.

Характеристика наиболее используемых мутантных линий *Dr. Melanogaste* приведена в приложении 1.

К сожалению, возможности лаборатории не всегда позволяют поддерживать коллекцию большого числа мутантных линий и для изучения фенотипических проявлений мутаций часто приходится использовать фиксированные препараты. Чтобы обеспечить возможность наилучшим образом охарактеризовать фенотипические проявления мутаций, важно правильно приготовить фиксированный препарат.

Методика приготовления фиксированных препаратов из биологических объектов включает в себя следующие этапы:

1. **Фиксация.** Это сохранение материала в состоянии, близком к прижизненному. Для фиксации необходимо быстро умертвить ткани. Используемое для этого вещество называется **фиксатором**. Быстрой фиксацией обеспечивается сохранение изначальной структуры объекта.

2. **Обезвоживание.** Обезвоживание подразумевает удаление из биологического объекта водной среды. Воду необходимо удалить также потому, что иначе со временем препарат будет разрушен бактериями. Для того чтобы сохранить ультраструктуру, обезвоживание надо проводить постепенно, обрабатывая материал рядом водных растворов этанола или пропанона (ацетона) со все возрастающей концентрацией, и закончить обработку "абсолютным" (чистым) этанолом или пропаномом.

3. Просветление. Некоторые из общеупотребимых сред для заливки и заключения не смешиваются со спиртом. Поэтому его надо постепенно замещать средой (**просветляющее вещество**), с которой заливочная среда смешивается, например ксилолом. Это приводит также к тому, что материал становится прозрачным.

4. Заливка препарата: для сохранения структуры препарат помещается в определенную среду, чаще всего канадский бальзам. При работе с дрозофилой особенно важно учесть объем фиксируемого объекта.

Лабораторная работа № 3. Сравнительная характеристика мутантных линий *Dr. melanogaster*

Цель работы: ознакомиться с коллекцией мутантных линий *Dr. melanogaster*.

Задачи:

1. Рассмотреть мужские и женские особи мутантов дрозофилы.
2. Провести сравнение мутантов дрозофилы с мухами дикого типа.
3. Описать мутантные линии дрозофилы.
4. Изучить основные обозначения, принятые при работе с *Dr. melanogaster*

Биологический материал: мутантные линии *Dr. Melanogaster*, мухи *Normal*, коллекция фиксированных препаратов мутантов дрозофилы.

Оборудование: эфир и морилки, молочно-белое стекло, лупа, пинцеты, кисти, микроскопы.

Ход работы:

1. Перенести мух в морилку и усыпить их.
2. Разместить мух в ряд на матово-белом стекле, сориентировав их по отношению к источнику света.
3. Внимательно рассмотреть, используя лупу, морфологические особенности мутантов и сравнить их с признаками мух дикого типа.
4. Аналогично провести ознакомление с мутантными линиями, представленными на фиксированных препаратах.
5. Дать подробное описание изученным мутантам дрозофилы.
6. Сделать выводы.

Лабораторная работа № 4. Приготовление фиксированных препаратов дрозофилы различных мутантных линий

Цель работы: освоение методики приготовления микропрепаратов с использованием *Dr. melanogaster*.

Задачи:

1. Дать характеристику исследуемых линий *Dr. melanogaster*.
2. Провести сравнительный анализ исследуемых мутантных линий.
3. Приготовить постоянный препарат объекта *Dr. melanogaster*.

Оборудование: микроскопы, чашки Петри, предметные и покровные стекла, кисточки, пинцеты, пробирки, пипетки, планшетка для мух, эппендорфы.

Реактивы: 70% и 96% этиловый спирт; эфир; растворы с отношением 2 части спирта к 1 части ксилола, 1 часть спирта и 1 часть ксилола; ксилол 1; ксилол 2; канадский бальзам.

Ход работы:

1. Приготовить морилку и наркотизировать мух.
2. Наркотизированных мух поместить в эппендорф объёмом 1,5 мл, закрепленный на планшете.
3. Залить мух раствором 70% этилового спирта до отметки 0,2 в эппендорфе и выдержать 2-3 минуты.
4. Пипеткой удалить раствор из эппендорфа и перенести в ёмкость с надписью «Слив».
5. Залить мух раствором 96% этилового спирта до отметки 0,2 в эппендорфе и выдержать 2-3 минуты.
6. Пипеткой удалить раствор из эппендорфа и перенести в ёмкость с надписью «Слив».
7. Залить мух раствором из 2 частей спирта и 1 части ксилола до отметки 0,2 в эппендорфе и выдержать 2-3 минуты.
8. Пипеткой удалить раствор из эппендорфа и перенести в ёмкость с надписью «Слив».
9. Залить мух раствором из 1 части спирта и 1 части ксилола до отметки 0,2 в эппендорфе и выдержать 2-3 минуты.
10. Пипеткой удалить раствор из эппендорфа и перенести в ёмкость с надписью «Слив».
11. Залить мух раствором чистого ксилола 1 до отметки 0,2 в эппендорфе и выдержать 2-3 минуты.
12. Пипеткой удалить раствор из эппендорфа и перенести в ёмкость с надписью «Слив».
13. Залить мух раствором чистого ксилола 2 до отметки 0,2 в эппендорфе и выдержать 2-3 минуты.
14. Пипеткой удалить раствор из эппендорфа и перенести в ёмкость с надписью «Слив».
15. Поместить по 2 мушки (самку и самца) на предметное стекло, смоченное ксилолом, и тщательно расправить под бинокуляром.
16. Нанести сверху 1-2 капли канадского бальзама.
18. Аккуратно накрыть покровным стеклом, стараясь не допустить образования пузырьков воздуха. Не прижимать покровное стекло!
19. Подписать этикетку с указанием мутантной линии и фамилии студента.
20. Поместить препарат в планшетку до полного высыхания бальзама. Ни в коем случае не помещать препарат ПОВЕРХ других!

ТЕМА 3. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОНОГИБРИДНОГО СКРЕЩИВАНИЯ

Моногенным называется наследование, в котором в анализе участвуют признаки, определяемые одним геном. В **моногибридном скрещивании** родительские организмы отличаются по одной паре контрастных альтернативных признаков. Например, серое и черное тело у дрозофилы. Скрещивание особей с такими альтернативными признаками и является моногибридным. В первом поколении этого скрещивания появляются гибридные особи. Из двух альтернативных вариантов у гибридов первого поколения развивается только один доминантный признак (серое тело у дрозофилы), а второй – рецессивный – не проявляется (черное тело у дрозофилы). Преобладание у гибрида первого поколения признака одного из родителей Мендель назвал **доминированием**, а закон получил название **первого закона Менделя или единообразия гибридов первого поколения**.

При скрещивании гибридных особей первого поколения между собой во втором поколении наблюдается появление потомков с признаками обоих родителей. Причем, расщепление признаков подчиняется строгим количественным закономерностям: $\frac{3}{4}$ всех гибридов второго поколения несут доминантный признак (серое тело дрозофилы), а $\frac{1}{4}$ – рецессивный (черное тело дрозофилы). Расщепление во втором поколении в определенном количественном соотношении доминантных и рецессивных форм называется **законом расщепления или вторым законом Менделя**.

Лабораторная работа № 5. Моногибридное скрещивание дрозофилы

Цель работы: освоить правила постановки скрещиваний *Drosophila melanogaster*, изучить закономерности моногенного наследования признаков.

Задачи:

1. Освоить методику постановки скрещиваний.
2. Осуществить скрещивание дрозофил линий Normal и ebony.
3. Провести статистический анализ моногенного наследования мутации ebony с использованием метода χ^2 .

Биологический материал: линии *Drosophila melanogaster* Normal (серое тело), ebony (черное тело).

Оборудование: стаканчики или широкие пробирки диаметром 4 см со свежеприготовленной средой; ватные пробки; эфир и морилки; молочно-белое стекло; лупа; пинцеты; кисти.

Ход работы:

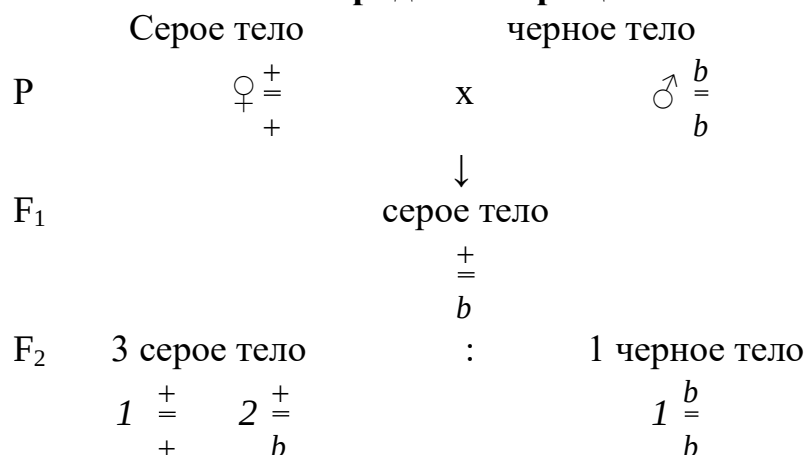
1. Проведите наркотизацию мух. Правила наркотизации приведены в лабораторной работе №1.

2. Изучите и опишите морфологию линий дрозофилы Normal и ebony, пользуясь данными лабораторной работы №2.

3. Проведите постановку скрещивания: 2-3 виргинные самки линии black поместить в стаканчик со средой с 3-5 самцами линии Normal. Для обратного скрещивания 2-3 виргинные самки Normal поместите в стаканчик со средой с 3-5 самцами black. Пробирки подпишите (прямое/обратное скрещивание, ФИО, дата). Данные занесите в ваш лабораторный журнал.

4. Составьте схему скрещивания и определите ожидаемое расщепление по фенотипу и генотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая рецессивный характер мутации ebony. Сформулируйте нулевую гипотезу о характере наследования данной мутации.

Схема моногибридного скрещивания



5. Через 10-12 суток после постановки скрещивания, когда в стаканчике начнется массовое вылупление мух F₁, их следует усыпить и проанализировать фенотипы гибридов первого поколения прямого и обратного скрещиваний относительно цвета тела и подсчитать точное число потомков. Результаты занесите в таблицу 5.1.

Таблица 5.1

Результаты гибридологического анализа при скрещивании дрозофил линий black и Normal

Фенотипы гибридов	Прямое скрещивание ♀black x ♂Normal			Обратное скрещивание ♀ Normal x ♂ black		
	Всего	В том числе		Всего	В том числе	
		♀	♂		♀	♂
Гибриды F ₁ :	65	35	30	40	25	15
Гибриды F ₂ :						

6. Среди гибридов F₁ отберите 2-3 женские особи и 5-6 мужских и поместить их в чистые пробирки с питательной средой для получения F₂. Подпишите пробирки.

7. Через 10-12 дней в стаканчиках начнется массовое вылупление мух F₂. Их следует усыпить и анализировать на матово-белом стекле. Проанализируйте фенотипы гибридов второго поколения относительно цвета тела. Согласно закону расщепления Менделя у ¼ гибридов второго поколения, как от прямого, так и от обратного скрещивания дрозофил, должна проявиться рецессивная мутация – черное тело. Результаты занести в таблицу 5.1.

8. Пользуясь методом соответствия (χ^2) определите теоретически ожидаемую величину для каждого фенотипического класса расщепления во втором поколении: суммарное значение потомков разделить на суммарное число возможных генотипических классов (4 класса для моногибридного скрещивания) и умножить получившуюся величину для каждого фенотипического класса в соответствии с предполагаемой формулой расщепления (3:1 в данном случае). Полученные значения занести в таблицу 5.2.

Таблица 5.2

Результаты гибридологического анализа при моногибридном скрещивании дрозофил линий black и Normal

Линии и гибриды	Получено мух			Теоретически ожидаемое	
	Всего	В том числе		Normal	black
		Normal	black		
F ₁ ♀ black- ♂ Normal	65	65	-		
F ₁ ♀ Norma- ♂ black	40	40	-		
F ₂ ♀ black- ♂ Normal	60	47	13	45	15
F ₂ ♀ Normal- ♂ black	80	55	25	60	20

9. Определите величину χ^2 формуле $\chi^2 = \sum (o-n)^2/o$, где n - наблюдаемые данные, o – ожидаемые, теоретические данные. В данном примере:

$$\chi^2 = (15-15)^2/15 + (30-32)^2/30 = 0,4 \text{ (для прямого скрещивания)}$$

$$\chi^2 = (60-55)^2/60 + (20-25)^2/20 = 1,72 \text{ (для обратного скрещивания)}$$

10. Оцените величину χ^2 по таблице Фишера с учетом степеней свободы и допустимой вероятностью (см. приложение 2). Число степеней свободы – это число независимо рассчитанных теоретически ожидаемых

величин. Число степеней свободы определяется как число фенотипических классов минус один (в данном опыте число степеней свободы равно 1). Вероятность есть не что иное, как вероятность данной нулевой гипотезы. Для биологических дисциплин принята вероятность 95%, поэтому допустимой границей вероятности является величина 0,05. Это означает, что на каждые 20 показателей допускается 1 ошибка.

11. Сформулируйте выводы о правильности нулевой гипотезы о характере наследования мутации ebony. Если величина χ^2 в опыте меньше теоретической, то различия между наблюдаемыми и ожидаемыми данными случайны и гипотеза не отвергается. Нулевая гипотеза отвергается, если значение χ^2 выше того, что дано в графе $P=0,05$ при соответствующем числе степеней свободы. В данном примере χ^2 наблюдаемое (0,4 и 1,72) < чем χ^2 ожидаемое (3,84), следовательно, гипотеза о моногенном наследовании мутации black и расщеплении по фенотипу у гибридов второго поколения в соотношении 3:1 верна при 1 степени свободы.

Комплект задач по теме «Генетический анализ моногибридного скрещивания»

1. У мухи дрозофилы полосковидные глаза (Var) доминируют над нормальным расположением фасеток. Скрещиваются гомозиготная дрозофила с нормальными глазами с гетерозиготной мухой с полосковидными глазами. Какой генотип и фенотип будет иметь потомство от этого скрещивания и в каком соотношении?

2. При скрещивании нормальных мух между собой в потомстве 25 % мух оказались бескрылыми (мутация apterous). Их скрестили с нормальными мухами и получили 41 особь без крыльев и 43 особи с нормальными крыльями. Определите генотипы скрещиваемых форм и потомства.

3. При скрещивании дрозофил с серым телом получено поколение F_1 : 7 серых мух и 2 с темной полоской на груди (мутация band). Как наследуется данный признак и каковы генотипы родителей?

4. При скрещивании серых мух и мух с темной полоской на груди (мутация band) получено потомство: 50 серых мух и 50 мух с мутацией band. Каковы генотипы родителей?

5. У дрозофилы серая окраска тела доминирует над черной (black). Каким следует ожидать поколение F_1 от скрещиваний: $+/+$ и $+/b$, $+/+$ и bb , $+/b$ и bb ?

6. Каким будет поколение F_2 от скрещивания мух со стекловидными глазами с нормальными (гомозиготными по изучаемому признаку)?

7. При скрещивании дрозофил нормального фенотипа $1/4$ потомков оказалась с уменьшенными глазами. Их повторно скрестили с нормальными мухами и получили 37 особей с уменьшенными глазами и 39 с нормальными. Объясните результаты. Определите генотипы скрещиваемых форм.

8. У дрозофилы серая окраска тела доминирует над черной. Каковы генотипы родительских форм в следующих скрещиваниях:

Родители	Потомство
черная×черная	233 с черной
черная×серая	119 с серой, 123 с черной
серая×серая	237 с серой
серая×черная	225 с серой
серая×серая	170 с серой, 60 с черной

9. При скрещивании фенотипически нормальной самки и самца дрозофилы в первом случае получено потомство, состоящее из 98 особи дикого типа и 51 мутантного фенотипа, во втором случае – только из 159 особей дикого типа. Объясните полученные результаты. Как можно проверить выдвинутые гипотезы?

10. При скрещивании дрозофил с зачаточными крыльями и нормальных особей в F₂ получено расщепление: 4626 длиннокрылых и 1234 мухи с зачаточными крыльями. Нетрудно убедиться (например, методом χ^2), что отклонение от теоретически ожидаемого 3:1 значительно. В чем, по-вашему, причина такого отклонения? Можно ли из данных опыта определить относительную жизнеспособность зигот, гомозиготных по аллелю зачаточных крыльев?

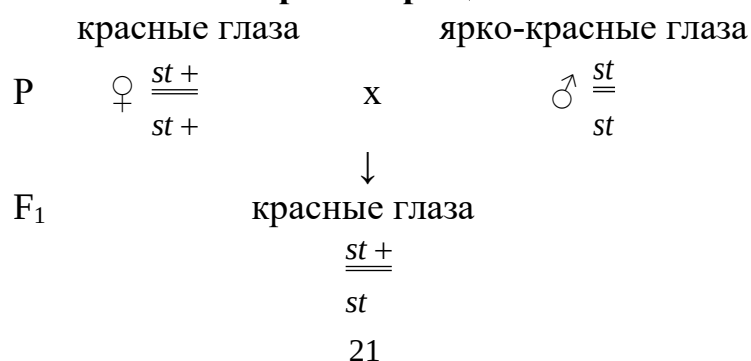
ТЕМА 4. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ НЕАЛЛЕЛЬНЫХ ГЕНОВ

У дрозофилы в наследовании ряда признаков довольно четко проявляется комплементарный тип взаимодействия генов, в случае которого совместное наличие в генотипе доминантных аллелей двух генов (*A-B-*) обуславливает развитие нового признака по сравнению с действием каждого гена в отдельности (*A-вв*) и (*aaB-*).

Явление комплементарности можно рассмотреть на примере наследования окраски глаз у дрозофилы, у которой наряду с дикой окраской глаз встречается коричневая и ярко-красная.

Для генетического анализа этих окрасок необходимо провести три скрещивания: 1) красноглазых мух (*Normal*) с ярко-красными (*scarlet*, *st*, III), 2) красноглазых с коричневоглазыми (*brown*, *bw*, II) и 3) мух, имеющих ярко-красные глаза и коричневые глаза.

Первое скрещивание



$$F_2 \quad 3 \text{ красные глаза} \quad : \quad \text{ярко-красные глаза}$$

$$\frac{\underline{st+}}{st+} \quad 2 \quad \frac{\underline{st+}}{st} \quad \frac{\underline{st}}{st}$$

Приведенное скрещивание свидетельствует о том, что красная и ярко-красная окраски глаз наследуются моногенно, причем аллель красного пигмента доминантна (st^+), а ярко-красного – рецессивна (st).

Второе скрещивание

$$P \quad \begin{array}{cc} \text{красные глаза} & \text{коричневые глаза} \\ \text{♀ } \frac{\underline{bw+}}{bw+} & \times \quad \text{♂ } \frac{\underline{bw}}{bw} \end{array}$$

$$\downarrow$$

$$F_1 \quad \text{красные глаза} \quad \frac{\underline{bw+}}{bw}$$

$$F_2 \quad 3 \text{ красные глаза} \quad : \quad 1 \text{ коричневые глаза}$$

$$\frac{\underline{bw+}}{bw+} \quad 2 \quad \frac{\underline{bw+}}{bw} \quad \frac{\underline{bw}}{bw}$$

Из второго скрещивания следует, что красная и коричневая окраски также определяются аллелями одного гена, причем красный пигмент (bw^+) доминирует над коричневым (bw).

Третье скрещивание

$$P \quad \begin{array}{cc} \text{коричневые} & \text{ярко-красные глаза} \\ \text{♀ } \frac{\underline{st+} \underline{bw}}{st+ bw} & \times \quad \text{♂ } \frac{\underline{st} \underline{bw+}}{st bw+} \end{array}$$

$$\downarrow$$

$$F_1 \quad \text{красные глаза} \quad \frac{\underline{st+} \underline{bw+}}{st bw}$$

$$F_2 \quad 9 \text{ красные глаза} : 3 \text{ коричневые глаза} : 3 \text{ ярко-красные глаза} : 1 \text{ белые глаза}$$

$$\begin{array}{cccc} \frac{\underline{st+} \underline{bw+}}{—} \quad \frac{\underline{st+} \underline{bw+}}{—} & \frac{\underline{st+} \underline{bw+}}{— bw} & \frac{\underline{st} \underline{bw+}}{st —} & \frac{\underline{st} \underline{bw}}{st bw} \end{array}$$

Из первых двух скрещиваний вытекало, что коричневоглазые мухи имеют генотип $\frac{bw}{bw}$, ярко-красные — $\frac{st}{st}$. Появление в F_1 третьего скрещивания красноглазых мух, которые, согласно первому и второму скрещиванию, имеют доминантные аллели st^+ и bw^+ , свидетельствует о том, что данные аллели должны быть в том или ином сочетании в генотипах мух всех исходных линий. Таким образом, генотип

красноглазых мух будет $\frac{st+ bw+}{st+ bw+}$, мух с ярко-красными глазами – $\frac{st\ bw+}{st\ bw+}$, с коричневыми глазами – $\frac{st+ bw}{st+ bw}$. Следовательно, скрещивания красноглазых мух ($\frac{st+ bw+}{st+ bw+}$) с мухами, имеющими ярко-красные глаза ($\frac{st\ bw+}{st\ bw+}$), как и с мухами с коричневыми глазами ($\frac{st+ bw}{st+ bw}$) являются моногибридными скрещиваниями, дающими в F₂ расщепление 3:1.

В третьем скрещивании проявляются два новообразования, характерных для комплементарного взаимодействия генов - красная окраска глаз у гибридов F₁ и белая у одного из фенотипических классов F₂. Используя результаты первых двух скрещиваний, делаем вывод, что гибриды F₁ третьего скрещивания - дигетерозиготы $\frac{st+ bw+}{st\ bw}$, дающие в потомстве расщепление по генотипу, как в дигибридном скрещивании: 3 красноглазые *Normal* : 3 *brown* : 3 *scarlet* : 1 *white*. Появившиеся в F₂ белоглазые мухи (*white*) имеют генотип $\frac{st\ bw}{st\ bw}$. В отдельности каждый из рецессивных аллелей имеет самостоятельное проявление (*st* – ярко-красная пигментация глаз, *br* - коричневая).

Для изучения комплементарного взаимодействия генов могут быть проведены скрещивания также между иными линиями дрозофил. Так, очень наглядным является скрещивание мутантов *ebony* (*eb*) и *black* (*b*) с черной окраской тела. Данная пигментация тела у дрозофилы может быть обусловлена различными генами: либо геном, локализованным в III хромосоме (*eb*), либо геном, локализованным во II хромосоме (*b*). Каждый из этих генов рецессивен по отношению к гену *Normal*, обуславливающему серую окраску тела. При скрещивании мутантов *ebony* и *black*, имеющих черную окраску тела, все особи F₁ имеют серую окраску тела, что может быть обусловлено только одновременным присутствием двух этих генов. В F₂ должно быть: 9 *Normal* : 3 *ebony* : 3 *black* : 1 *ebony-black*. Фенотипически все особи *ebony*, *black*, *ebony-black*, имеющие черную окраску тела, неотличимы, поэтому по фенотипу расщепление будет 9/16 серых : 7/16 черных.

Другим опытом, демонстрирующим взаимодействия генов, может быть скрещивание между мутантами *Lobe* и *eyeless*. Мутанты *Lobe* и *eyeless* имеют различную степень редукции глаз. Ген *Lobe* локализован во II, а ген *eyeless* в IV хромосомах. Анализ мух F₂ скрещивания *Lobe* x *eyeless* показывает, что 3/16 мух имеют нормальные глаза, а 13/16 – имеют глаза в различной степени редуцированные, в зависимости от того, находится ли ген *L*, либо ген *eu*, либо оба вместе.

Лабораторная работа № 6. Комплементарное взаимодействие генов при формировании окраски глаз у дрозофилы

Цель работы: ознакомиться с комплементарным взаимодействием генов на примере наследования окраски глаз у дрозофилы.

Задачи:

1. Составить схемы скрещиваний № 1 - ♀ *Normal* x ♂ *scarlet*, № 2 - ♀ *Normal* x ♂ *brown*, № 3 - ♀ *scarlet* x ♂ *brown* и рассчитать теоретически ожидаемое расщепление в F₂.
2. Провести скрещивание № 1 - ♀ *Normal* x ♂ *scarlet*.
3. Провести скрещивание № 2 - ♀ *Normal* x ♂ *brown*.
4. Провести скрещивание № 3 - ♀ *scarlet* x ♂ *brown*.
5. Проанализировать F₁ скрещиваний № 1, № 2, № 3 и подобрать пары для получения F₂.
6. Получить мух поколения F₂ от трёх скрещиваний и проанализировать результаты.

Биологический материал: линии *Drosophila melanogaster Normal* (красные глаза), *scarlet* (ярко-красные глаза), *brown* (коричневые глаза).

Оборудование: пробирки со свежеприготовленной средой, ватные пробки, эфир и морилки, молочно-белое стекло, лупа, пинцеты, кисти.

Ход работы:

Студенты работают подгруппами по 3 человека в каждой, в соответствии с тремя типами анализируемых скрещиваний.

1. Скрещивание мух с красными и ярко-красными глазами.

1.1. Составить схему первого скрещивания, определить теоретически ожидаемое расщепление.

1.2. Отобрать 2-3 виргинные самки *Normal* и поместить в стаканчик со средой с 3-4 самцами линии *scarlet*.

1.3. Дождаться массового вылупления мух F₁ (через 10-12 суток после постановки скрещивания), усыпить и проанализировать. Следует убедиться, что все мухи имеют красные глаза и установить доминирование красной окраски над ярко-красной. Результаты записать в таблицу 6.1.

1.4. Среди гибридов F₁ следует отобрать 2-3 женские особи и 3-4 мужских и поместить их в чистые пробирки с питательной средой для получения F₂.

1.5. Через 10-12 дней усыпить и проанализировать мух F₂. Необходимо установить явление расщепления, подсчитать мух в каждом классе (мухи красными и ярко-красными глазами), занести результаты в таблицу 6.1.

Таблица 6.1

Результаты гибридологического анализа при скрещивании дрозофил линий *Normal* и *scarlet*

Линии или гибриды	Проанализировано особей			Расщепление	
	Всего	В том числе		Теоретически ожидаемое	фактически полученное
		с красными	с ярко-		

		глазами	красными глазами		
Гибриды F ₁ Гибриды F ₂					

1.6. Провести статистическую обработку результатов методом χ^2 и доказать их соответствие расщеплению 3:1; убедиться, что данное скрещивание - моногибридное.

2. Скрещивание мух с красными (*Normal*) и коричневыми (*brown*) глазами.

2.1. Составить схему второго скрещивания, определить теоретически ожидаемое расщепление.

2.2. Отобрать 2-3 виргинные самки *Normal* и поместить в стаканчик со средой с 3-4 самцами линии *brown*.

2.3. Дождаться массового вылупления мух F₁ (через 10-12 суток после постановки скрещивания), усыпить и проанализировать. Следует убедиться, что все мухи имеют красные глаза и установить доминирование красной окраски над коричневой. Результаты записать в таблицу 6.2.

Таблица 6.2

**Результаты гибридологического анализа при скрещивании
дрозофил линий *Normal* и *brown***

Линии или гибриды	Проанализировано особей			Расщепление	
	Всего	В том числе		Теоретически ожидаемое	фактически полученное
		с красными глазами	с коричневыми глазами		
Гибриды F ₁ Гибриды F ₂					

2.4. Среди гибридов F₁ следует отобрать 2-3 женские особи и 3-4 мужских и поместить их в чистые пробирки с питательной средой для получения F₂.

2.5. Через 10-12 дней усыпить и проанализировать мух F₂. Необходимо установить явление расщепления, подсчитать мух в каждом классе (мухи красными и коричневыми глазами), занести результаты в таблицу 6.2.

2.6. Провести статистическую обработку результатов методом χ^2 и доказать их соответствие расщеплению 3:1; убедиться, что данное скрещивание - моногибридное.

3. Скрещивание мух с ярко-красными (*scarlet*) и коричневыми (*brown*) глазами.

3.1. Составить схему третьего скрещивания, определить теоретически ожидаемое расщепление.

3.2. Отобрать 2-3 виргинные самки *brown* и поместить в стаканчик со средой с 3-4 самцами линии *scarlet*.

3.3. Дождаться массового вылупления мух F_1 (через 10-12 суток после постановки скрещивания), усыпить и проанализировать. Следует убедиться, что все мухи имеют красные глаза, т.е. установить факт проявления нового признака. Результаты записать в таблицу 6.3.

Таблица 6.3

**Результаты гибридологического анализа при скрещивании
дрозофил линий *scarlet* и *brown***

Линии или гибриды	Проанализировано особей					Расщепление	
	Всего	В том числе				Теоретически ожидаемое	Фактически полученное
		с красным и глазами	с ярко- красным и глазами	с коричневым и глазами	с белым и глазами		
Гибриды F_1 Гибриды F_2							

3.4. Среди гибридов F_1 следует отобрать 2-3 женские особи и 3-4 мужских и поместить их в чистые пробирки с питательной средой для получения F_2 .

3.5. Через 10-12 дней усыпить и проанализировать мух F_2 . Необходимо разбить потомство на четыре фенотипических класса (мухи красными глазами, с ярко-красными, коричневыми и белыми глазами), установить явление расщепления и появления ещё одного новообразования. Подсчитать мух в каждом классе, занести результаты в таблицу 6.3.

3.6. Провести статистическую обработку результатов методом χ^2 и доказать их соответствие расщеплению 9:3:3:1; убедиться, что данное скрещивание - дигибридное.

4. Познакомиться с результатами скрещиваний № 1, № 2 и № 3 у товарищей по группе и записать результаты в таблицы 6.1, 6.2, 6.3.

5. Сформулировать общие выводы о характере наследования изученных мутаций, определяющих цвет глаз у дрозофилы.

**Комплект задач по теме «Генетический анализ при взаимодействии
неаллельных генов»**

1. От скрещивания самок дрозофилы, имеющих коричневые глаза, с самцами, имеющими ярко-красные глаза, в F_1 получено красноглазое потомство. В F_2 наблюдалось следующее расщепление: 128 с ярко-красными глазами, 40 с белыми глазами, 383 с красными глазами, 121 с коричневыми глазами. Определите генотипы родителей и потомства и объясните полученные результаты.

2. В распоряжении исследователя имеются две линии дрозофилы: одна, имеющая ярко-красную, вторая – коричневую окраску глаз. Линии

отличаются друг от друга по двум неаллельным рецессивным генам, наследующимся независимо. Как исследователю можно получить гомозиготную линию с дикой окраской глаз?

3. У дрозофилы при трансплантации глазных имажинальных дисков на личиночной стадии в реципиентных организмах они развиваются в окрашенные глазные структуры, расположенные на брюшке мух. Бидл и Эфрусси проводили эксперименты по пересадке имажинальных дисков с использованием трех линий дрозофилы: линии 1 дикого типа, линии 2 с ярко-красной окраской глаз – *v* (*vermilion*, I) и линии 3 – *cn* (*cinnabar*, II). Были получены следующие результаты:

Донор	Реципиент	Окраска добавочного глаза
<i>v/v</i>	<i>v/v</i>	ярко-красная
<i>cn/cn</i>	<i>cn/cn</i>	ярко-красная
<i>v/v</i>	Дикий тип (<i>v⁺/v⁺</i> ; <i>cn⁺/cn⁺</i>)	дикого типа
<i>cn/cn</i>	Дикий тип (<i>v⁺/v⁺</i> ; <i>cn⁺/cn⁺</i>)	дикого типа
<i>cn/cn</i>	<i>v/v</i>	ярко-красная
<i>v/v</i>	<i>cn/cn</i>	дикого типа

Объясните полученные данные. Приведите скрещивания, подтверждающие выдвинутые предположения.

4. У дрозофилы доминантный аллель гена *H* уменьшает число щетинок на теле. В гомозиготном состоянии он летален. Доминантный аллель гена *S* вызывает формирование звездчатой формы глаз, обладает рецессивным летальным действием и супрессирует морфологическое проявление аллеля *H* (особи *H-S*- имеют нормальное число щетинок). Какое расщепление будет наблюдаться в потомстве особей с нормальным количеством щетинок, супрессированным аллелем *H* и звездчатыми глазами? Какой результат ожидается в возвратном скрещивании «бесщетиновых» гибридов *F*₁ с родительскими особями с нормальным числом щетинок?

5. При скрещивании лабораторной линии дрозофилы, имеющей коричневые глаза, с другой линией, имеющей ярко-красные глаза, все потомство *F*₁ имело нормальные темно-красные глаза (дикий фенотип). Во втором поколении было обнаружено: 110 мух с нормальными глазами, 42 – с коричневыми, 38 – с ярко-красными и 12 – с белыми глазами. Объясните появление в *F*₂ белоглазых мух. Составьте схему скрещивания. Определите характер взаимодействия генов и дайте характеристику действия каждого из них в процессе образования глазных пигментов у дрозофилы.

6. При скрещивании двух генетически различных линий дрозофилы, имеющих ярко-красные глаза, в первом поколении все особи оказались с темно-красными глазами (дикий тип), а во втором поколении наблюдалось расщепление: 100 мух с нормальными глазами и 75 – с ярко-красными. Сколько генов определяет цвет глаз в данном скрещивании? Что будет,

если скрестить мух с нормальными глазами из первого поколения с дрозофилами одной из родительских линий?

7. При скрещивании линии дрозофил с ярко-красными глазами с линией, имеющей пурпурную окраску глаз, в первом поколении все особи оказались с нормальными глазами красного цвета, а в F₂ произошло расщепление: 39 частей с красными глазами, 13 частей с ярко-красными, 9 – с пурпурными и 3 – с оранжевыми глазами. Объясните полученное расщепление. Напишите генотипы родительских линий и потомков обоих поколений.

8. Ниже приведены результаты двух реципрокных скрещиваний на дрозофиле:

I опыт			
Прямое		Обратное	
P	♀ ярко-красные глаза (из линии 1) × ♂ дикого типа	P	♀ дикого типа × ♂ ярко-красные глаза (из линии 1)
F ₁	♀ и ♂ дикого типа	F ₁	♀ и ♂ дикого типа
II опыт			
Прямое		Обратное	
P	♀ ярко-красные глаза (из линии 2) × ♂ дикого типа	P	♀ дикого типа × ♂ ярко-красные глаза (из линии 2)
F ₁	♀ дикого типа ♂ с ярко-красными глазами	F ₁	♀ и ♂ дикого типа

Каков характер наследования в этих скрещиваниях? Можно ли на основании этих данных определить число генов, контролирующих окраску глаз?

ТЕМА 5. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДИГИБРИДНОГО СКРЕЩИВАНИЯ

Скрещивание особей, различающихся двумя парами альтернативных признаков, получило название *дигибридного*. Если признаков больше двух, то скрещивание называют *полигибридным*. Гены, отвечающие за развитие этих признаков, должны быть неаллельными, т.е. находиться в разных парах хромосом. Тогда при скрещивании двух чистых линий, отличающихся двумя парами альтернативных признаков, дигетерозиготные гибриды первого поколения, в соответствии с 1-ым законом Менделя, будут единообразные и по генотипу, и по фенотипу. Признаки, проявившиеся у гибридов первого поколения, являются доминантными. Во втором поколении расщепление по двум признакам составит 9А-В-(особи с двумя доминантными признаками):3А-bb (особи с доминантным признаком А):3ааВ- (особи с доминантным признаком В):1aabb (особи с рецессивными признаками).

Если подсчитать количество особей по каждой паре признаков отдельно, то окажется, что соотношение 9А-В- + 3А-bb + 3ааВ- + 1aabb

соответствует независимой комбинации результатов двух скрещиваний ($3A- + 1aa$) $\times$ ($3B- + 1bb$). Очевидно, что в дигибридном скрещивании каждая пара признаков при расщеплении в потомстве ведет себя так же, как в моногибридном скрещивании, т.е. независимо от другой пары признаков. То есть и задатки признаков этих пар комбинируются независимо. Таким образом, Мендель объективно установил существование 3-го закона наследования – **закона независимого комбинирования признаков** – при скрещивании 2-х гомозиготных особей, различающихся по 2-ум парам альтернативных признаков, гены и соответствующие им признаки наследуются независимо друг от друга и комбинируются во всех возможных сочетаниях. Непременное условие свободной рекомбинации генов в F_2 при дигибридном скрещивании – локализация их в разных хромосомах.

Лабораторная работа № 7. Дигибридное скрещивание у дрозофилы

Цель работы: изучить закономерности дигибридного скрещивания признаков на примере наследования мутаций black и white у *Drosophila melanogaster*,

Задачи:

1. Составить схему скрещивания линий black и white.
2. Определить теоретическое расщепление у гибридов второго поколения.
3. Осуществить скрещивание дрозофил линий black и white.
4. Провести статистический анализ полученных данных с использованием метода χ^2 .

Биологический материал: линии *Drosophila melanogaster* black (черное тело, красные глаза) и white (серое тело, белые глаза).

Оборудование: стаканчики или широкие пробирки диаметром 4 см со свежеприготовленной средой; ватные пробки; эфир и морилки; молочно-белое стекло; лупа; пинцеты; кисти.

Ход работы:

1. Проведите наркотизацию мух. Правила наркотизации приведены в лабораторной работе №1.

2. Изучите и опишите морфологию линий дрозофилы black и white, пользуясь данными лабораторной работы №2. Обратите особое внимание, что изучаемые мутации при дигибридном скрещивании должны быть локализованы в разных гомологичных парах хромосом.

3. Постановка скрещивания дрозофилы.

3.1. Отобрать 2-3 виргинные самки black и поместить в стаканчик со средой с 3-5 самцами white. Провести обратное скрещивание.

3.2. Через 10-12 суток после постановки скрещивания, когда в стаканчике начнется массовое вылупление мух F_1 , их следует усыпить и проанализировать. Все они как при прямом, так и при обратном

скрещивании будут иметь нормальную серую окраску тела и нормальный цвет глаз. Результаты подсчета следует записать в таблицу 6.1.

3.3. Среди гибридов F_1 следует отобрать по 2-3 женские особи и по 5-6 мужских и поместить их в чистые пробирки с питательной средой для получения F_2 .

Таблица 7.1.

Результаты гибридологического анализа при дигибридном скрещивании ♀ black и ♂ white

Линии и гибриды	Получено мух					Расщепление	
	Всего	В том числе				Теоретически ожидаемое	Фактически полученное
		Normal	black	white	black, white		
♀ black ♂ white F_1 black x white F_2 black x White							

3.4. Через 10-12 дней в стаканчиках начнется массовое вылупление мух F_2 . Их следует усыпить в эфиризаторе и анализировать на матово-белом стекле. При внимательном осмотре определить и подсчитать мух с красными глазами и серым телом, затем мух с красными глазами и черным телом, с белыми глазами и серым телом и с белыми глазами и черным телом. Результаты занести в таблицу 7.1.

4. Анализ наследования мутации black (черное тело)

4.1. Проанализируйте число потомков первого и второго поколения относительно цвета тела (таблица 7.1).

4.2. Составьте схемы реципрокных скрещиваний и определите ожидаемое расщепление по генотипу и фенотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая только цвет тела особей (см. лабораторная работа №4).

4.3. Проведите статистическую проверку гипотезы.

4.4. Сформулируйте выводы относительно характера наследования мутации black.

5. Анализ наследования мутации white (белые глаза)

5.1. Проанализируйте число потомков первого и второго поколения относительно цвета глаз (таблица 7.1).

5.2. Составьте схемы реципрокных скрещиваний и определите ожидаемое расщепление по генотипу и фенотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая только цвет глаз особей (см. лабораторная работа №7).

5.3. Проведите статистическую проверку гипотезы.

5.4. Сформулируйте выводы относительно характера наследования мутации white.

6. Анализ результатов дигибридного скрещивания дрозофилы (на примере наследования мутаций black и white).

6.1. Составьте схему скрещивания и определите ожидаемое расщепление по фенотипу и генотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая рецессивный характер мутаций black и ♂ white. Сформулируйте нулевую гипотезу о характере наследования данной мутации.

6.2. Пользуясь таблицей 7.1, проанализируйте фенотипы гибридов первого поколения относительно цвета тела и глаз. Все они обладают диким фенотипом – имеют серое тело и красные глаза.

6.3. Проанализируйте фенотипы гибридов второго поколения относительно цвета тела и глаз. Согласно 3-му закону Менделя 9/16 гибридов второго поколения будут обладать диким фенотипом (серое тело и красные глаза), у 3/16 гибридов проявится одна рецессивная мутация (черное тело, красные глаза), у 3/16 другая рецессивная мутация (белые глаза, серое тело) и 1/16 потомков будут нести обе рецессивные мутации (черное тело, белые глаза).

6.4. Определите величину χ^2 по результатам дигибридного скрещивания. Помните, что число генотипических классов в этом случае составит 16, а число степеней свободы - 3.

6.5. Сформулируйте общие выводы о характере наследования изученных мутаций при дигибридном скрещивании.

Схема дигибридного скрещивания

Черное тело, красные глаза Серое тело, белые глаза

P ♀ $\frac{b}{+} \frac{+}{+}$ x ♂ $\frac{+}{+} \frac{w}{+}$

↓

F₁

серое тело красные глаза

♀ $\frac{b}{+} \frac{+}{w}$; ♂ $\frac{b}{+} \frac{+}{+}$

Гаметы ♂	$\frac{b}{+}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{b}{+}$
♀				
$\frac{b}{+}$	$\frac{b}{+} \frac{+}{+}$ ♀b	$\frac{b}{+} \frac{+}{+}$ ♀N	$\frac{b}{+} \frac{+}{+}$ ♂N	$\frac{b}{+} \frac{+}{+}$ ♂b
$\frac{b}{+} \frac{w}{+}$	$\frac{b}{+} \frac{w}{+}$ ♀b	$\frac{b}{+} \frac{w}{+}$ ♀N	$\frac{b}{+} \frac{w}{+}$ ♂w	$\frac{b}{+} \frac{w}{+}$ ♂bw
$\frac{+}{+} \frac{+}{+}$	$\frac{b}{+} \frac{+}{+}$ ♀N	$\frac{+}{+} \frac{+}{+}$ ♀N	$\frac{+}{+} \frac{+}{+}$ ♂N	$\frac{+}{+} \frac{+}{+}$ ♂N

F ₂	$\begin{array}{c} + \quad w \\ = \quad = \\ + \quad + \end{array}$	$\begin{array}{c} b \quad w \\ = \quad = \\ + \quad + \end{array} \text{♀} N$	$\begin{array}{c} + \quad w \\ = \quad = \\ + \quad + \end{array} \text{♀} N$	$\begin{array}{c} + \quad w \\ = \quad = \\ + \quad + \end{array} \text{♂} w$	$\begin{array}{c} + \quad w \\ = \quad = \\ b \quad + \end{array} \text{♂} w$

Расщепление по признакам: 9 Normal : 3 black : 3 white : 1 black, white

Комплект задач по теме «Генетический анализ дигибридного скрещивания»

1. Рecessивные признаки обрезанный края крыла и редуцированная крыловая пластинка у дрозофилы контролируются независимо наследуемыми генами. Как сконструировать линию, гомозиготную по обоим генам?

2. У мухи серая окраска тела доминирует над черной (black). Прерванное поперечное жилкование крыльев (detached) является recessивным признаком, а нормальное жилкование – доминантным. Муху с серой окраской тела и прерванным жилкованием скрестили с мухой с черным телом и нормальным жилкованием. Каких мух следует ожидать в результате этого скрещивания?

3. Скрестили двух мух со следующими признаками: черное тело и нормальные крылья, серое тело и крылья в форме лыж (ski). В F₁ все мухи имели серое тело и нормальные крылья. В F₂ наблюдалось следующее расщепление: 24 мухи имели черное тело и крылья с мутацией ski, 70 – черное тело и нормальные крылья, 73 – серое тело и крылья в форме лыж, 210 – серое тело и нормальные крылья. Определите генотипы исходных форм и потомства F₁ и F₂.

4. Правильное расположение фасеток у дрозофилы – recessивный признак, звездчатые глаза (Star) – доминантный. Серая окраска тела доминирует над черной (black). Какими признаками будут обладать гибридные особи от скрещивания гомозиготных мух с нормальными глазами и серой окраской тела и черных мух со звездчатыми глазами?

5. Особи дрозофил с мутацией Cat (грубые глаза) в гомозиготном состоянии летальны. Черная окраска тела – recessивный признак. Какое следует ожидать потомство от скрещивания между собой гетерозиготных мух с серым телом и грубыми глазами?

6. Муху дрозофилы с серым телом и грубыми глазами (Cat) скрестили с мухой с черным телом (black) и нормальными глазами. Какими будут особи в F₁?

7. При скрещивании мух с нормальной формой крыльев и нормальными глазами с мухами, обладающими зачаточными крыльями (vestigial) и нормальными глазами получены мухи с нормальными крыльями. Однако у некоторых и особей F₁ были стекловидные глаза (glass). Объясните данное явление. Каковы генотипы родителей и гибридов F₁?

8. При скрещивании мух с серой окраской тела и красными глазами и мух с желтым телом (yellow) и розовыми глазами (rose) получили следующее потомство мух: серое тело и красные глаза, серое тело и розовые глаза, желтое тело и абрикосовые глаза, желтое тело и красные глаза. Определите генотипы родителей и потомства. Определите соотношение фенотипических классов у потомства.

9. Скрещиваются две дрозофилы дикого типа. В потомстве, полученном от этого скрещивания, обнаружены следующие фенотипы: с закрученными вверх крыльями и укороченными щетинками; закрученными вверх крыльями и нормальными щетинками; с нормальными крыльями и укороченными щетинками; с нормальными крыльями и нормальными щетинками (дикий тип). Объясните результат. Определите генотипы исходных мух и потомства.

10. Четверо исследователей, независимо друг от друга, скрестили мушек дрозофил, имеющих черное тело, с особями с зачаточными крыльями. В F_2 от скрещивания этих двух генетически различающихся линий они получили следующие результаты:

Фамилия исследователя	Расщепление по фенотипу в F_2				Всего
	серое тело, нормальные крылья	серое тело, зачаточные крылья	черное тело, нормальные крылья	черное тело, зачаточные крылья	
Иванов	273	92	90	31	486
Степанов	190	48	45	12	295
Сидоров	269	64	83	24	440
Федоров	42	23	22	5	70

Один ли и тот же процесс изучали исследователи? Проверьте их результаты на однозначность, используя χ^2 в качестве критерия однородности. Какую генетическую закономерность, и с какой вероятностью иллюстрируют данные эксперименты?

ТЕМА 6. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ

Т. Морган сформулировал закон сцепления, согласно которому гены, локализованные в одной хромосоме, наследуются совместно, так как в мейозе они обязательно попадают в одну гамету. Число групп сцепления соответствует гаплоидному числу хромосом данного вида. У дрозофилы изучено более 500 генов. Все они локализованы в 4 парах хромосом.

Сцепленное наследование генов, находящихся в одной хромосоме, нарушается вследствие конъюгации гомологичных хромосом и обмена участками между ними (кроссинговера) в мейозе с последующим соединением их в местах разрыва. В результате кроссинговера происходит перегруппировка исходных признаков. Так, у мух гены, определяющие черную окраску тела (black) и зачаточные крылья (vestigial), находятся во второй хромосоме и наследуются совместно. Тогда потомки от

анализирующего скрещивания гетерозиготных гибридов должны быть представлены только двумя классами, повторяющими фенотип родительских особей – серое тело и нормальные крылья и черное тело и зачаточные крылья. Но среди F_1 могут появиться мухи с новыми фенотипами, что свидетельствует об обмене генов у гетерозиготной особи вследствие перекреста хромосом.

Гаметы, зиготы и взрослые особи, возникшие в результате перекреста хромосом, называются кроссоверными или кроссоверами. Число кроссоверных особей свидетельствует о величине расстояния между данными генами в хромосоме: чем больше кроссоверных особей, тем дальше гены расположены в хромосоме один от другого.

Наличие перекреста между генами принято обозначать вертикальной линией. Например, кроссинговер между генами b и vg обозначают как b/vg .

Величину перекреста вычисляют в процентах к общему числу потомков в данной комбинации. Мерой расстояния между генами является отрезок хромосомы, в пределах которого наблюдается 1 % кроссинговера. Это расстояние называется единицей перекреста, или морганидой.

Лабораторная работа № 8. Наследование мутаций *black* и *vestigial*

Цель работы: изучить закономерности совместного наследования признаков при полном сцеплении генов и кроссинговере.

Задачи:

1. Познакомиться с явлениями сцепления и кроссинговера.
2. Изучить линии дрозофил с черной окраской тела (*black*) и зачаточными крыльями (*vestigial*)
3. Провести скрещивание ♀ Normal x ♂ $b-vg$, ♀ F_1 x ♂ $b-vg$.
4. Составить схему теоретически ожидаемого расщепления при полном сцеплении генов и кроссинговере.
5. Проанализировать F_1 и поставить их на скрещивание для получения F_2 .
6. Получить мух F_2 и проанализировать их.

Биологический материал: линии *Drosophila melanogaster* Normal (серое тело, нормальные крылья), $b-vg$ (черное тело, зачаточные крылья).

Оборудование: стаканчики или широкие пробирки диаметром 4 см со свежеприготовленной средой; ватные пробки; эфир и морилки; молочно-белое стекло; лупа; пинцеты; кисти.

Ход работы:

1. Проведите наркотизацию мух. Правила наркотизации приведены в лабораторной работе №1.

2. Изучите и опишите морфологию линий дрозофилы black- vestigial, пользуясь данными лабораторной работы №2. Обратите особое внимание, что изучаемые мутации при изучении сцепленного наследования должны быть локализованы в одной гомологичной паре хромосом.

3. Постановка скрещивания дрозофилы.

3.1. Отобрать 2-3 виргинные самки Normal и поместить в стаканчик со средой с 3-5 самцами black-vestigial.

3.2. Через 10-12 суток после постановки скрещивания, когда в стаканчике начнется массовое вылупление мух F_1 , их следует усыпить и проанализировать. Все они будут иметь нормальную серую окраску тела и нормальные крылья. Результаты подсчета следует записать в таблицу 8.1.

Таблица 8.1

Анализ гибридов Normal x black-vestigial при неполном сцеплении признаков

Линии и гибриды	Получено мух					Расщепление	
	Всего	В том числе				Теоретически ожидаемое	Фактически полученное
		Normal	black-vestigial	black	vestigial		
♀Normal ♂black-vestigial F_1 Normal x black-vestigial F_2 Normal x black-vestigial							

3.3. Отобрать среди гибридов F_1 по 2-3 женские особи и поместить в стаканчик со средой с 3-5 самцами black-vestigial для проведения анализирующего скрещивания.

3.4. Через 10-12 дней в стаканчиках начнется массовое вылупление потомков анализирующего скрещивания F_2 . Их следует усыпить и анализировать на матово-белом стекле. При внимательном осмотре определить и подсчитать мух с нормальными крыльями и серым телом, затем мух с нормальными крыльями и черным телом, с зачаточными крыльями и серым телом, с зачаточными крыльями и черным телом. Результаты занести в таблицу 8.1.

4. Анализ сцепленного наследования мутаций black и vestigial у дрозофилы.

4.1. Составьте схемы скрещивания и определите ожидаемое расщепление по фенотипу и генотипу у гибридов первого поколения и потомков анализирующего скрещивания при полном сцеплении генов.

Теоретически ожидаемые расщепления в случае полного сцепления генов

	♀ Normal	x	♂ black vestigial
PP	♀ $\frac{++}{++}$		♂ $\frac{b\ vg}{b\ vg}$
Гаметы PP	$\frac{++}{++}$		$\frac{b\ vg}{b\ vg}$
F ₁	♀ $\frac{++}{b\ vg}$	x	♂ $\frac{b\ vg}{b\ vg}$
Гаметы PP	♀ $\frac{++}{b\ vg}$		♂ $\frac{b\ vg}{b\ vg}$
Fa	$\frac{++}{b\ vg}$;		$\frac{b\ vg}{b\ vg}$
Расщепление: 1 Normal : 1 black-vestigial			

4.2. Пользуясь таблицей 8.1, проанализируйте фенотипы гибридов первого поколения относительно цвета тела и длины крыльев. Все они обладают диким фенотипом – имеют серое тело и нормальные крылья.

4.3. Проанализируйте фенотипы потомков анализирующего скрещивания относительно цвета тела и длины крыльев. Хотя в соответствии с полным сцеплением при анализирующем скрещивании должно быть только два класса мух – Normal и black-vestigial, обычно в небольшом количестве оказываются особи и других классов – black и vestigial. Появление в анализирующем скрещивании двух дополнительных классов мух свидетельствует о том, что в мейозе у самок произошел кроссинговер между гомологичными хромосомами второй пары хромосом, в которой локализованы гены black и vestigial.

4.4. Составьте схему скрещивания гетерозиготной самки Normal с самцом black-vestigial с учетом кроссинговера.

P	♀ $\frac{++}{b\ vg}$	x	♂ $\frac{b\ vg}{b\ vg}$
Гаметы PP	♀ $\frac{++}{b\ vg}$	некроссоверные	♂ $\frac{b\ vg}{b\ vg}$
	$\frac{b+}{+vg}$	кроссоверные	
Fa	$\frac{++}{b\ vg}$;	$\frac{b\ vg}{b\ vg}$;	некроссоверные (>50%)
	$\frac{b+}{bvg}$;	$\frac{+vg}{b\ vg}$;	кроссоверные (<50%)

4.5. Определите величину кроссинговера между генами black и vestigial как отношение кроссоверных особей к общему числу потомков от скрещивания. Помните, что кроссинговер не может превышать 50%.

4.6. Сформулируйте выводы о характере наследования мутаций *black* и *vestigal* у дрозофилы. Оцените расстояние между этими генами в морганидах (1 морганида соответствует 1% кроссинговера).

Комплект задач по теме «Генетический анализ сцепленного наследования признаков»

1. У дрозофилы рецессивный ген *cut* (*ct*), обуславливающий вырезку на крыльях, и рецессивный ген *tan* (*t*), обуславливающий темную окраску тела, сцеплены с полом. Можно ли установить расстояние между этими генами, скрещивая гетерозиготную самку с самцом, доминантным по обоим признакам? Объясните, какое скрещивание следует поставить для определения расстояния между этими генами. Определите генотипы мух во всех скрещиваниях.

2. При скрещивании самок дрозофилы серым телом и нормальными щетинками с самцом, имеющим желтое тело и расщепленные щетинки, в F_1 и самки, и самцы имеют серое тело и нормальные щетинки. В F_1 обратного скрещивания наблюдается крисс-кросс наследование по обоим признакам, а в F_2 получили многочисленное потомство, среди которого 3% особей имели серое тело и расщепленные щетинки или желтое тело и нормальные щетинки. Как это можно объяснить? Как наследуются признаки? Определите генотипы исходных мух и гибридов F_1 прямого и обратного скрещиваний.

3. В F_2 от скрещивания нормальной самки дрозофилы с самцом, имевшим черное тело и загнутые кверху крылья, было получено 87 чернотелых мух с загнутыми кверху крыльями и 269 нормальных. Как наследуются признаки? Объясните полученные результаты, определите генотипы исходных мух и генотип и фенотип гибридов F_1 .

4. Гомозиготная по гену *cinnabar* (*cn*, ярко-красные глаза) самка скрещена с самцом *black* (*b*, черное тело). Какое расщепление можно ожидать в F_2 и анализирующем скрещивании, если расстояние между генами равно 10 морганидам?

5. У дрозофилы белые глаза и скомканные крылья обусловлены рецессивными генами, локализованными в половой хромосоме. Расстояние между ними 15% кроссинговера. Каким будет потомство от скрещивания гомозиготной красноглазой длиннокрылой самки дрозофилы с белоглазым комкокрылым самцом? Каким будет потомство от скрещивания самца F_1 с белоглазой комкокрылой самкой?

6. У дрозофилы ген киноварной окраски глаз находится в локусе 33, а ген рассеченного крыла в локусе 65 X-хромосомы. Оба признака - киноварная окраска глаз и рассеченное крыло – рецессивны. Гомозиготная самка с киноварными глазами и нормальными крыльями была скрещена с самцом, имевшим нормальную окраску глаз и рассеченные крылья. Определите генотипы и соотношение фенотипов (по самцам и самкам отдельно) в F_1 и F_2 .

7. У дрозофилы доминантный ген, определяющий «лопастную» форму глаз, располагается в той же аутосоме, что и рецессивный ген укороченности тела. Гомозиготную самку с укороченным телом и «лопастными» глазами скрестили с нормальным самцом. Какими окажутся гибриды первого поколения, и каким будет потомство F_2 , если расстояние между генами равно 0.5% кроссинговера?

8. У дрозофилы рецессивные признаки – срезанные крылья и гранатовые глаза – сцеплены между собой. Доминантные аллели этих генов обуславливают нормальную длину крыльев и красную окраску глаз. В одном опыте было получено следующее потомство F_2 :

	Самцы		Самки
106	с красными глазами и длинными крыльями	26	с красными глазами и длинными крыльями
98	с красными глазами и со срезанными крыльями	77	с гранатовыми глазами и длинными крыльями
204		75	с красными глазами и со срезанными крыльями
		22	с гранатовыми глазами и со срезанными крыльями
		200	

В какой хромосоме – в половой или аутосоме – локализованы гены? Определите генотипы родителей и расстояние между генами.

9. Ниже приведены результаты двух скрещиваний на дрозофиле:

1. Самка черная с длинными крыльями × самец серый с короткими крыльями; самки F_1 × самцы черные с короткими крыльями:

F_a : 272 серые с длинными крыльями
 774 черные с длинными крыльями
 801 серые с короткими крыльями
 239 черные с короткими крыльями
 2086

2. Самка черная с короткими крыльями × самец дикого типа; самки F_1 × самцы черные с короткими крыльями:

F_a : 360 серые с длинными крыльями
 103 черные с длинными крыльями
 97 серые с короткими крыльями
 314 черные с короткими крыльями
 874

Как наследуются признаки? Определите генотипы исходных мух, генотип и фенотип самок F_1 в обоих скрещиваниях. Чем объясняется разница между этими скрещиваниями?

10. Ниже приведены результаты двух скрещиваний на дрозофиле:

1. Самка черная с дуговидными крыльями × самец серый прямокрылый:

самки $F_1 \times$ самец черный с дуговидными крыльями. От этого скрещивания получено следующее расщепление:

1641 серые прямокрылые
1180 черные прямокрылые
1251 серые с дуговидными крыльями
1532 черные с дуговидными крыльями
5604

2. Самка черная с прямокрылая $\times$ самец серый с дуговидными крыльями:

самки $F_1 \times$ самец черный с дуговидными крыльями. От этого скрещивания получено следующее расщепление:

281 серые прямокрылые
335 серые с дуговидными крыльями
336 черные прямокрылые
239 черные с дуговидными крыльями
1191

Как наследуются признаки? Определите генотип исходных мух и F_1 . Чем можно объяснить разницу результатов в этих скрещиваниях?

11. От скрещивания самцов дрозофилы с темно-коричневыми глазами и волосатым телом с самками дикого типа в F_1 все мухи были дикого типа. В возвратном скрещивании самок из F_1 с исходным самцом получили расщепление: 1264 мухи дикого типа, 8 – красными глазами и волосатым телом, 5 – с темно-коричневыми глазами и нормальным телом и 1277 с темно-коричневыми глазами и волосатым телом. Как наследуются признаки? Определите генотипы исходных мух и гибридов F_1 . Какое расщепление вы ожидаете получить в потомстве от скрещивания гибридов F_1 между собой?

ТЕМА 7. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЦЕПЛЕННОГО С ПОЛОМ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ

Признаки, гены которых локализованы на половых хромосомах, называют **признаками, сцепленными с полом**. Закономерности наследования этих признаков определяются особенностями наследования самих половых хромосом. У большинства живых организмов (в том числе человек и дрозофила) самки являются гомогаметным полом: они содержат две одинаковые X хромосомы. Самцы гетерогаметны, они содержат две хорошо различимые по строению хромосомы: X и Y. Наследование пола осуществляется по следующей схеме:

P	♀XX		♂XY
Яйцеклетки		x	Сперматозоиды
	X		X, Y
F_1		Зиготы	
	♀♀XX		♂♂XY

Гомогаметные по половым хромосомам самки образуют только один тип гамет X, а гетерогаметные самцы образуют 2 типа гамет – X и Y. В результате оплодотворения образуются самцы с генотипом XY и самки с генотипом XX. Такой механизм наследования пола обеспечивает наличие в популяции одинакового числа мужских и женских особей.

В X-хромосоме локализован ряд генов, которые, следовательно, наследуются сцепленно с полом. Учитывая, что у самцов Y-хромосома таких генов не содержит, всякий ген, локализованный в X-хромосоме, независимо от того, доминантный он или рецессивный, проявляется так, как будто он находится в гомозиготном состоянии. Подобное состояние называется **гемизиготным**. Например, все самцы дрозофилы, у которых в X-хромосоме локализован рецессивный ген *white*, будут белоглазыми.

Для изучения наследования признаков, сцепленных с полом, рекомендуется взять мух с генотипом Normal и скрещивать с рецессивным мутантом *white* (ген *white* локализован на X-хромосоме). В F₁ и в F₂ отношение мужских и женских особей будет одинаково – 1:1, наследование окраски глаз зависит от генотипов материнской и отцовской особей. При скрещивании, когда материнская особь Normal, а отцовская *white*, все мухи F₁ имеют красные глаза, присущие материнским особям. В F₂ по окраске глаз наблюдается расщепление 3:1. Причем, все самки имеют красные глаза, а у самцов 50% особей красноглазых и 50% - белоглазых. При обратном скрещивании белоглазых самок с красноглазыми самцами в F₁ все самки имеют красные глаза, а самцы - белые. В F₂ по окраске глаз наблюдается расщепление 1:1. Причем, как у самок, так и у самцов 50% имеют красные, 50% - белые глаза.

Лабораторная работа №9. Наследование мутации *white*

Цель работы: изучить закономерности наследования признаков, сцепленных с полом на примере наследования мутации *white* у дрозофилы.

Задачи:

1. Познакомиться с определением пола у дрозофилы.
2. Провести скрещивание ♀Normal x ♂*white*, ♂Normal x ♀*white*.
3. Составить схему теоретически ожидаемого расщепления.
4. Проанализировать F₁ и поставить их на скрещивание для получения F₂.
5. Получить мух F₂ и проанализировать их.

Биологический материал: линии *Drosophila melanogaster* Normal (красные глаза), *white* (белые глаза).

Оборудование: стаканчики или широкие пробирки диаметром 4 см со свежеприготовленной средой; ватные пробки; эфир и морилки; молочно-белое стекло; лупа; пинцеты; кисти.

Ход работы:

1. Постановка скрещивания дрозофилы.

1.1. Отобрать 2-3 виргинные самки white и поместить в стаканчик со средой с 3-4 самцами линии Normal.

1.2. Отобрать 2-3 виргинные самки Normal и поместить в стаканчик со средой с 3-4 самцами white.

1.3. Через 10-12 суток после постановки скрещивания, когда в стаканчике начнется массовое вылупление мух F_1 , их следует усыпить и проанализировать. Сначала отделяют самцов от самок, а затем подсчитывают число белоглазых и красноглазых особей в каждой группе. Результаты подсчета следует записать в таблицу.

1.4. Среди гибридов F_1 следует отобрать 2-3 женские особи и 3-4 мужских и поместить их в чистые пробирки с питательной средой для получения F_2 .

1.5. Через 10-12 дней в стаканчиках начнется массовое вылупление мух F_2 . Их следует усыпить и анализировать на матово-белом стекле. Результаты занести в таблицу 8.1.

2. Анализ наследования мутации white у дрозофилы.

2.1. Составьте схему скрещивания и определите ожидаемое расщепление по фенотипу и генотипу у гибридов первого и второго поколения от прямого и обратного скрещивания, учитывая рецессивный характер мутации white.

Прямое скрещивание

P ♀ X^+X^+ (Normal) x ♂ X^aY (white)

F_1 : ♀ X^+X^a (Normal), ♂ X^+Y (Normal)

F_2 : ♀ X^+X^+ (Normal), ♀ X^+X^a (Normal), ♂ X^+Y (Normal), ♂ X^aY (white)
3 Normal : 1 white (♂)

Обратное скрещивание

P ♀ X^aX^a (white) x ♂ X^+Y (Normal)

F_1 : ♀ X^+X^a (Normal), ♂ X^aY (white)

Расщепление 1 Normal (♀) : 1 white (♂)

F_2 : ♀ X^aX^a (white), ♀ X^+X^a (Normal), ♂ X^+Y (Normal), ♂ X^aY (white)

Расщепление 1 Normal : 1 white

2.2. Сформулируйте нулевую гипотезу о характере наследования данной мутации. В прямом скрещивании, когда материнская особь Normal, а отцовская white, все мухи F_1 имеют красные глаза, а у гибридов F_2 наблюдается расщепление в соотношении 3:1. Причем, все самки имеют красные глаза, а у самцов 50% особей красноглазых и 50% - белоглазых. При обратном скрещивании белоглазых самок с красноглазыми самцами в F_1 все самки имеют красные глаза, а самцы - белые. В F_2 по окраске глаз наблюдается расщепление 1:1. Причем, как у самок, так и у самцов 50% имеют красные, 50% - белые глаза.

2.3. Пользуясь методом соответствия (χ^2) найдите теоретически ожидаемое число потомков каждого фенотипического класса у гибридов первого поколения (обратное скрещивание) и второго поколения и определить величину χ^2 .

2.4. Сформулируйте выводы о правильности нулевой гипотезы о характере наследования мутации white.

Таблица 9.1

Результаты гибридологического анализа при наследовании признаков, сцепленных с полом

Линии и гибриды	Проанализировано мух					Расщепление по окраске глаз	
	всег о	В том числе				Теоретически ожидаемое	Фактически полученное
		♀	♂	Normal	white		
Прямое скрещивание							
♀ Normal ♂ white F ₁ Normal x white: самки самцы F ₂ Normal x white: самки самцы							
Обратное скрещивание							
♀ white ♂ Normal F ₁ white x Normal: самки самцы F ₂ white x Normal: самки самцы							

Комплект задач по теме «Генетический анализ сцепленного с полом наследования признаков»

1. При скрещивании белоглазых мух (white) с мухами красноглазыми в потомстве все мухи оказываются красноглазыми. Объяснить характер наследования данного признака. Какой цвет является доминантным, а какой рецессивным?

2. При скрещивании мух с красными глазами получено потомство мух как с красными, так и с белыми глазами (white). Каков генотип родителей, если особи с белыми глазами составляют ¼ всего потомства?

3. У дрозофил малиновый цвет глаз (raspberry) – рецессивный признак, сцепленный с X хромосомой. Самец с нормальным цветом глаз скрещивается с мухой, у которой родитель самец имел малиновые глаза, а мать и её предки были с нормальными глазами. Определить генотип и фенотип потомства от этого скрещивания.

4. Зазубренные крылья у дрозофилы обусловлены мутацией (Beadex), локализованной в хромосоме 1. Каким следует ожидать поколение F_1 от скрещивания гетерозиготной по данному признаку самки с самцом, имеющим нормальные крылья?

5. Скрестили двух мух дрозофил с плосковидными глазами (Bar) между собой. Полученного от этого скрещивания самца с нормальным расположением фасеток скрестили с самкой, имеющей плосковидные глаза. Данную самку получили в результате скрещивания нормального самца и самки с плосковидными глазами. Определите генотипы во всех скрещиваниях.

6. У дрозофилы мутация ширококрылый (broad) находится в X хромосоме. Скрестили гомозиготную самку с нормальными крыльями и самца с широкими крыльями. Самку с нормальными крыльями из полученного потомства скрестили с самцом, имеющим нормальные крылья. Каким будет потомство от этого скрещивания?

7. Гомозиготная самка с нормальными крыльями скрещивается с самцом, у которого край крыла обрезан (cut). Какие крылья будут иметь самцы и самки в F_1 и в F_2 ?

8. Мутация дрозофилы Bag (мешковидный) локализована в хромосоме 1. При скрещивании самки мешковидными крыльями и нормального самца в F_1 получено следующее расщепление: $2\text{♀}:1\text{♂}$. Причем все самцы были нормальными, а среди самок половина – нормальные, половина – несущие мутацию Bag. Объясните данное явление.

9. При скрещивании самки дрозофилы с зазубренными крыльями (мутация Beadex) с самцом с нормальными крыльями все особи в поколении F_1 оказались с зазубренными крыльями. Каковы генотипы родителей?

10. Гетерозиготная красноглазая самка дрозофилы скрещена с белоглазым самцом. Каких особей следует ожидать в F_1 .

11. При скрещивании белоглазых самок дрозофилы с красноглазыми самцами получено 895 самцов с белыми глазами и 882 самки с красными глазами. Кроме того, в потомстве от этого скрещивания обнаружено две самки с белыми глазами и один самец с красными глазами. Как можно объяснить появление необычных самок и самцов? Как проверить правильность вашего предположения?

12. У дрозофилы ген *l* является рецессивным, локализованным в X-хромосоме и летальным. Каково будет численное соотношение полов в потомстве от скрещивания самки $+/l$ с нормальным самцом?

13. У дрозофилы рецессивный ген желтой окраски тела (yellow) локализован в X-хромосоме. Определите генотип и фенотип потомства от скрещивания самца с желтым телом с гетерозиготной самкой.

14. Какие расщепления возможны в потомстве первого и второго поколения от скрещивания мух с желтым и серым телом?

15. В локусе *white* дрозофилы известна серия множественных аллелей, определяющая окраску глаз от темно-красного до белого цвета, причем каждый предыдущий аллель по мере убывания интенсивности окраски полно доминирует над последующим. Приводим часть этой серии аллелей: w^+ (красный цвет глаз) $> w^{bl}$ (кровавый) $> w^{co}$ (коралловый) $> w^a$ (абрикосовый) $> w^{bf}$ (рыжий или цвета буйволовой кожи) $> w$ (белый). Сколько различных генотипов и фенотипов возможно при участии этих аллелей? Запишите их.

ТЕМА 8. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАСЛЕДОВАНИЯ НЕСКОЛЬКИХ ПРИЗНАКОВ

Для постановки скрещивания используются линии, отличающиеся по трем альтернативным парам признаков – цвет тела, цвет глаз и форма крыльев. Две из этих мутаций – *white* (белые глаза) и *cut* (обрезанные крылья) – локализованы на X-хромосоме. Мутация *ebony* (черное тело) локализована на 3 хромосоме. Анализ результатов данного скрещивания должен включать в себя индивидуальный анализ каждого моногенного признака, анализ сцепленного наследования мутаций *white* и *cut*, а также совместный анализ всех трёх признаков.

Лабораторная работа № 10. Тригибридное скрещивание

Цель работы: изучить закономерности наследования трёх признаков – цвета тела (мутация *ebony*), цвета глаз (мутация *white*) и формы крыльев (мутация *cut*); определение генотипов родителей, сцепления генов и расстояния между сцепленными генами.

Задачи:

1. Изучить линии дрозофил с черной окраской тела (*ebony*), красными глазами и нормальными крыльями; серым телом, белыми глазами (*white*) и обрезанными крыльями (*cut*).
2. Провести реципрокные скрещивания линий *ebony* - Normal - Normal и линий Normal-*white*-*cut*.
3. Проанализировать F_1 и поставить их на скрещивание для получения F_2 .
4. Получить мух F_2 и проанализировать их.
5. Повести анализ наследования каждого из трех моногенных признаков.
6. Провести анализ сцепленного наследования мутаций *white* и *cut*, определить расстояние между генами.
7. Составить итоговую схему скрещивания по совместному наследованию всех трех признаков.

Биологический материал: линии *Drosophila melanogaster* *ebony* - Normal - Normal (черное тело, красные глаза, нормальные крылья), Normal-*white*-*cut* (серое тело, белые глаза, обрезанные крылья).

Оборудование: стаканчики или широкие пробирки диаметром 4 см со свежеприготовленной средой; ватные пробки; эфир и морилки; молочно-белое стекло; лупа; пинцеты; кисти.

Ход работы:

1. Проведите наркотизацию мух. Правила наркотизации приведены в лабораторной работе №1.

2. Изучите и опишите морфологию мутантных рас дрозофилы *ebony*, *white* и *cut*, пользуясь данными лабораторной работы №3. Обратите особое внимание, что изучаемые мутации при изучении сцепленного наследования должны быть локализованы в одной гомологичной паре хромосом.

3. Постановка скрещивания дрозофилы.

3.1. Отобрать 2-3 виргинные самки линии *ebony*-Normal и поместить в стаканчик со средой с 3-5 самцами линий Normal-*white*-*cut*.

3.2. Поставить обратное скрещивание.

3.3. Через 10-12 суток после постановки скрещивания, когда в стаканчике начнется массовое вылупление мух F_1 , их следует усыпить и проанализировать. Все они будут иметь нормальную серую окраску тела, красные глаза и нормальные крылья. Результаты подсчета следует записать в таблицу 10.1. Необходимо заполнить две таблицы: для прямого и обратного скрещивания.

3.4. Провести скрещивание гибридов F_1 .

Таблица 10.1

Результаты гибридологического анализа скрещивания дрозофил линий *ebony* и *white*-*cut*

№	Фенотип	Пробирка 1		Пробирка 2	
		♀	♂	♀	♂

3.5. Через 10-12 дней в стаканчиках начнется массовое вылупление потомков гибридов F_2 . Их следует усыпить в эфиризаторе и анализировать на матово-белом стекле. При внимательном осмотре определить и подсчитать мух 8 фенотипических классов: серым телом, красными глазами и нормальными крыльями; мух с черным телом, красными глазами и нормальными крыльями; мух с серым телом, красными глазами и обрезанными крыльями; мух с серым телом, белыми глазами и нормальными крыльями; мух с серым телом, белыми глазами и обрезанными крыльями; мух с черным телом, красными глазами и обрезанными крыльями; мух с черным телом, белыми глазами и нормальными крыльями и мух с черным телом, белыми глазами и обрезанными крыльями. Результаты занести в таблицу 10.2. Нужно заполнить две таблицы: для прямого и обратного скрещивания.

Таблица 10.2

Результаты скрещивания гибридов первого поколения

№	Фенотип	Пробирка 1		Пробирка 2		Пробирка 3		Пробирка 4		Пробирка 5	
		♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											

4. Анализ наследования мутации **ebony** (черное тело).

4.1. Проанализируйте число потомков первого и второго поколения относительно цвета тела.

4.2. Составьте схемы реципрокных скрещиваний и определите ожидаемое расщепление по генотипу и фенотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая только цвет тела особей (см. лабораторная работа №4). Поскольку данная мутация носит рецессивный характер, все потомки 1-го поколения, как от прямого, так и от обратного скрещивания, будут нести признаки дикого типа. У гибридов второго поколения, в соответствии со вторым законом Менделя, должно проявиться расщепление в соотношении 3 Normal : 1 **ebony**.

4.3. Проведите статистическую проверку гипотезы.

4.4. Сформулируйте выводы относительно характера наследования мутации **ebony**.

5. Анализ наследования мутации **cut** (обрезанные крылья).

5.1. Проанализируйте число потомков первого и второго поколения относительно формы крыльев.

5.2. Составьте схемы реципрокных скрещиваний и определите ожидаемое расщепление по генотипу и фенотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая только форму крыльев особей (см. лабораторная работа №7).

5.3. Проведите статистическую проверку гипотезы.

5.4. Сформулируйте выводы относительно характера наследования мутации **cut**.

6. Анализ наследования мутации **white** (белые глаза).

6.1. Проанализируйте число потомков первого и второго поколения относительно цвета глаз (таблица 7.1).

6.2. Составьте схемы реципрокных скрещиваний и определите ожидаемое расщепление по генотипу и фенотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая только цвет глаз особей (см. лабораторная работа №7).

6.3. Проведите статистическую проверку гипотезы.

6.4. Сформулируйте выводы относительно характера наследования мутации white.

7. Анализ сцепленного наследования мутаций cut (обрезанные крылья) и white (белые глаза).

7.1. Поскольку два гена - cut и white – локализованы в одной хромосоме, необходимо провести анализ совместного наследования данных признаков. Составьте схему реципрокных скрещиваний и определите ожидаемое расщепление по фенотипу и генотипу у гибридов первого и второго поколения, учитывая наследование мутаций white и cut. Теоретическое расщепление среди гибридов 2-го поколения в случае независимого наследования генов должно составить: 1 (Normal):1 (Normal, cut) : 1 (white, Normal):1 (white, cut).

7.2. Однако, особи двух фенотипических классов – с красными глазами и обрезанными крыльями; с белыми глазами и нормальными крыльями – встречаются намного реже, чем особи с другими признаками. Значит это фенотипы, возникшие в результате кроссинговера. Составьте схемы скрещивания с учетом сцепления генов и определите расстояние между ними в прямом и обратном скрещивании (см. лабораторная работа №8). Определите среднее расстояние между генами.

8. Анализ совместного наследования трех признаков.

8.1. Составьте итоговую схему скрещивания, учитывая совместное наследование мутаций white и cut и независимый характер наследования мутации ebony.

Прямое скрещивание

$$PP \quad \text{♀} \quad ee \frac{++}{++} \quad \times \quad \text{♂} \quad +/+ \frac{wc}{wc}$$

♀ Черное тело x ♂ белые глаза,
обрезанные крылья

Обратное скрещивание

$$PP \quad \text{♀} \quad +/+ \frac{wc}{wc} \quad \times \quad \text{♂} \quad ee \frac{++}{++}$$

♀ белые глаза x ♂ Черное тело
обрезанные крылья

8.2. Сформулируйте общие выводы по лабораторной работе.

Комплект задач по теме «Генетический анализ наследования нескольких признаков»

1. При скрещивании самок дрозофилы с белыми глазами, вильчатыми щетинками и уменьшенными крыльями с самцами, имевшими красные глаза, нормальные щетинки и нормальные крылья, в F₁ получили самок с красными глазами, нормальными щетинками и нормальными крыльями и белоглазых самцов с вильчатыми щетинками и уменьшенными крыльями. В F₂ было получено следующее расщепление среди самок и самцов:

542 с красными глазами, нормальными щетинками и

	нормальными крыльями
68	с красными глазами, нормальными щетинками и уменьшенными крыльями
138	с красными глазами, вильчатыми щетинками и нормальными крыльями
262	с красными глазами, вильчатыми щетинками и уменьшенными крыльями
266	с белыми глазами, нормальными щетинками и нормальными крыльями
130	с белыми глазами, нормальными щетинками и уменьшенными крыльями
64	с белыми глазами, вильчатыми щетинками и нормальными крыльями
530	с белыми глазами, вильчатыми щетинками и уменьшенными крыльями
2000	

Как наследуются признаки? Определите генотипы исходных форм. Если гены сцеплены, то определите силу сцепления между ними и порядок их расположения в хромосоме. Проверьте, имеет ли место интерференция.

2. При скрещивании самок дрозофилы с желтым цветом тела, киноварным цветом глаз и обрезанными крыльями с самцами дикого типа в F_1 все самки оказались дикого типа, а самцы – желтые с киноварным цветом глаз и обрезанными крыльями, а во втором поколении самки и самцы дали следующее расщепление:

1781	с серым телом, красными глазами и нормальными крыльями
53	с серым телом, красными глазами и обрезанными крыльями
296	с серым телом, киноварными глазами и нормальными крыльями
470	с серым телом, киноварными глазами и обрезанными крыльями
442	с желтым телом, красными глазами и нормальными крыльями
265	с желтым телом, красными глазами и обрезанными крыльями
48	с желтым телом, киноварными глазами и нормальными крыльями
1712	с желтым телом, киноварными глазами и обрезанными крыльями
5067	

Как наследуются признаки? Определите генотипы исходных мух и F_1 . Если гены сцеплены, определите расстояние между ними и порядок их расположения в хромосоме.

3. При скрещивании дрозофил получено следующее потомство:

	Самцы		Самки
75	с красными глазами, серым телом и длинными крыльями	92	с красными глазами, серым телом и длинными крыльями
70	с белыми глазами, желтым телом и длинными крыльями	75	с белыми глазами, желтым телом и длинными крыльями
21	с белыми глазами, желтым телом и зачаточными крыльями	20	с красными глазами, серым телом и зачаточными крыльями
27	с красными глазами, серым телом и зачаточными крыльями	28	с белыми глазами, желтым телом и зачаточными крыльями
2	с красными глазами, желтым телом и длинными крыльями	215	
1	с белыми глазами, серым телом и зачаточными крыльями		
196			

Как наследуются признаки? Определите генотипы и фенотипы исходных мух. Если гены сцеплены, определите расстояние между ними.

4. У дрозофилы в одном опыте по изучению сцепления генов было получено следующее расщепление в F_2 :

	Самки		Самцы
ABC	248		2
ABc	-		37
AbC	-		28
Abc	-		171
aBC	252		190
aBc	-		26
abC	-		42
Abc	-		4
	500		500

Определите генотипы родителей. Определите расположение генов в хромосоме и рассчитайте расстояние между ними.

5. У дрозофилы серой цвет тела доминирует над черным, прямые крылья над изогнутыми, а нормальные глаза над стекловидными. Гомозиготная серая самка с прямыми крыльями и стекловидными глазами скрещена с черным самцом с изогнутыми крыльями и нормальными глазами. Гибриды первого поколения были использованы в анализирующем скрещивании, в котором получено следующее потомство:

342 с серым телом, прямыми крыльями и стекловидными глазами
80 с серым телом, прямыми крыльями и нормальными глазами

11	с серым телом, изогнутыми крыльями и стекловидными глазами
84	с серым телом, изогнутыми крыльями и нормальными глазами
78	с черным телом, прямыми крыльями и стекловидными глазами
7	с черным телом, прямыми крыльями и нормальными глазами
72	с черным телом, изогнутыми крыльями и стекловидными глазами
326	с черным телом, изогнутыми крыльями и нормальными глазами
1000	

Каков характер наследования признаков? Определите генотипы родителей и гибридов первого поколения. Если гены сцеплены, определите расстояние между ними и порядок их расположения в хромосоме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамова З.В., Карлинский О.А. Практикум по генетике. – Л.: Колос, 1974.
2. Барабанщиков Б.И., Сапаев Е.А. Сборник задач по генетике. – Казань: Издательство Казанского университета, 1988. – 191 с.
3. Ватти К.В., Тихомирова М.М. Руководство к практическим занятиям по генетике. – М.: Просвещение, 1972.
4. Глазер В.М., Ким А.И., Орлова Н.Н., Удина И.Г., Алтухов Ю.П. Задачи по современной генетике: Учеб. Пособие – М.: КДУ, 2005. – 224 с., ил.
5. Гусаченко А.М., Волошина М.А., Назарова Н.К. Малый генетический практикум: генетика *Drosophila melanogaster*. Учеб.-метод. пособие. 2-е изд., испр. и доп./ Новосиб. Гос. Ун-т. Новосибирск, 2013. – 40 с.
6. Лобашов М.Е., Ватти К.В., Тихомирова М.М. Генетика с основами селекции. – М.: Просвещение, 1970.
7. Машкина Е.В. Методическое пособие для проведения большого практикума. Часть 2. Генетический анализ. – Ростов-на-Дону: Изд-во РГУ, 2000.
8. Медведев Н.Н. Практическая генетика. – М.: Наука, 1968.
9. Орлова М.М. Генетический анализ: Учебное пособие. – М.: МГУ, 1991.

**Список наиболее часто используемых мутантных линий
*Dr. melanogaster***

apterous, *ap*, II, 55,4. Бескрылый. Жужжальцы отсутствуют, стерильны.

arc, *a*, II, 99,2. Дугообразные, широкие крылья, загнуты книзу; поперечные жилки сближены.

Bar, *B*, I, 57,0. Полосковидные глаза. Гомозиготы жизнеспособны. дупликация.

black, *b*, II, 48,5. Черный. Тело, ножки, жилки очень темные.

bordeaux, *bo*, I, 12,5. Бордовый цвет глаз. Трансгрессия с диким типом.

carmine, *cm*, I, 18,9. Карминный. Темно-рубиновый цвет глаз.

caranation, *car*, I, 62,5. Алоглазый. Темно-рубиновый цвет глаз.

cinnabar, *cn*, II, 57,5. Киноварноглазый. Цвет глаз яркий, шарлаховый, глазки бесцветны.

curved, *c*, II, 75,5. Крылья тонкие, растопырены, приподняты и закручены.

Curly, *Cy*, II, 8,5±. Крылья загнуты вверх. Гомозиготы летальны. Инверсии.

cut, *ct*, I, 20,0. Обрезанный край крыла.

dumpy, *dp*, II, 13,0. Короткокрылый. На груди воронкообразные углубления.

ebony, *e*, III, 70,7. Черный цвет тела.

eyeless, *ey*, IV, 0,2. Безглазый. Глаза редуцированы частично или полностью.

Lobe, *L*, II, 72,0. Лопастной. Глаза уменьшены, с вырезкой на переднем крае. Гомозиготы жизнеспособны.

raspberry, *ras*, I, 32,8. Малиновый цвет глаз.

scarlet, *st*, III, 44,0. Шарлаховый, багряно-красный цвет глаз, глазки бесцветны.

vestigial, *vg*, II, 67,0. Зачаточнокрылый. Крылья и жужжальцы зачаточные.

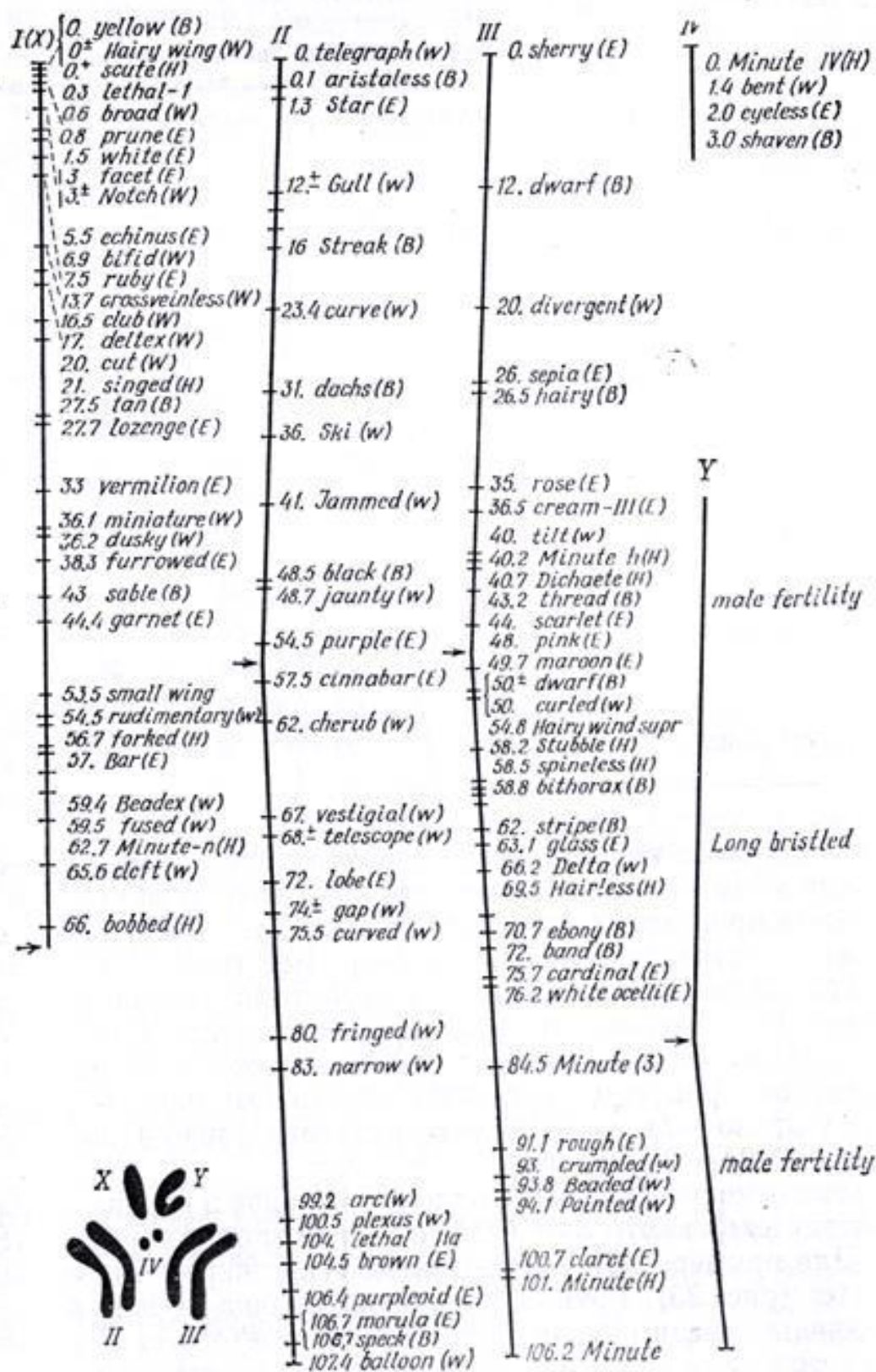
white, *w*, I, 1,5. Белоглазый. Глаза белые, глазки, мальпигиевые сосуды и семенники бесцветные.

yellow, *y*, II, 0,0. Желтый цвет тела; ротовой аппарат личинки коричневый.

Значения χ^2 при различных степенях свободы

Число степеней свободы (n)	Вероятность (P)									
	0,99	0,95	0,90	0,75	0,50	0,25	0,10	0,05	0,025	0,01
1	0,00	0,00	0,02	0,10	0,45	1,32	2,71	3,84	5,02	6,63
2	0,02	0,10	0,21	0,58	1,39	2,77	4,61	5,99	7,38	9,21
3	0,11	0,35	0,58	1,21	2,37	4,11	6,25	7,81	9,35	11,34
4	0,30	0,71	1,06	1,92	3,36	5,39	7,78	9,49	11,14	13,28
5	0,55	1,15	1,61	2,67	4,35	6,63	9,24	11,07	12,83	15,09

Генетическая карта *Dr. melanogaster*



ОКСАНА ВЛАДИМИРОВНА ГУМЕРОВА

ГУЗЕЛЬ ФАНИЛЕВНА ГАЛИКЕЕВА

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ
АНАЛИЗ ДРОЗОФИЛЫ**

ПРАКТИКУМ