

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 *Drosophilidae* 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).

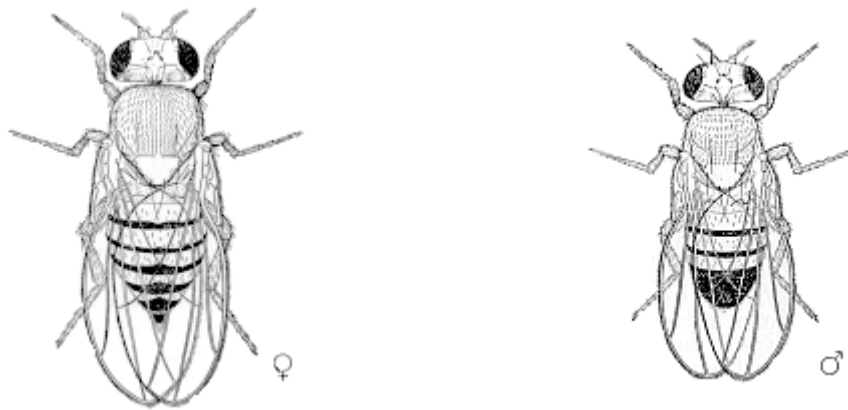


Рис. 1. Самка и самец дрозофилы

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.

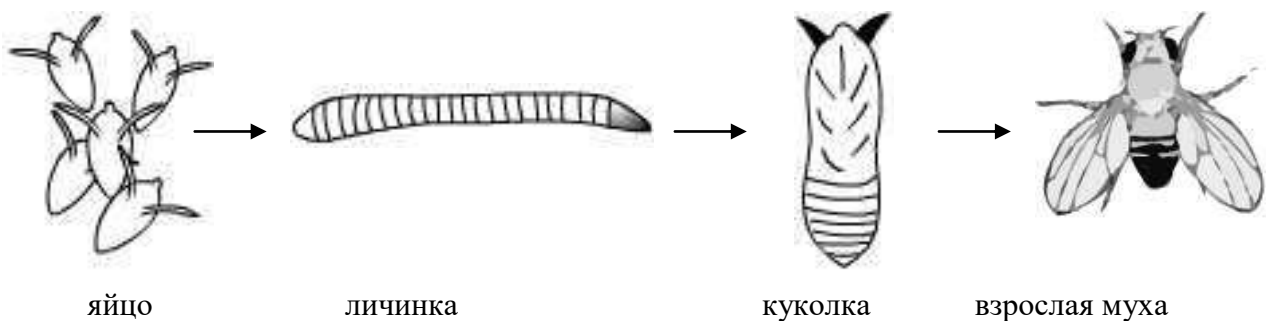


Рис. 2. Цикл развития дрозофилы

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 имагинальных 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 вытряхнуть из морилки. От большой дозы дрозофилы погибаю 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 измельчению 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
Сахароза13

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 60-70⁰ 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 (развились 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 – 120⁰С. 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 +60-70⁰С, 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 (*dumple*, *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 пропаноном.

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:

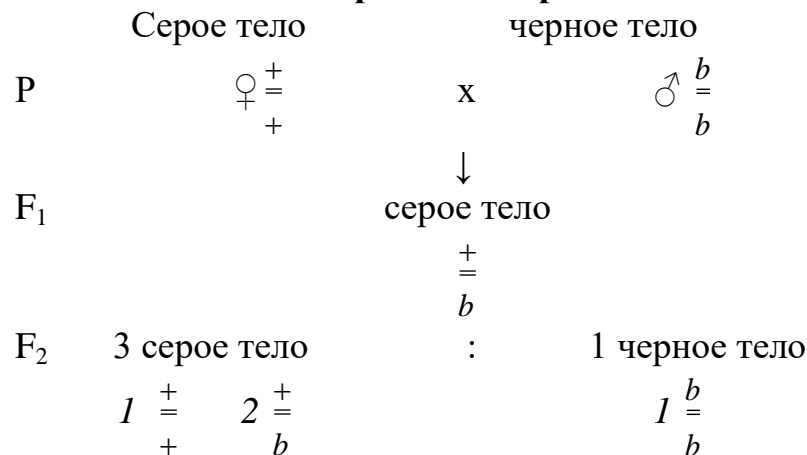
1. Проведите наркотизацию мух. Правила наркотизации приведены в лабораторной работе №1.

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 ♀ 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 длинокрылых 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 (*ааВ-*).

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

	красные глаза		ярко-красные глаза
P	♀ $\frac{st+}{st+}$	x	♂ $\frac{st}{st}$
		↓	
F ₁	красные глаза		
	$\frac{st+}{st}$		

$$F_2 \quad 3 \text{ красные глаза} \quad : \quad \text{ярко-красные глаза}$$

$$\frac{\underline{st+}}{st+} \quad 2 \frac{\underline{st+}}{st} \quad \frac{\underline{st}}{st}$$

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

	красные глаза	x	коричневые глаза
P	♀ $\frac{\underline{bw+}}{bw+}$		♂ $\frac{\underline{bw}}{bw}$
		↓	
F ₁	красные глаза		
	$\frac{\underline{bw+}}{bw}$		
F ₂	3 красные глаза	:	1 коричневые глаза
	$\frac{\underline{bw+}}{bw+}$ 2 $\frac{\underline{bw+}}{bw}$		$\frac{\underline{bw}}{bw}$

Из второго скрещивания следует, что красная и коричневая окраски также определяются аллелями одного гена, причем красный пигмент (bw^+) доминирует над коричневым (bw).

Третье скрещивание

	коричневые	x	ярко-красные глаза	
P	♀ $\frac{\underline{st+ \underline{bw}}}{st+ bw}$		♂ $\frac{\underline{st} \underline{bw+}}{st \underline{bw+}}$	
		↓		
F ₁	красные глаза			
	$\frac{\underline{st+ \underline{bw+}}}{st \underline{bw}}$			
F ₂	9 красные глаза : 3 коричневые глаза : 3 ярко-красные глаза : 1 белые глаза			
	$\frac{\underline{st+ \underline{bw+}}}{--- \quad ---}$	$\frac{\underline{st+ \underline{bw+}}}{--- \quad bw}$	$\frac{\underline{st} \underline{bw+}}{st \quad ---}$	$\frac{\underline{st} \underline{bw}}{st \quad bw}$

Из первых двух скрещиваний вытекало, что коричневоглазые мухи имеют генотип $\frac{bw}{bw}$, ярко-красные – $\frac{st}{st}$. Появление в F₁ 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 *ey*, 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 дрозophil 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		
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 имагинальных дисков на личиночной стадии в реципиентных организмах они развиваются в окрашенные глазные структуры, расположенные на брюшке мух. Бидл и Эфрусси проводили эксперименты по пересадке имагинальных 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 «бесщетиноквых» 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):1аabb (особи с рецессивными признаками).

Если подсчитать количество особей по каждой паре признаков отдельно, то окажется, что соотношение 9А-В- + 3А-bb + 3ааВ- + 1аabb

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 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 ♂	$\underline{b} \ +$	$\pm \ \pm$	\pm	\underline{b}	
♀	$\underline{b} \ \pm$	$\frac{b \ +}{=} \frac{+}{+} \text{♀}b$	$\frac{b \ +}{=} \frac{+}{+} \text{♀}N$	$\frac{b \ +}{=} \frac{+}{+} \text{♂}N$	$\frac{b \ +}{=} \frac{+}{+} \text{♂}b$
$\underline{b} \ \underline{w}$	$\frac{b \ w}{=} \frac{+}{+} \text{♀}b$	$\frac{b \ w}{=} \frac{+}{+} \text{♀}N$	$\frac{b \ w}{=} \frac{+}{+} \text{♂}w$	$\frac{b \ w}{=} \frac{+}{+} \text{♂}bw$	
$\pm \ \pm$	$\frac{b \ +}{=} \frac{+}{+} \text{♀}N$	$\frac{+ \ +}{=} \frac{+}{+} \text{♀}N$	$\frac{+ \ +}{=} \frac{+}{+} \text{♂}N$	$\frac{+ \ +}{=} \frac{+}{+} \text{♂}N$	

F ₂	\pm \underline{w}	$\begin{matrix} b & w \\ = & = \\ \text{♀} & N \\ + & + \end{matrix}$	$\begin{matrix} + & w \\ = & = \\ \text{♀} & N \\ + & + \end{matrix}$	$\begin{matrix} + & w \\ = & = \\ \text{♂} & w \\ + & \end{matrix}$	$\begin{matrix} + & w \\ = & = \\ \text{♂} & w \\ b & \end{matrix}$
----------------	-----------------------	---	---	---	---

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 F₂ 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		
♀ Normal ♂ black-vestigial F_1 Normal x black-vestigial F_2 F_1 black x 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
РР	♀ $\frac{++}{++}$		♂ $\frac{b\ vg}{b\ vg}$
Гаметы РР	$\frac{++}{++}$		$\frac{b\ vg}{b\ vg}$
F ₁	♀ $\frac{++}{b\ vg}$	x	♂ $\frac{b\ vg}{b\ vg}$
Гаметы РР	♀ $\frac{++}{b\ vg}$		♂ $\frac{b\ vg}{b\ vg}$
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.

Р	♀ $\frac{++}{b\ vg}$	x	♂ $\frac{b\ vg}{b\ vg}$
Гаметы РР	♀ $\frac{++}{b\ vg}$	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 $\text{♀} X^+X^+$ (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	В том числе			Теоретически ожидаемое	Фактически полученное
		♀	♂	Normal		
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 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 (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 буйволловой 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 ♀ $ee \frac{++}{++}$ x ♂ $+/+ \frac{wc}{wc}$

♀ Черное тело x ♂ белые глаза,
обрезанные крылья

Обратное скрещивание

PP ♀ $+/+ \frac{wc}{wc}$ x ♂ $ee \frac{++}{++}$

♀ 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 обрезаемыми крыльями с самцами дикого типа в F_1 все самки оказались дикого типа, а самцы – желтые с киноварным цветом глаз и обрезаемыми 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 обрезаемыми крыльями
- 296 с серым телом, киноварными глазами и нормальными крыльями
- 470 с серым телом, киноварными глазами и обрезаемыми крыльями
- 442 с желтым телом, красными глазами и нормальными крыльями
- 265 с желтым телом, красными глазами и обрезаемыми крыльями
- 48 с желтым телом, киноварными глазами и нормальными крыльями
- 1712 с желтым телом, киноварными глазами и обрезаемыми 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.

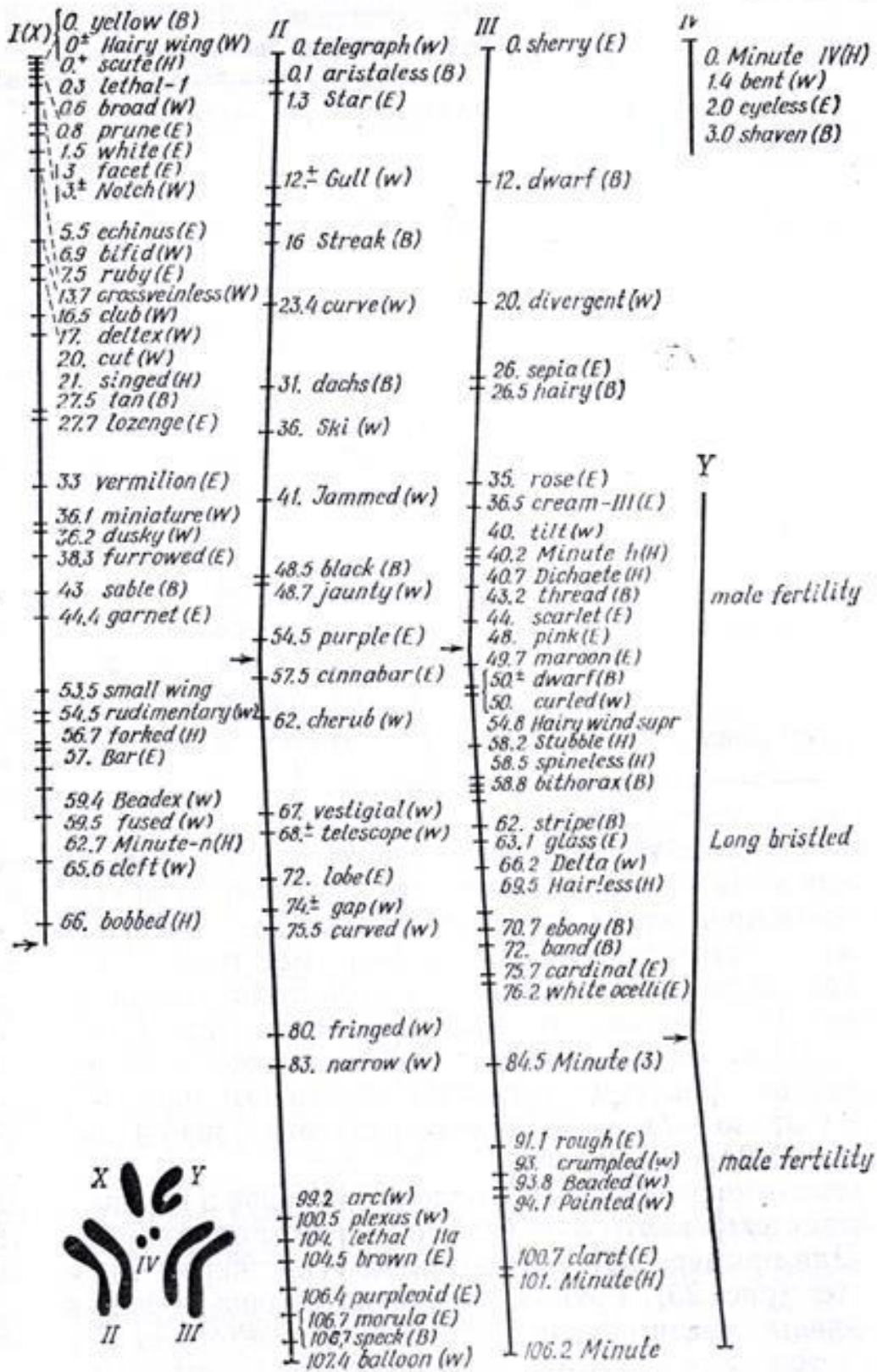
white, w, I, 1,5. Белоглазый. Глаза белые, глазки, мальпигиевые сосуды и семенники бесцветные.

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