	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный аграрный университет»	Методические рекомендации
		Б1.О.30 Генетика

Кафедра растениеводства,
селекции растений и
биотехнологии

Б1.О.30 ГЕНЕТИКА

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К ЛАБОРАТОРНЫМ РАБОТАМ

Направление подготовки

35.03.03 Агрохимия и агропочвоведение

Профиль подготовки

Экологический мониторинг в агробизнесе

Квалификация выпускника

бакалавр

Уфа 2022

.
. .

Составитель: доцент кафедры растениеводства, селекции растений и биотехнологии, к.с.-х.н. Дмитриев А. М

Рассмотрена и одобрена на заседании методической комиссии факультета агротехнологий и лесного хозяйства «24» марта 2022 г. (протокол № 7).

Рецензент: к .б. н., доцент Рахимова Г.М.

Ответственный за выпуск: зав. кафедрой растениеводства, селекции растений и биотехнологии к.с.-х.н., доцент Алимгафаров Р.Р.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОСКОПИЧЕСКОЙ ТЕХНИКИ В ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ.....	4
ИЗУЧЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ХРОМОСОМ У РАСТЕНИЙ	18
ПОДСЧЕТ ЧИСЛА ХРОМОСОМ У РАСТЕНИЙ.....	26
МИТОТИЧЕСКОЕ ДЕЛЕНИЕ КЛЕТКИ.....	28
МЕЙОТИЧЕСКОЕ ДЕЛЕНИЕ КЛЕТКИ.....	36
ГАМЕТОГЕНЕЗ И ДВОЙНОЕ ОПЛОДОТВОРЕНИЕ У ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ РАСТЕНИЙ	42
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ	47
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ	62
ДИНАМИКА ПАНМИКТИЧЕСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ У ПЕРЕКРЕСТНООПЫЛЯЮЩИХСЯ КУЛЬТУР ПРИ ПОЛНОЙ ЭЛИМИНАЦИИ РЕЦЕССИВНЫХ ГОМОЗИГОТ.....	65

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОСКОПИЧЕСКОЙ ТЕХНИКИ В ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

1 Цель занятия: научиться правильно пользоваться микроскопической техникой при цитогенетических исследованиях.

2 Оборудование: микроскопы, осветитель ОИ-13 (или другой марки), трансформаторы, демонстрационные насадки АТ-34, рисовальный аппарат РА-4 или РА-7, светофильтры, микрофотонасадка МФН-12 или МФН-11, фотокамера, видеокамера, микропрепараты.

3 Отчетность. Показать преподавателю тетрадь с выполненными заданиями и ответить на предложенные вопросы.

4 Задания:

1. Ознакомиться с устройством микроскопа, его техническими возможностями и работой с ним в проходящем свете.

2. Вычислить разрешающую способность объективов и увеличение микроскопа при различных сочетаниях объективов и окуляров (табл. 1).

3. Ознакомиться с правилами настройки освещения в микроскопе.

4. Изучите правила работы с микроскопом, наиболее распространенные ошибки при работе и меры безопасности.

5. Настроить освещение и подготовить микроскоп к работе, настроив его на препарате.

6. Ознакомиться с методами наблюдения в микроскоп, способами повышения контрастности препарата.

7. Ознакомиться с методами измерения микроскопических объектов и фиксирования изображений.

8. Ответить на контрольные вопросы.

1.1. Устройство микроскопа и работа с ним в проходящем свете

Для проведения тонких цитологических исследований наиболее пригодны микроскопы МБИ-3, МБР-3, МБИ-6, МБИ-11, «Биолам», а также серия микроскопов Микмед-1. О дополнительном оборудовании, используемом на лабораторных занятиях, при проведении научно-исследовательских работ можно посмотреть по QR-коду (рис. 1).

Освещение

устанавливают в соответствии с принципом Келера, который заключается в обеспечении условий для максимального использования апертур оптических компонентов микроскопа, т. е. в создании условий наблюдения, при которых числовые апертуры конденсора и объектива совпадают (см. QR-код, рис. 2).



Рис. 1. Оборудование, используемое на лабораторных занятиях, при проведении научно-исследовательских работ



Рис. 2. Алгоритм настройки освещения микроскопа по Келеру

Устройство микроскопа

Устройство микроскопа наглядно показано на рисунках 3 и 4.

Визуальная насадка микроскопа. В комплект микроскопа может входить *монокулярная* насадка, которая позволяет проводить исследование объектов только одним глазом. Она имеет увеличение, равное $1\times$. При использовании такой насадки можно применять поляризаторы для исследования в поляризованном свете. Увеличение *бинокулярной* насадки — $1,5\times$.

Окуляры, входящие в комплект микроскопа, могут иметь различное увеличение и позволяют проводить наблюдения в полях зрения разного диаметра. Окуляры увеличивают создаваемое объективами изображение. Маркировка окуляра позволяет определить его увеличение, а в некоторых случаях — диаметр поля зрения (рис. 5). Для измерений в фокальную плоскость окуляра могут быть вставлены *шкала* или *сетка* (рис. 6). При демонстрации интересующего участка объекта может использоваться окуляр с указателем.

Револьверное устройство обеспечивает установку четырех объективов. Смена объективов производится вращением револьверного устройства за конусную поверхность до фиксированного положения.

Объективы выполняют главную функцию: в их системе линз формируется первичное изображение, которое передается в окуляры. Маркировка объективов представлена на рисунке 7. Классификацию объективов микроскопов можно посмотреть по QR-коду (рис. 8)

Глубина резкости изображения (глубина фокуса) — способность объектива одновременно давать резкие изображения точек, находящихся от него на разном расстоянии, или глубина препарата, видимая одновременно резко.

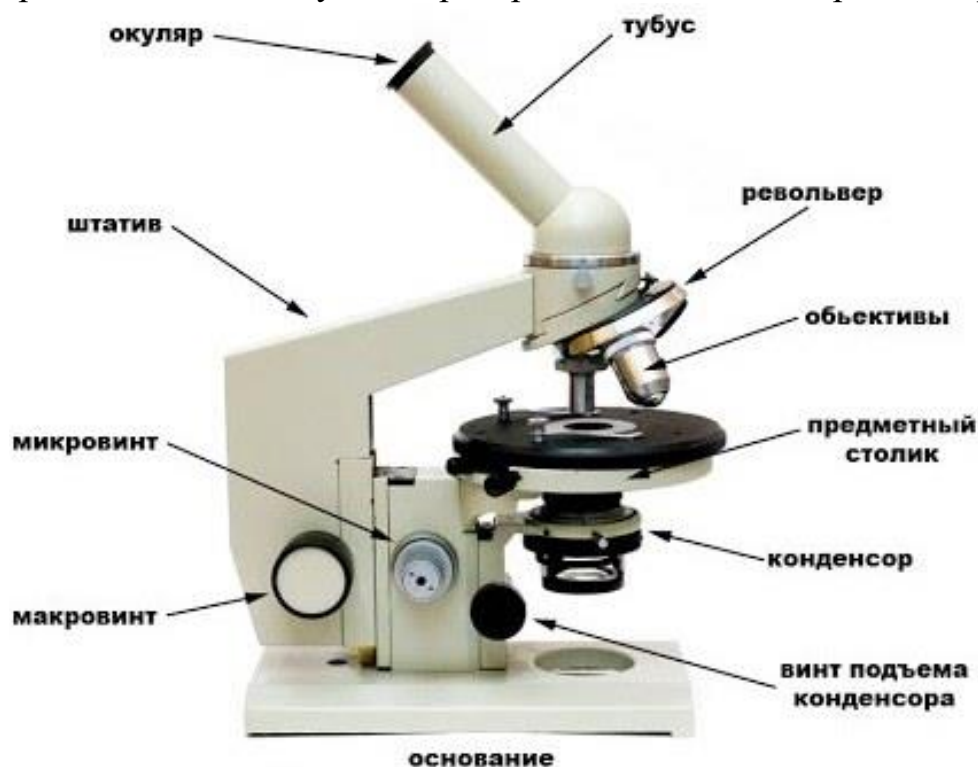


Рис. 3. Устройство микроскопа с зеркалом



Рис. 4. Устройство микроскопа с встроенным осветителем



Рис. 5. Маркировка окуляров:

K — компенсационный; 15^x — видимое увеличение, WF в маркировке обозначаются широкоугольные окуляры; 18 — диаметр видимого поля зрения
Маркировка окуляра WF15/15 будет означать увеличение 15 крат и, соответственно, поле зрения 15 мм.

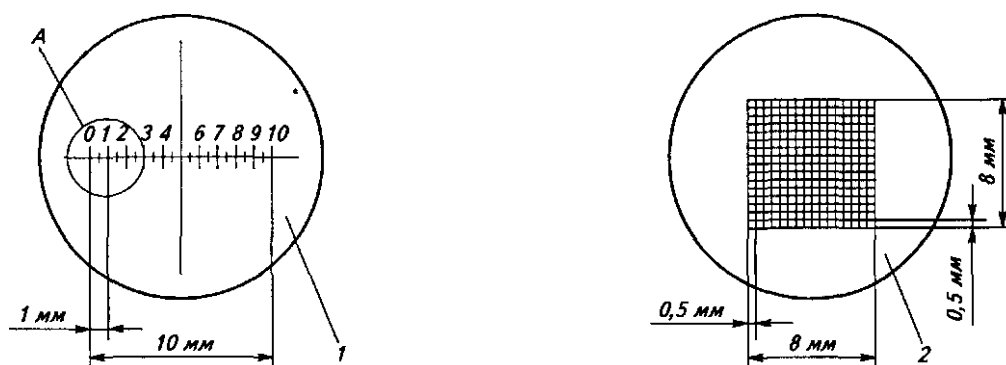


Рис. 6. Шкала (1) и сетка (2) измерительного окуляра K7^x



Рис. 7. Маркировка объективов



Рис. 8. Классификация объективов микроскопов

Качество микроскопа определяется не увеличением, а разрешающей способностью оптических устройств. *Разрешающая способность* объектива микроскопа (d) — наименьший диаметр частицы, которую можно увидеть при данном объективе, или то наименьшее расстояние между двумя линиями, при котором они видны как отдельные.

Разрешающая способность объектива микроскопа зависит от значений *нумерической (числовой) апертуры* (NA) объектива и конденсора и длины волны источника света (λ). Для пучка лучей, параллельных оптической оси микроскопа, разрешающую способность объектива микроскопа определяют по формуле

$$d = \frac{\lambda}{NA}. \quad (1.1)$$

Для наклонных лучей разрешающая способность в 2 раза выше:

$$d = \frac{\lambda}{2NA}. \quad (1.2)$$

Длина волны лучей источника света в видимой части спектра может меняться от 0,4 мкм (400 нм) для фиолетовых лучей до 0,7 мкм (700 нм) для красных. Следовательно, чем короче длина волны лучей источника света и чем больше нумерическая апертура объектива, тем выше разрешающая способность объектива микроскопа, т. е. тем более тонкие структуры мы сможем увидеть в микроскоп. При освещении объекта наклонными лучами разрешающая способность объектива микроскопа в 2 раза выше, чем при освещении прямо падающими лучами. Освещая препарат синими лучами ($\lambda = 0,47$ мкм), т. е. применяя в осветителе синий светофильтр, можно изучать более тонкие структуры, чем при освещении обычным белым светом.

Нумерическая (числовая) апертура (NA) — величина, характеризующая светособирающую способность объектива, которая определяется произведением показателя преломления среды (n), находящейся между передней (фронтальной) линзой объектива и покровным стеклом препарата, на синус половины угла входного отверстия объектива — $\sin a$, где a — половина угла входного отверстия объектива (рис. 9).

В случае сухих объективов (без использования жидких сред — иммерсии) коэффициент преломления равен единице ($n = 1$) и $NA \leq 0,95$.

Иммерсионная система — объектив микроскопа, у которого пространство между фронтальной линзой и рассматриваемым предметом заполнено жидкостью с более высоким показателем преломления, чем воздух (рис. 10). Для иммерсионных объективов нумерическая апертура зависит от показателя преломления жидкости, находящейся между препаратом и объективом. Поэтому для водно-иммерсионных объективов $< 1,25$ (вода имеет $n = 1,33$), а для масляно — иммерсионных объективов $NA < 1,4$ (кедровое масло

имеет $n = 1,515$). Для улучшения качества изображения часто применяется полная иммерсия, когда иммерсионную жидкость наносят и на конденсор.

Иммерсионную жидкость наносят между линзой и объективом в виде капли на поверхность покровного стекла препарата и, опуская затем тубус, погружают линзу в каплю иммерсии.

Конденсор обеспечивает освещение полей на объекте при работе с объективами с увеличением от 3,5 до 100^x.

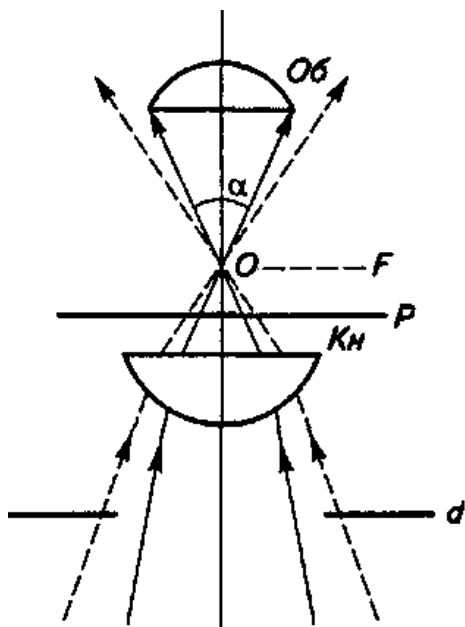


Рис. 9. Угол отверстия объектива микроскопа:

Об — объектив; Кн — конденсор; Р — плоскость препарата; d — диафрагма; F — фокальная плоскость; α — угол отверстия объектива

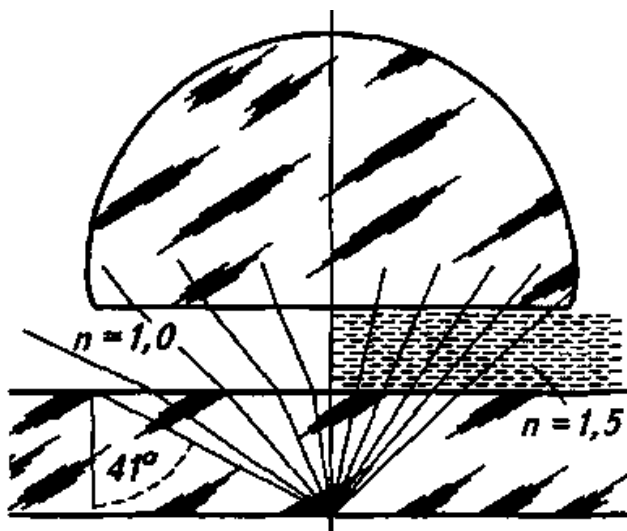


Рис. 10. Сравнение хода лучей при использовании сухого (слева) и иммерсионного (справа) объективов. В случае иммерсионного объектива применяется масло ($n = 1,5$)

Фокусирование на объект осуществляют перемещением **тубусодержателя**. Грубую фокусировку производят вращением рукояток макровинта, расположенных по обеим сторонам тубусодержателя. Диапазон грубой фокусировки микроскопа — 40 мм. Тонкую фокусировку производят с помощью микровинта, выполненного в виде диска с накаткой. Один оборот диска соответствует перемещению тубусодержателя на 0,5 мм, а вращение диска от упора до упора — не менее 2 мм. Перед началом работы необходимо установить рукоятку тонкой фокусировки приблизительно в среднее положение.

Предметные столики могут быть различной формы, вращаемыми, оснащенными препаратоводителями с координатным перемещением объекта. В последних держатели можно перемещать относительно друг друга (в зависимости от размера предметного стекла) при помощи винтов. Препарат крепят на предметном столике с помощью клемм или держателей.

Координаты объекта и величину перемещения отсчитывают по шкалам с ценой деления 1 мм и нониусам с ценой деления 0,1 мм.

Осветительные устройства могут быть вынесенными, накладными и встроенными. В случае *вынесенного* осветителя используется зеркало. Оно имеет две отражающие поверхности: плоскую и вогнутую. Вогнутую поверхность используют при естественном освещении, в отдельных случаях она может служить для повышения освещенности объекта. *Накладные* осветители ОИ-32М или ОИ-35 вставляют в посадочное гнездо в основании микроскопа. *Встроенный* в основание микроскопа осветитель включает галогенную лампу, коллекторную линзу, вблизи фокуса которой располагается нить лампы.

1.2. Настройка освещения в микроскопе

1.2.1. Настройка освещения в микроскопе с вынесенным осветителем

В соответствии с принципом Келера при установке освещения для микроскопа типа МБИ-3, а также микроскопов серии Микмед с вынесенным осветителем необходимо руководствоваться следующими правилами.

1. Устанавливают осветитель ОИ-19 (или ОИ-9м) перед микроскопом с помощью соединительной планки, что обеспечивает нормальное расстояние микроскопа от осветителя. Включают его через трансформатор в сеть и, поворачивая корпус, направляют световой поток на *плоское* зеркало микроскопа.

2. Поднимают конденсор микроскопа в верхнее положение и полностью закрывают его диафрагму.

3. Уменьшают диаметр отверстия ирисовой диафрагмы осветителя до 1-2 мм.

4. Перемещая патрон лампочки осветителя вдоль оси и одновременно поворачивая зеркало микроскопа и корпус осветителя, добиваются получения изображения нити лампочки на закрытой диафрагме конденсора. При этом центр изображения нити лампочки должен находиться в центральной части ирисовой диафрагмы.

5. Открывают отверстие диафрагмы конденсора и осветителя.

6. Уменьшают яркость свечения нити лампочки при помощи реостата.

7. Помещают исследуемый препарат на предметный столик микроскопа, ставят необходимый объектив в рабочее положение и, глядя в окуляры бинокулярной насадки микроскопа, перемещением тубуса фокусируют оптику микроскопа на объект.

8. Почти полностью закрывают диафрагму осветителя и перемещением конденсора добиваются резкого изображения диафрагмы осветителя в поле зрения микроскопа.

9. Поворотом зеркала центрируют изображение диафрагмы осветителя, а затем открывают ее настолько, чтобы изображение диафрагмы было равно (или немного больше) полю зрения микроскопа

10. Вынимают один окуляр и, глядя в тубус микроскопа, уменьшают диафрагму конденсора до едва заметного появления ее краев на фоне светлого кружка задней линзы объектива.

11. Помещают окуляр на место. В прорези осветителя вставляют *синее* и *матовое* стекла. Затем, глядя в микроскоп, при помощи реостата осветителя устанавливают необходимую освещенность препарата.

12. Исследуют препарат.

Примечания. 1. При работе с низкоапертурными объективами малого увеличения (10^x и меньше) перед настройкой освещения устанавливают сменный низкоапертурный конденсор или, если это позволяет конструкция конденсора, отделяют (отвинчивают) его верхнюю линзу.

2. Пункт 7 можно выполнить в самом начале при произвольно установленном освещении, а затем внести коррективы в соответствии с принципом Келера.

1.2.2. Настройка освещения в микроскопе со встроенным в основание осветителем

Порядок настройки микроскопа со встроенным осветителем.

1. Устанавливают матовое стекло в откидную рамку конденсора.
2. Вводят в ход лучей объектив меньшего увеличения (10^x и менее).
3. Вводят в ход лучей матовое стекло и откидную линзу конденсора.
4. Поднимают рукояткой кронштейн с конденсором до упора и полностью раскрывают апертурную диафрагму конденсора.
5. Устанавливают патрон с лампой в шарнир до упора.
6. Устанавливают лампу таким образом, чтобы ее нить располагалась горизонтально.
7. Подключают источник питания к сети и включают лампу.
8. Фокусируют микроскоп на резкое изображение препарата, установленного на предметном столике.
9. Перемещая патрон с лампой за рукоятку вдоль оси и разворачивая его вместе с шарниром в горизонтальной плоскости, добиваются наиболее яркого и равномерного освещения поля зрения микроскопа.
10. При работе с другим объективом повторяют настройку освещения.
11. **ВНИМАНИЕ!** При работе с объективами с увеличением более 10^x откидная линза конденсора должна быть выведена из хода лучей.

1.3. Правила работы с микроскопом

Микроскоп необходимо содержать в чистоте и предохранять от повреждений. В нерабочем состоянии микроскоп должен быть накрыт чехлом.

Особое внимание следует обращать на чистоту объективов и других оптических деталей.

ВНИМАНИЕ! Нельзя касаться пальцами поверхностей линз.

Для предохранения оптических деталей визуальной насадки от пыли следует оставлять окуляры в тубусах или надевать на них колпачки.

Оптические поверхности окуляров, объективов и конденсора можно осторожно протирать чистой ватой, накрунутой на деревянную палочку и смоченной специальной жидкостью для чистки оптических деталей.

При загрязнении внутренних поверхностей линз объектива необходимо объектив отправить для чистки в оптическую мастерскую.

У микроскопов окуляры и объективы устроены так, что в них имеется по две линзы и более. Такая оптическая конструкция позволяет избежать искажений и даёт чёткую картинку. Её можно регулировать с помощью разных элементов микроскопа. Научиться этому вы сможете, воспользовавшись простым алгоритмом действий. Рассмотрим его подробнее на примере работы с простым биологическим микроскопом:

1. осмотрите ваш инструмент. Если на нём есть пыль, его нужно аккуратно протереть с помощью мягкой салфетки, уделяя особое внимание оптическим элементам в объективе;

2. поставьте микроскоп перед собой. Всю работу выполняйте сидя. Ориентируясь на край стола, выберите максимально удобное положение, отступив примерно 2-3 сантиметра от его края;

3. если в микроскопе есть конденсор, его надо поднять вверх;

4. откройте диафрагму конденсора;

5. начинайте исследования объекта с минимального увеличения. Для этого поставьте в микроскоп соответствующий окуляр;

6. поработайте с объективом: опустите его так, чтобы между ним и предметным стеклом оставалось около 1 см;

7. отрегулируйте свет, используя зеркальце или электрическую подсветку (верхнюю или нижнюю, в зависимости от типа и модели вашего микроскопа);

8. положите на предметный столик препарат, который вы хотите рассмотреть;

9. следите сбоку за движением объектива. Работая макровинтом, одновременно опускайте объектив вниз. Когда расстояние между препаратом и линзой объектива снизу станет 4-5 мм, вращение макровинта можно прекратить.

10. теперь смотрите одним глазом в окуляр и вращайте винт грубого наведения к себе. Таким образом объектив поднимется до того уровня, который позволит вам хорошо рассмотреть препарат.

При работе с любым микроскопом соблюдайте важную меру предосторожности. Никогда не смотрите в окуляр, одновременно опуская объектив. Опускать его всегда нужно, следя за процессом сбоку, чтобы покровное стекло и линза всегда находились на безопасном расстоянии друг от друга.

11. Если вы хотите больше увеличить изучаемый объект, выберите один из его участков и поместите его в центре поля зрения микроскопа.

12. Смените окуляр на увеличение до 40, поставив револьвер в рабочее положение. Хорошего изображения вы добьётесь, вращая микрометрический винт так, чтобы его точка всё время находилась между двумя рисками, не выходя за их пределы.

1.4. Наиболее распространенные ошибки при работе с микроскопом

Рассмотрим важнейшие погрешности при работе с микроскопом, чтобы начинающие исследователи не допускали их с самых первых шагов, добиваясь таким образом максимального использования возможностей микроскопа. К таким ошибочным действиям необходимо отнести следующие.

1. Одновременное применение вогнутого зеркала и конденсора, что нарушает принцип освещения препарата.
2. Использование высокоапертурных конденсоров с $NA = 1,2 - 1,4$ с низкоапертурными объективами с $NA = 0,2 - 0,4$ ухудшает качество изображения. Для устранения этой ошибки следует предварительно уменьшить нумерическую апертуру конденсора путем снятия (отвинчивания) его верхней линзы.
3. Произвольное опускание конденсора без учета толщины предметного стекла может привести к появлению артефактов.
4. Регулировка освещенности поля зрения микроскопа при помощи опускания и поднятия конденсора, поскольку это влияет на качество изображения.
5. Произвольное изменение величины отверстия апертурной диафрагмы конденсора с целью регулировки освещенности поля зрения микроскопа.
6. Пренебрежение нейтральными светофильтрами и матовыми стеклами для регулировки освещенности поля зрения микроскопа, что ухудшает восприятие препарата и может оказывать отрицательное влияние на зрение исследователя.
7. Применение толстых предметных стекол (толще 1,2 мм), что препятствует правильной установке освещения при высокоапертурных объективах, поскольку при этом не удастся сфокусировать конденсор на объекте.
8. Применение покровных стекол несоответствующей толщины (толще или тоньше 0,17 мм).
9. Пренебрежение созданием полной иммерсии при работе с объективами, имеющими нумерическую апертуру более 1,2, что не позволяет полностью использовать нумерическую апертуру объектива.

1.5. Меры безопасности при работе с микроскопом

При работе с микроскопом с осветителем следует соблюдать меры безопасности, соответствующие мерам, принимаемым при эксплуатации электроустановок напряжением до 1000 В.

ВНИМАНИЕ! Замену лампы в осветителе микроскопа производить только при отключении от электрической сети. Во избежание ожога кожи рук о колбу лампы или контактные пластины патрона замену лампы следует производить через 15—20 мин после ее перегорания.

Замену плавкой вставки (предохранителя) в микроскопе следует производить при отключенном от сети микроскопе.

После работы на микроскопе с осветителем необходимо отключить его от сети.

Не рекомендуется оставлять без присмотра включенный в сеть микроскоп.

1.6. Метод светлого поля

Метод светлого поля — один из наиболее распространенных и доступных методов наблюдения. Используется для исследования прозрачных объектов. Изображение создается за счет неодинакового поглощения пучков света, проходящих через препарат, участками с разной плотностью. В данном случае речь идет о *микроскопии в проходящем свете*, при которой пучок света от источника (осветителя) концентрируется в конденсоре и подается на препарат. При прохождении света через препарат формируется изображение объекта, которое увеличивается в объективе, а затем в окулярах. Лучше всего использовать этот метод для изучения окрашенных постоянных препаратов срезов или давленных препаратов тканей растений. Непрозрачные объекты можно исследовать *в падающем (отраженном) свете*, в этом случае пучок света падает на препарат из объектива, который служит конденсором и, отражаясь, вновь попадает в объектив.

Для получения информации о рельефном изображении объекта, а также для улучшения контрастности препарата используют *метод косого освещения*. В данном случае происходит отклонение пучка света за счет смещения апертурной диафрагмы.

1.7. Метод темного поля

В основе метода лежит дифракция световых волн, возникающая на каждом препятствии для светового луча (рис. 1.16). Явление, которое мы наблюдаем при микроскопировании в темном поле, подобно свечению мельчайших пылинок в темной комнате, когда на них падает солнечный луч.

Освещение косыми лучами на темном поле, как и использование наклонных лучей (формула 1.2), в 2 раза повышает разрешающую способность объективов микроскопа.

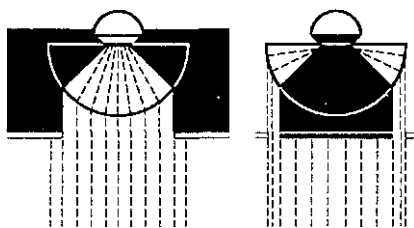


Рис. 1.16. Схема хода лучей в светловольном конденсоре (слева) и в темнопольном конденсоре при центральной диафрагме (справа)

1.8. Повышение контрастности препарата и метод фазового контраста

Для повышения контрастности препарата можно использовать:

- красители;
- светофильтры;
- механизмы микроскопа;
- специальные устройства (фазово-контрастный микроскоп).

1.11. Измерение микроскопических объектов

При цитологических исследованиях нередко требуется измерить диаметр ядра и пыльцевых зерен, длину пыльцевых трубок, определить размеры клеток и т. д. Для этой цели служат специальные вспомогательные принадлежности и приборы к микроскопам (окуляр-микрометр, компенсационный окуляр со шкалой, винтовой окуляр-микрометр, объект-микрометр).

Окуляр-микрометр. Представляет собой круглую стеклянную пластинку с линейной шкалой длиной 10 мм, разделенную соответственно на 100 частей (рис. 1.19, 1, см. также рис. 1.7). Для измерения микроскопического объекта необходимо отвинтить глазную линзу окуляра и поместить окуляр-микрометр внутрь окуляра на диафрагму. Глядя в окуляр микроскопа, мы одновременно увидим шкалу окуляр-микрометра и изучаемый объект на препарате. Передвигая препарат при одновременном поворачивании окуляра вокруг его оси, можно определить размеры объекта в делениях окуляр-микрометра. Для установления истинного размера микроскопического объекта в микрометрах или долях миллиметра необходимо умножить его размеры в делениях окуляр-микрометра на цену одного деления, которую определяют отдельно для каждой комбинации объектива и окуляра микроскопа. Для каждого микроскопа составляется специальная таблица. При этом используют специальный вспомогательный препарат — *объект-микрометр*, на котором в качестве объекта помещена шкала длиной 1 мм, состоящая из 100 частей. Цена деления шкалы объект-микрометра 10 мкм (рис. 1.19, 2).

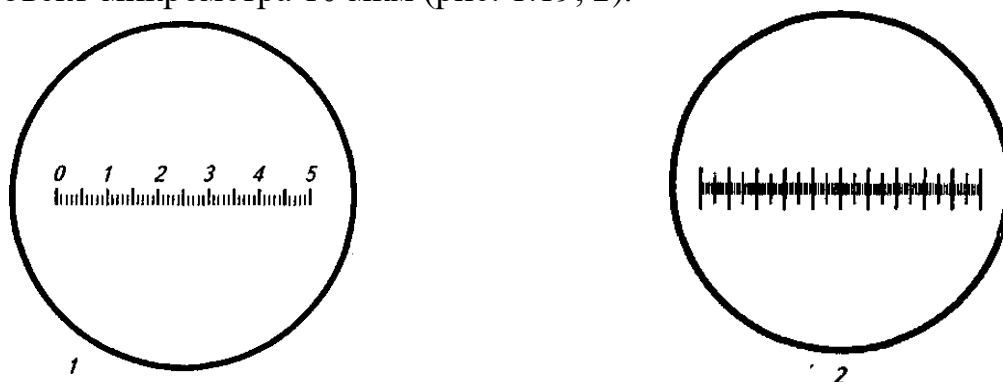


Рис. 1.19. Шкала окуляр-микрометра (1) и объект-микрометра (2)

Поместив объект-микрометр на столик микроскопа, получают резкое изображение его шкалы, которое совмещают с изображением шкалы окуляр-микрометра. Устанавливают, сколько делений объект-микрометра точно приходится на определенное число делений окуляр-микрометра и, разделив первую величину на вторую и умножив результат на 10 мкм (цена деления объект-микрометра), получают цену деления окуляр-микрометра.

Пример. При объективе 40х и окуляре 7х определили, что 5 делений объект-микрометра совпадают с 13 делениями окуляр-микрометра. Цена одного деления окуляр-микрометра будет равна $5 \cdot 10/13 = 3,85$ мкм.

Использование винтового окуляр-микрометра МОВ-1-15х для измерения микрообъектов. Этот окуляр-микрометр позволяет определить

размеры микроскопического объекта более точно, чем это можно сделать компенсационным окуляром со шкалой. Прибор состоит из вмонтированных в один корпус: компенсационного окуляра с увеличением 15х, неподвижной шкалы с восемью делениями, подвижной сетки с перекрестием и двойным штрихом и микрометрического винта со 100 делениями на барабане. Цена одного деления на барабане соответствует 0,01 деления неподвижной шкалы окуляр-микрометра. За один полный оборот барабана сетка с перекрестием передвигается на одно деление неподвижной шкалы, по которой отсчитываются целые части, тогда как дробные — по шкале барабана.

Для измерения объекта винтовой окуляр-микрометр надевают на тубус микроскопа взамен его окуляра. Для каждого объектива микроскопа определяют цену деления шкалы барабана при помощи объект-микрометра. Кладут на столик микроскопа препарат и, вращая барабан, подводят перекрестие подвижной сетки к одному краю измеряемого объекта. Производят отсчет на барабане, затем подводят перекрестие к другому краю объекта и вновь производят отсчет. Разность между двумя отсчетами по барабану дает размер объекта в делениях шкалы барабана. Зная цену деления шкалы барабана, определяют истинные размеры объекта в микрометрах.

Измерение толщины микроскопических объектов. Для этой цели можно воспользоваться шкалой, нанесенной на барабане (барашке) микрометрического винта микроскопа. Сначала фокусируют микроскоп на верхнюю, а затем на нижнюю поверхность микроскопического объекта. Расстояние, на которое опустил тубус, определяют по делениям шкалы барабана. Цена одного деления этой шкалы в большинстве случаев указана на барабане. Обычно вся шкала имеет 50 делений, и один поворот барабана перемещает тубус микроскопа на 0,1 мм. Отсюда цена одного деления равна 0,002 мм, или 2 мкм. Однако для определения истинной толщины объекта нельзя просто умножить полученное число делений на цену одного деления, необходимо еще умножить на поправочный коэффициент. Для сухих объективов поправочный коэффициент равен 1,5, т. е. отношению показателей преломления стекла и воздуха. Для масляной иммерсии отношение между показателями преломления стекла и кедрового масла равно 1,0 и необходимость умножения на поправочный коэффициент отпадает.

1.12. Фиксирование изображения

Для регистрации изображения и его фиксирования могут быть использованы различные приемы, например зарисовка объекта с помощью рисовальных или рисовально-проекторных аппаратов, фотографирование с помощью классических пленочных фотоаппаратов либо с использованием интенсивно развивающихся цифровых фото- и видеокамер, включая прижизненную видеосъемку происходящих в клетках процессов.

Таблица 1. Разрешающая способность объективов и увеличение микроскопа при различных сочетаниях объективов и окуляров

Увеличение объектива ¹	Числовая апертура объектива ¹	Длина белого света, мкм	Разрешающая способность объектива, мкм	Увеличение окуляра ²	Увеличение микроскопа
		0,55			

Примечание: 1 - указан на объективе; 2 – указан на окуляре

Вопросы для контроля.

1. Каково устройство микроскопа? Что входит в состав механической части микроскопа, а что в оптическую?
2. В чем заключается установка освещения в соответствии с принципом Келера?
3. Дайте характеристику объектива и окуляра.
4. Что представляет собой конденсор и для чего он служит, в какой части микроскопа располагается?
5. Что называется разрешающей способностью объектива, от чего она зависит?
6. Каким образом можно увеличить разрешающую способность объективов?
7. Каково наибольшее полезное увеличение светового микроскопа? При каких сочетаниях объективов и окуляров его можно достигнуть?
8. Дайте определение нумерической (числовой) апертуре.
9. Каковы основные правила эксплуатации микроскопа?
10. Какими способами можно измерить/зафиксировать наблюдаемый под микроскопом объект?

Библиографический список

1. Пухальский, В. А. Практикум по цитологии и цитогенетике растений / В.А. Пухальский, А.А. Соловьев, Е.Д. Бадаева, В. Н. Юрцев. – М.: КолосС, 2007. – 198 с.
2. Егорова О.В. С микроскопом на «ты». Шаг в XXI век. Световые микроскопы для биологии и медицины. – М.: Издательство «Репроцентр М», 2006
3. Классификация объективов микроскопов
https://microcosmos555.blogspot.com/p/blog-page_62.html
4. Алгоритм настройки освещения микроскопа по Келеру
<https://opticalmarket.com.ua/nastrojka-osveschenija-po-kelleru-videourok.html>
5. Правила работы с микроскопом и его настройка
<https://poznavajamir.ru/information/stati-o-tovarah/mikroskopy-info/pravila-raboty-s-mikroskopom-i-ego-nastrojka/>

ИЗУЧЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ХРОМОСОМ У РАСТЕНИЙ

Цель занятия: Изучить типы и морфологическое строение хромосом.

Задания:

1. Ознакомиться с особенностями морфологической классификации хромосом по пояснению к теме.
2. Пользуясь моделями или микрофотографиями кариотипов определить основные параметры хромосом, форму, составить их кариограмму и начертить идиограмму (см. порядок работы на стр. 24).
3. Ответить на вопросы для самоконтроля.

Пояснение к теме ХРОМОСОМЫ, ИХ ТИПЫ И СТРОЕНИЕ

Хромосомы — наиболее важная составная часть ядра. Они играют ведущую роль в явлениях наследственности. Хромосомы каждого вида растений и животных имеют свои морфологические особенности и определенные размеры. Хромосомы претерпевают цикл спирализации и деспирализации в митозе и мейозе. В интерфазном состоянии они сильно деспирализованы и в этот момент наиболее активны. В спирализованном состоянии хромосома инактивирована. Строение хромосом лучше всего выявляется в метафазе митоза, когда они максимально спирализованы и расположены в экваториальной плоскости. Г.А. Левитский установил единый принцип описания строения хромосом.

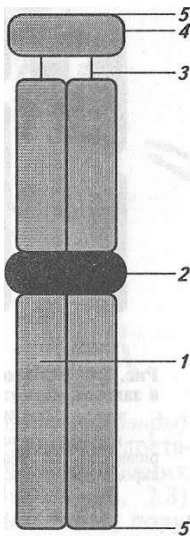


Рис. 1. Схема строения хромосомы: 1 — две сестринские хроматиды; 2 — центромера; 3 — вторичная перетяжка; 4 — спутник; 5 — теломера

Хромосомы большинства растений в момент деления клетки хорошо видны в световой микроскоп. Хромосомы неделящихся ядер не видны, так как находятся в деконденсированном состоянии. Показано, что чем выше степень деконденсации хромосом, тем активнее протекают метаболические процессы в самом ядре. Морфологически хромосомы растений и животных имеют нитевидную или палочкообразную форму. Метафазная хромосома состоит из двух *хроматид*, хроматиды одной хромосомы называют *сестринскими*. Как правило, хромосомы имеют локализованную *центромеру* (*первичную перетяжку*), которая делит их на два плеча (рис. 1).

Под микроскопом первичная перетяжка представлена светлой (неокрашенной) зоной, которая играет основную роль в перемещении хромосом при делении ядра. Центромера на каждой из хромосом занимает строго определенное место. В области центромеры располагаются кинетохоры — белковые элементы, к которым прикрепляются нити веретена деления, и происходит разделение хромосомы на хроматиды.

Однако у ряда видов, например, некоторых растений семейства Ситниковые, ожики, а также водорослей, мхов, грибов, отдельных представителей насекомых (полужесткокрылые, скорпионы) и клещей, хромосомы не имеют четко выделенной центромеры. Такую центромеру называют *диффузной*. Хромосомы, имеющие диффузные центромеры, называют *голокинетическими*. Расхождение хромосом в анафазе митотического деления обеспечивается прикреплением нитей веретена деления по всей длине хромосом. Хромосомы, имеющие одну центромеру, называются *моноцентрическими*, две — *дицентрическими*, три и более центромер — *полицентрическими*.

При этом ди- и полицентрические хромосомы встречаются крайне редко, в районах центромер таких хромосом также прикрепляются кинетохоры.

Каждая хромосома может быть охарактеризована некоторыми параметрами, из которых важное значение имеют: *центромерный индекс* - отношение длины короткого плеча (S) к сумме длин короткого и длинного плеча ($S + L$);

$$Ic = \frac{S}{S+L} \times 100\%$$

плечевой индекс Ib — отношение длины длинного плеча (L) к длине короткого плеча (S) хромосомы;

$$Ib = \frac{L}{S} \times 100\%$$

абсолютная длина хромосомы La — реальная длина хромосомы, выраженная в микрометрах;

относительная длина хромосомы Lr — отношение длины хромосомы к сумме длин всех хромосом ядра.

$$Ir = \frac{La}{La1 + La2 + \dots + Lan} \times 100\%$$

При проведении кариологического анализа важное значение имеет такой показатель, как *индекс спирализации хромосом* (Is) — отношение суммарной длины двух самых коротких хромосом к суммарной длине двух самых длинных, выраженное в процентах. Этот показатель используют для подбора пластинок при идентификации хромосом.

По положению центромеры хромосомы делят на *метацентрические* (приблизительно равноплечие, Ic находится в пределах 37,5—50,0%), *субметацентрические* (плечи разной длины, Ic составляет 25,0—37,4%), *субacroцентрические* (центромера расположена вблизи одного из плеч, Ic равняется 12,5—24,9 %), *acroцентрические* (одно из плеч едва заметно, Ic равняется 0,1 — 12,4 %) и *телоцентрические* (имеется только одно плечо) (рис. 2., табл. 1.).

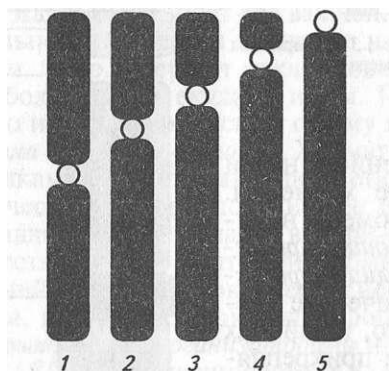


Рис. 2. Типы метафазных хромосом в зависимости от положения центромеры: 1 — метацентрические; 2 — субметацентрические; 3 — субacroцентрические; 4 — акроцентрические; 5 — телоцентрические (схема, Levan, 1968)

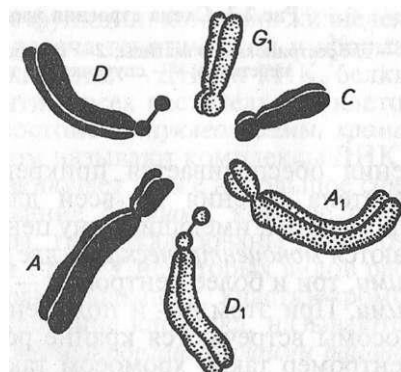


Рис. 3. Диплоидный набор метафазных хромосом в клетке *Crepis capilaris* ($2n=6$). Одинаковыми буквами помечены гомологичные хромосомы. (Лобашов М.Е. Генетика. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1967. - С. 9)

Таблица 1 Формы метафазных хромосом.

№ п/п	Форма хромосомы	Плечевой индекс	Условное обозначение
1.	Метацентрическая	37,5—50,0%	М
2.	Субметацентрическая	25,0—37,4%	S
3.	Акроцентрическая	0,1 — 12,4 %	A
4.	Телоцентрическая	Менее 0,1%	T

При описании хромосом изучаемого кариотипа используют условные обозначения. Длинные хромосомы обозначают буквой L, средние — M, короткие — S. Индексом обозначают тип хромосомы: m — метацентрическая, s — субметацентрическая, а — акроцентрическая. Вторичную перетяжку обозначают буквой c, спутник — t. Цифры перед буквой, обозначающей длину хромосомы, указывают на число сходных хромосом в гаплоидном наборе.

Например, в гаплоидном наборе ржи содержится 3 длинные метацентрические хромосомы, одна длинная метацентрическая со вторичной перетяжкой, одна длинная субметацентрическая, 1 средняя метацентрическая, и 1 средняя субметацентрическая спутничная. Формула кариотипа ржи может быть записана следующим образом: $3Lm + 1Lcm + 1Ls + 1Mm + 1Mts$

Встречаются хромосомы, у которых имеется и вторичная перетяжка. Она, как правило, располагается у дистального (расположенного вдали от центромеры) конца хромосомы и отделяет небольшой участок хромосомы, получивший название спутника. Хромосому, имеющую спутник, называют спутничной (рис. 3, хромосомы D и Di).

Вторичная перетяжка не участвует в движении хромосом при ядерном делении. Вторичные перетяжки получили название *ядрышковых организаторов*, так как в этом месте обычно находятся *ядрышкообразующие области*. Вторичные перетяжки являются кариотаксономическим признаком: их

число и положение специфичны для вида. Концевые участки хромосом называются *теломерными*, они препятствуют деградации, потере внутренних последовательностей и соединению хромосомы друг с другом.

Соматическим клеткам каждого вида растений свойственно строго определенное число хромосом, обозначаемое $2n$ — диплоидное число (см. QR код). В половых клетках число хромосом уменьшено в два раза и равно n — гаплоидное число. В соматических клетках организма каждая из хромосом имеет пару, идентичную как морфологически (см. рис. 3), так и генетически. Такие хромосомы получили название *гомологичных*. Исключение из этого правила составляют половые хромосомы у гетерогаметных растений и животных.



Совокупность хромосом организма в соматических клетках, характеризующаяся числом, формой, размером, величиной и числом спутников, а также распределением эу- и гетерохроматина, называется *кариотипом* (рис. 4). Графическое изображение кариотипа, показывающее его структурные особенности, называется *идиограммой* (рис. 5).

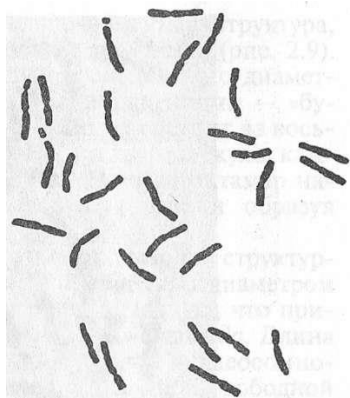


Рис. 4. Хромосомы сорта твердой пшеницы Капелли на стадии метафазы (Giorgi B., 1964)

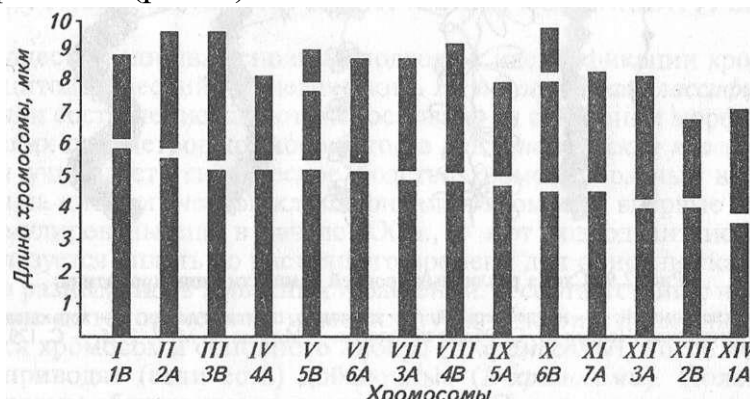


Рис. 5. Идиограмма хромосом сорта твердой пшеницы Капелли (Giorgi B., 1964, с добавлениями)

Выявление распределения эу- и гетерохроматиновых сегментов возможно при использовании методов *дифференциального окрашивания* хромосом. При этом на каждой из хромосом прокрашиваются специфические, характерные только для нее, полосы (*бэнды*). Рисунок основных полос для каждой хромосомы является достаточно постоянным, что значительно облегчает идентификацию хромосом, особенно морфологически одинаковых (рис. 6). Хромосомы, по которым отличаются особи разного пола, получили название *половых хромосом*, а все остальные хромосомы — *аутосом*.

Хромосомы — чрезвычайно сложно организованные компоненты клетки, состоящие на 90 % из комплекса ДНК и гистонов. Особенность строения хромосом зависит от уровня компактизации хроматина, который меняется при переходе от интерфазного состояния хромосом к метафазному. Процесс компактизации хроматина проходит следующие уровни (стадии): 1) нуклеосома; 2) нуклеомер, или соленоид; 3) петельно-доменная структура, включающая хромомеры; 4) хромонема; 5) хроматида (рис. 7). На стадии

нуклеосомы хроматин выглядит как волокно диаметром 10 нм либо как вытянутое волокно с утолщениями — «бусинками» диаметром 10 нм. Каждая из бусинок состоит из восьми молекул гистонов Н2А, Н2В, Н3 и Н4, по две молекулы каждого, и называется нуклеосомным кором. На этот октамер накручивается молекула ДНК, обвиваясь $1\frac{3}{4}$ раза и образуя сверхспираль.

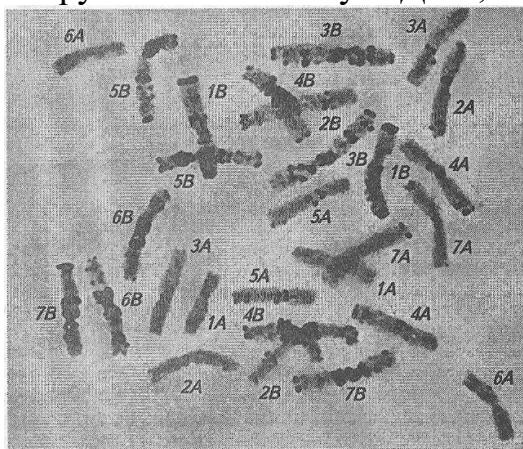


Рис. 6. Дифференциально окрашенные хромосомы *T. durum*

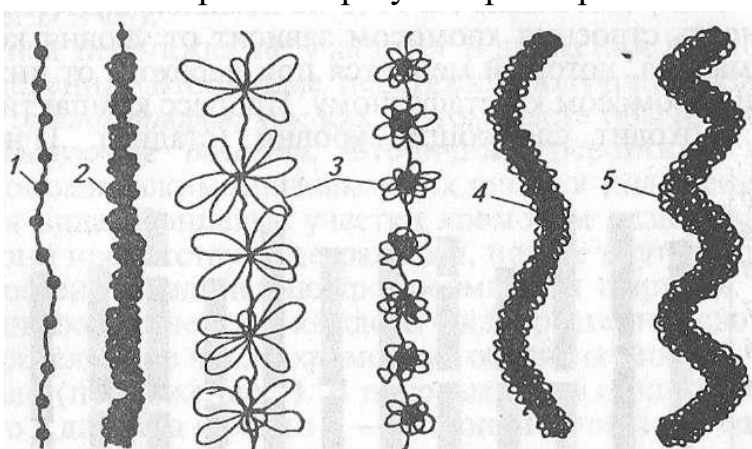


Рис. 7. Схема различных уровней компактизации хроматина: 1 — нуклеосомный; 2 — нуклеомерный; 3 — хромомер, петлевой домен; 4 — хромонема; 5 — хроматид (Ченцов Ю. С. Общая цитология. — М.: Изд-во МГУ, 1995).

В присутствии гистона Н1 в хроматине происходит структурный переход к формированию волокна (фибриллы) диаметром 30 нм, при этом нуклеосомы располагаются вплотную, что приводит к переходу в состояние *нуклеомера*, или *соленида*. Длина волокна уменьшается в 6 раз в сравнении с длиной нуклеосомного волокна и в 40—50 раз по сравнению с исходной свободной ДНК.

В интерфазных ядрах нити хроматина организованы в виде *петель* длиной 50—100 т.п.н. Это следующий уровень компактизации ДНК. Петли называются *хромомерами*, образование которых обусловлено наличием специфических последовательностей нуклеотидов. Сближение хромомер приводит к образованию толстых нитей, которые видны в световой микроскоп, — следующий *хромонемный* уровень конденсации хромосом.

Постепенная конденсация хроматина наблюдается на протяжении всей профазы митоза, достигая максимума к метафазе.

Способы классификации хромосом. Цитологическая и генетическая номенклатуры

Существовали два основных подхода к идентификации хромосом: цитологический и генетический.

Цитологическая классификация, или составление кариотипа, основана на сравнении морфологических параметров хромосом, тогда как *генетическая классификация* учитывает генетическое родство хромосом разных видов. Правила цитологической классификации хромосом впервые были сформулированы еще в начале XX в., и этот подход интенсивно используется

вплоть до настоящего времени для описания кариотипов разных видов животных и растений. В соответствии с принципами цитологической номенклатуры в кариотипах сначала даются хромосомы основного набора (*A-хромосомы*), после которых приводят (если есть) добавочные (*B-хромосомы*). Половые хромосомы обычно ставят после аутосом. Порядок аутосом определяется их линейной длиной: они ранжируются от крупных к мелким. Таким образом, под номером 1 всегда идет самая большая хромосома набора. Нередко в хромосомном наборе индивида встречаются несколько пар хромосом приблизительно одинаковой длины.

В этом случае их распределяют в соответствии с уменьшением центромерного индекса — от метацентрических к акро- и телоцентрическим хромосомам. Если несколько пар хромосом неотличимы друг от друга по морфологическим критериям, их объединяют в общую группу. По этому принципу, в частности, была построена первая стандартная классификация хромосом человека, принятая на Парижской конференции 1967 г. (рис. 8).

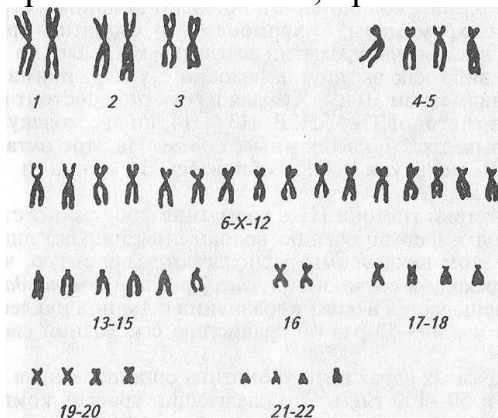


Рис. 8. Кариотип женщины ($2n = 46$, XX), стандартная классификация хромосом

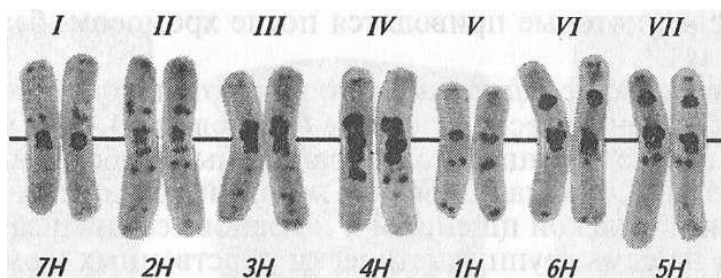


Рис. 9. Сравнение цитологической (римские цифры вверху) и генетической (арабские цифры внизу) классификаций хромосом ячменя

Позже появление методов дифференциального окрашивания хромосом сделало возможным идентификацию всех пар индивидуальных хромосом человека.

В некоторых случаях при составлении кариотипа руководствуются следующими принципами: хромосомы располагают в соответствии с их типом (центромерным индексом) и относительной длиной хромосомы в порядке убывания. Таким образом, сначала идут метацентрические крупные, средние и мелкие, затем субметацентрические и так далее до телоцентрических. Формулу кариотипа записывают, как число хромосом каждого типа.

Другая классификация хромосом растений основана на сходных принципах, однако в ней принято выделять группу спутничных хромосом, которые приводятся после хромосом, без спутников (рис. 9).

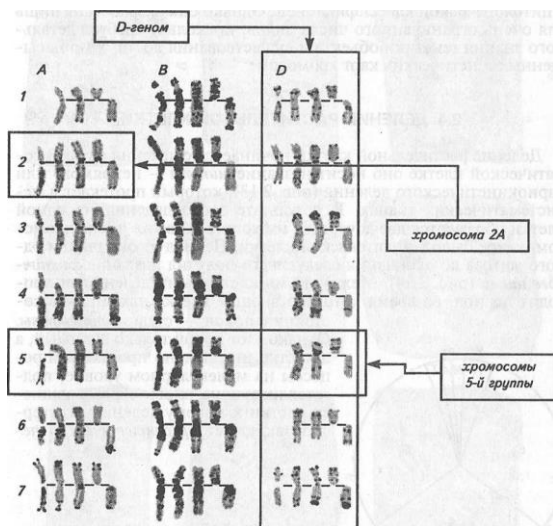


Рис. 10. Генетическая классификация хромосом мягкой пшеницы

Генетическая классификация в отличие от цитологической основывается на генетическом родстве (гомеологии), а не морфологии хромосом. Ее принципы были заложены в работах американского генетика Е. Сирса (E. Sears), который создал серию анеуплоидных линий мягкой пшеницы и на основе ее анализа разделил хромосомы на семь групп генетически родственных (гомеологичных) хромосом. Каждая группа включала три хромосомы, относящиеся к A-, B- и D-геномам (рис. 10).

Впоследствии было установлено, что хромосомы других видов злаков также родственны хромосомам мягкой пшеницы и соответственно могут быть отнесены к одной из гомеологичных групп. Генетическая номенклатура более объективна и обладает рядом преимуществ по сравнению с цитологической классификацией. Однако она разработана лишь для очень ограниченного числа видов, поскольку требует детального знания генетики объекта и существования достаточно насыщенных генетических карт хромосом.

Порядок выполнения задания

1. Пронумеровать хромосомы на микрофотографии кариотипа (карандашом).
2. По порядку номеров, пользуясь миллиметровой бумагой (линейкой) и моделями или микрофотографиями кариотипа, определить длину каждой хромосомы и длину каждого его плеча. Данные занести в таблицу 2.
3. Пользуясь формулами на стр. 4 вычислить относительную длину каждой хромосомы, определить ее плечевой и центромерный индексы.
4. Распределить хромосомы на гомологичные пары, выписав номера парных хромосом.
5. Из хромосом данного кариотипа составить кариограмму. Для этого модели хромосом вырезать и попарно расположить в тетради в порядке возрастания или убывания размеров. Центромеры должны быть расположены точно по одной прямой. Короткое плечо располагают наверху, длинное – внизу. Расположенные в таком порядке модели хромосомы обвести карандашом (приклеить) и пронумеровать.
6. Начертить идиограмму данного хромосомного набора.
7. Составить формулу кариотипа.

Таблица 2 Основные параметры хромосом

Номера п\п	Длина, мм				Плечевой индекс Ib	Центромерный индекс Ic
	длинного плеча	короткого плеча	абсолютная La	относительная, % Lr		

Контрольные вопросы

1. Какие хромосомы называются гомологичными?
2. Какое определение можно дать понятию кариотип?
3. Что называется идиограммой?
4. Какой набор хромосом называется диплоидным? гаплоидным?
5. Начертите схему хромосомы с плечевым индексом, равным 3.
6. Начертите схему хромосомы с центромерным индексом, равным 25%.
7. Объясните, какова судьба хромосомы, потерявшей центромеру?
8. Объясните, чем отличаются между собой эухроматиновые и гетерохроматиновые участки хромосом?
9. По каким параметрам можно идентифицировать хромосому?
10. Дайте определение терминам: хромосома, центромера, теломера, спутник хромосомы, вторичная перетяжка, плечо хромосомы, полицентрическая хромосома, политенная хромосома, метацентрическая хромосома, субметацентрическая хромосома, акроцентрическая хромосома, телоцентрическая хромосома.

Отчетность. Показать преподавателю тетрадь с выполненным заданием, ответить на вопросы.

Библиографический список

- а. Пухальский В.А. Введение в генетику. – М.: КолосС, 2007.-224 с.
- б. Практикум по цитологии и цитогенетике растений / Пухальский В.А. и др. – М. КолосС, 2007. – 198 с.:ил.

ПОДСЧЕТ ЧИСЛА ХРОМОСОМ У РАСТЕНИЙ

1 Цель: Научиться подсчитывать число хромосом у растений, пользуясь временными давленными препаратами корешков.

2 Задание:

2.1 Приготовить временный давленный препарат из корешков растений.

2.2 Подсчитать число хромосом.

2.3 Заполнить таблицу.

3 Материал и оборудование: Фиксированные и окрашенные ацетокармином корешки растений, микроскоп с осветителем, предметные и покровные стекла, рисовальный аппарат или окулярная сетка, фильтровальная бумага, препаровальные иглы, карандаши.

4 Пояснения к заданию

Каждый вид растений и животных характеризуется определенным и постоянным числом хромосом, содержащихся во всех клетках тела организма. Это характерный видовой признак. Число хромосом во всех соматических клетках организма двойное (**диплоидное**), например, у ржи посевной оно равно 14, у овса обыкновенного – 42, у кукурузы – 20 и т.д. Половые клетки имеют гаплоидный набор хромосом. Любое изменение числа хромосом является мутацией и, как правило, обуславливает изменение признаков и свойств организма. Вместе с тем некоторые дифференцированные клетки одного и того же растения имеют различное число хромосом, поэтому подсчет хромосом следует проводить на меристематических клетках. Подсчет числа хромосом позволяет определить ploидность растения – гаплоидное, диплоидное, триплоидное и т.д., что очень важно для селекции и семеноводства многих полиплоидных культур. Он необходим также при работе с отдаленными гибридами и аллополиплоидами. Исследование кариотипов имеет большое значение в систематике, при установлении взаимоотношений изучаемого вида с другими, т.е. эволюции этого вида. Изучая морфологию хромосом, можно распознать хромосомные комплексы одних видов в составе других, более сложных полиплоидных наборов. Помимо хромосом основного набора, у растений встречаются добавочные, или В-хромосомы, которые обнаружены у 720 видов. Впервые их наблюдали у ржи и кукурузы. Число добавочных хромосом варьирует от одной-двух до превосходящего нормальный набор. В-хромосомы мельче хромосом нормального набора. Считают, что В-хромосомы образуются от основного набора путем перестроек. Их присутствие увеличивает генетическую вариабильность популяций.

Удобнее всего подсчитать число хромосом в клетках молодых корешков длиной не более 1-2 см. Корешки перед фиксацией должны быть подвергнуты действию пониженной температуры, либо обработаны водным раствором колхицина или 8-оксихинолина. Под действием этих веществ хромосомы, находящиеся в метафазе митоза, несколько укорачиваются и рассредотачиваются в цитоплазме, что значительно облегчает их подсчет.

5 Выполнение задания:

1. Приготовить давленный препарат корешков растений.
2. Приготовленный препарат поместить на предметный столик микроскопа и найти хорошие метафазные пластинки.
3. Пользуясь рисовальным аппаратом или окулярной сеткой при объективе 90х и окуляре 15х тщательно зарисовать каждую хромосому на метафазной пластинке.
4. Убедившись в точности рисунка, подсчитать хромосомы. Для установления точного числа хромосом необходимо подсчитать их на 5-10 метафазных пластинках каждого препарата.
5. Записать в таблице число хромосом в соматических и половых клетках у нижеперечисленных растений: пшеница однозернянка, пшеница твердая, пшеница мягкая, рожь посевная, ячмень посевной, овес обыкновенный, кукуруза, просо обыкновенное, рис посевной, гречиха обыкновенная, горох посевной, фасоль обыкновенная, соя, картофель, свекла сахарная, капуста кочанная, томат, огурец, лук.

Таблица. Число хромосом у некоторых видов растений.

№п\п	Наименование растений	Число хромосом соматической клетки	Число хромосом гаметы
1.	Пшеница однозернянка		

МИТОТИЧЕСКОЕ ДЕЛЕНИЕ КЛЕТКИ

1 Цель занятия: Изучение митотического деления клетки.

Задания

1. Ознакомиться с процессом митоза по пояснению к теме. Рассмотреть рисунки 1-3.

2. Приготовить временные давленные препараты корешков растений. Найти на них все фазы митоза, рассмотреть и зарисовать. Рисунки снабдить комментариями стадий митоза на микропрепарате (см. порядок работы на стр. 7) (можно рассматривать на постоянном препарате, без приготовления временных давленных препаратов)

3. Начертить в рабочей тетради схему митоза для клетки $2n=6$

4. Ответить на вопросы для самопроверки

Материалы и оборудование: Методические указания по теме, микроскопы с осветителями, рисовальный аппарат, окрашенные корешки растений, пинцеты, препаровальные иглы, предметные и покровные стекла, спиртовки, фильтровальная бумага, 40 % раствор сахарозы, 45% раствор уксусной кислоты, глицерин.

Пояснение к теме

Деление растительной клетки начинается с деления ядра. В соматической клетке оно носит название *митоза* — непрямого или кариокинетического деления (рис. 1), который протекает в меристематических тканях. В результате этого деления из одной клетки образуются две дочерние, имеющие такое же число хромосом, какое было у родительской клетки. Период от окончания одного митоза до окончания следующего получил название *клеточного цикла* (рис. 1). Между двумя клеточными делениями проходит период, во время которого внешне клетка находится в состоянии покоя — стадия *интерфазы*. Однако этот покой только видимый, а в клетке интенсивно протекают процессы на

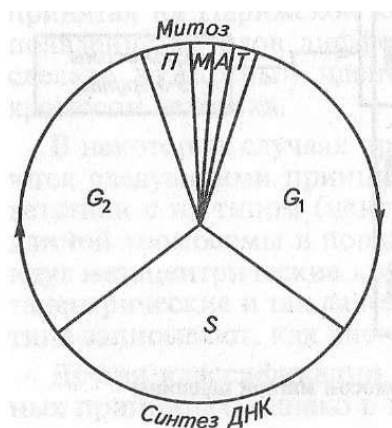


Рис. 1. Клеточный цикл:

G_1 — пресинтетический период;

S — синтетический период;

G_2 — постсинтетический период;

П — профаза; М — метафаза;

А — анафаза; Т — телофаза

молекулярном уровне, подготавливающие вновь образовавшиеся клетки к новому делению. Интерфаза включает *пресинтетический период* (G_1), *синтетический период* (S), *постсинтетический период* (G_2).

В период G_1 продолжается рост клеток, синтезируются специфические белки и нуклеотиды, необходимые для синтеза ДНК.

Период S характеризуется синтезом ДНК (ее количество в клетке удваивается) и гистонов. Удвоение содержания ДНК связано с репликацией

хромосом. В конце этого периода каждая из хромосом состоит из двух хроматид.

Период G_2 характеризуется накоплением веществ и энергии, необходимых для протекания митоза. В этот период начинаются процессы конденсации хромосом. Перед расхождением в дочерние клетки хромосомы постепенно переходят в метаболически неактивное состояние.

Продолжительность клеточного цикла очень сильно варьирует в зависимости от ткани, вида растения и внешних условий. Например, по данным К. Свенсона и П. Уэбстера, в кончиках боковых корешков конских бобов (*Vicia faba*) средняя продолжительность клеточного цикла в меристематических клетках при 22°C составила 14 ч: период G_1 занимал 2,5 ч, период S —6 ч, период (G_2 —3,5 ч и собственно митоз продолжался 2 ч. Внутри клеточного цикла наиболее сильно варьирует продолжительность периода G_1 , который может практически отсутствовать в активно делящихся клетках или казаться практически постоянным в случае специализированных тканей. В случае последних часто используют характеристику G_0 , т. е. неактивной фазы G_1 .

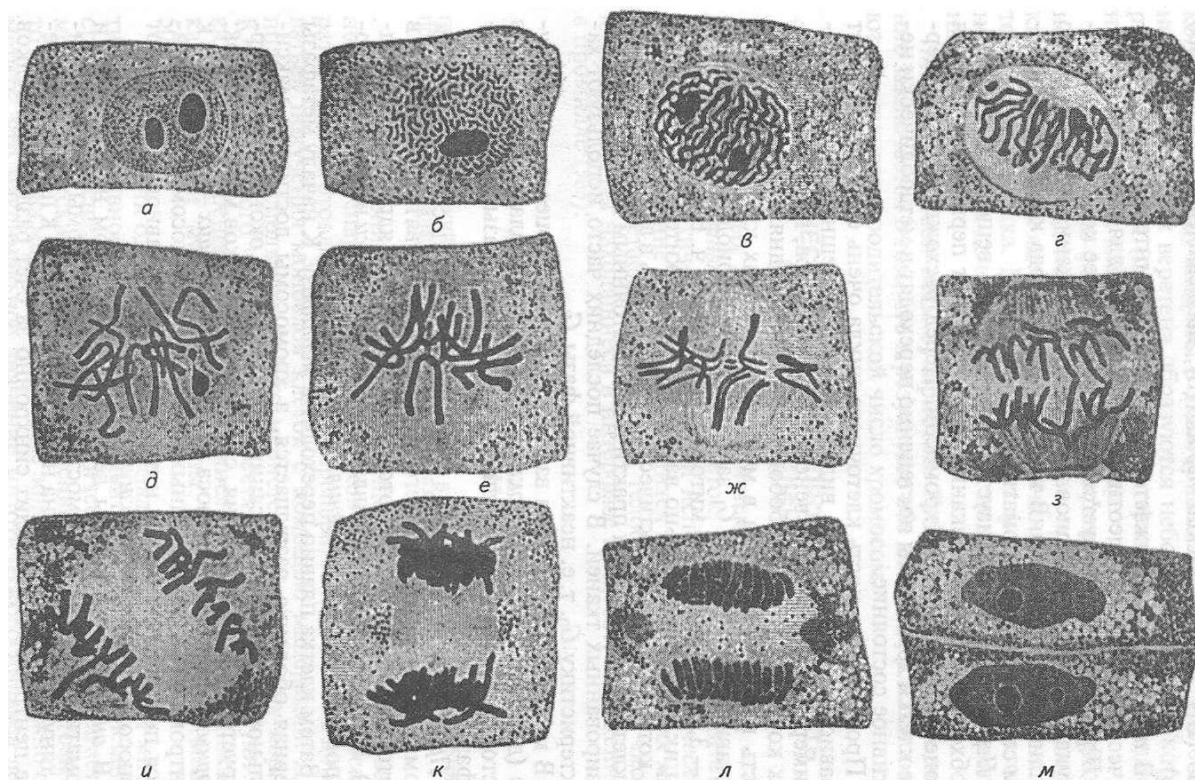


Рис. 2. Митоз в клетках корешка лука:

а — интерфаза; б, в, з — профаза; д, е, ж — метафаза; з, и — анафаза; к, л — телофаза; м — цитокinesis (Белару, из: Baur E. Einführung in die Vererbungslehre. Berlin, 1930. — P. 151)

В митозе выделяют два взаимосвязанных процесса — *кариокinesis* (деление ядра) и *цитокinesis* (деление цитоплазмы). Митоз состоит из следующих стадий: профаза, метафаза, анафаза и телофаза (см. рис. 2 и 3).

Профаза характеризуется продолжением процесса конденсации хроматина, в результате чего хромосомы становятся видимыми в световой микроскоп. На этой стадии исчезает ядрышко (ядрышки). В конце профазы появляются *микротрубочки* и начинает формироваться *веретено деления*.

Затем клетка плавно переходит в *метафазу*. К началу метафазы ядерная оболочка разрушается, а хромосомы достигают максимального уровня конденсации. В то же время окончательно формируется веретено деления, состоящее из пучков микротрубочек: *опорных* — идущих от полюса к полюсу, и *тянущих* — от полюсов к центромерам дихроматидных хромосом. Хромосомы выстраиваются перпендикулярно к нитям веретена на равном удалении от полюсов, образуя *метафазную пластинку*.

В *анафазе* центромеры делятся в продольном направлении и хроматиды (теперь это самостоятельные хромосомы) под действием тянущих нитей веретена начинают движение к полюсам. Деление центромер происходит синхронно за счет разделения белков когезинов. К концу анафазы в экваториальной плоскости клетки на опорных нитях веретена образуются небольшие узелки, которые в дальнейшем (по завершению телофазы) сливаются и дают начало первичной клеточной перегородке.

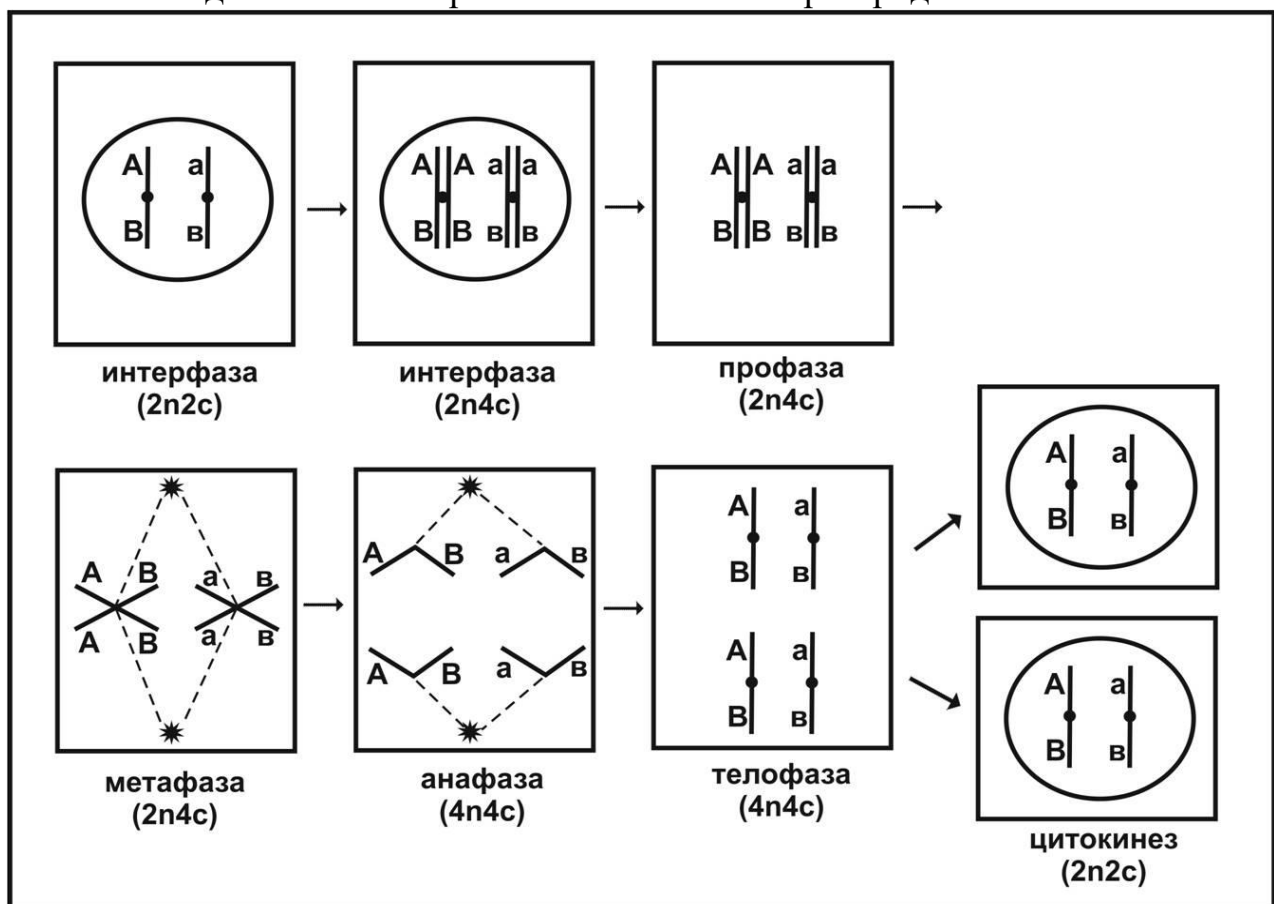


Рис. 3. Схема митоза

Заключительная фаза митоза — *телофаза*. Во время этой фазы начинается деконденсация хромосом, восстанавливаются ядрышки и формируется ядерная оболочка, начинает закладываться клеточная

перегородка. Митоз завершается формированием клеточной стенки, а два дочерних ядра в двух новых клетках вступают в интерфазу.

Митоз свойствен всем эукариотам. Его биологическое значение заключается в том, что в результате обе дочерние клетки имеют одинаковое с родительской число хромосом.

Митотический индекс и продолжительность клеточного деления

Один из важных показателей меристематической ткани — ее *митотическая активность* — доля клеток, находящихся в митозе. Для оценки митотической активности используют *митотический индекс* — отношение клеток, находящихся на разных стадиях митоза (профазы, метафазы, анафазы и телофазы) к общему числу клеток, включая находящиеся в интерфазе и митозе, выраженное в промилле (‰):

$$MI = \frac{П+М+А+Т}{(П + М+А+Т)+И} * 100‰$$

где MI — митотический индекс, П, М, А, Т, И — соответственно число клеток в профазе, метафазе, анафазе, телофазе и интерфазе.

Для определения митотического индекса можно использовать постоянные препараты срезов корешков либо временные препараты. При изготовлении временных препаратов необходимо добиваться получения монослоя клеток с помощью мацерации. Для подсчета MI используют только меристематическую зону корня. Клетки корневого чехлика и зоны растяжения не используют. В каждом поле зрения подсчитывают число клеток, находящихся в каждой стадии митоза и интерфазы. Анализируют не менее 500 клеток.

Разные ткани одного организма обладают неодинаковой митотической активностью, которая зависит и от условий внешней среды. Наивысшего значения митотический индекс достигает в меристематических тканях, где интенсивно происходят митозы. В то же время, рассматривая отдельные зоны меристемы, можно отметить, что максимальное значение митотического индекса достигается в периферической зоне, а в центральной и подстилающей зонах митотический индекс будет ниже.

Продолжительность клеточного цикла, митоза и его отдельных фаз можно определить различными способами. Среди них — определение относительной продолжительности фаз митоза по доле клеток, находящихся в данной стадии, при расчете митотического индекса. Среди методов, позволяющих определить время прохождения отдельных фаз клеточного цикла, — методы, основанные на использовании цитостатиков — веществ, влияющих на прохождение клеточного деления, среди которых наибольшее распространение имеет колхицин, а также кофеин, монобромнафталин, оксимочевина и др. Продолжительности клеточного цикла можно определить и с использованием радиоактивных меток. При определении продолжительности клеточного цикла, как и при подсчете митотического индекса, следует учитывать, что на скорость прохождения фаз влияют тип ткани (ее

митотическая активность), а также условия среды, в которых происходит деление клеток.

Помимо митоза имеют место еще **три типа деления ядра соматических клеток**: амитоз, эндомитоз и политения.

Амитоз — это прямое деление ядра, при котором оно делится перетяжкой на две части. Затем происходит разделение цитоплазмы клетки и возникает клеточная перегородка. Амитотическое деление приводит к неравномерному распределению ДНК в дочерних клетках. Амитоз, как правило, свойствен клеткам высокополиплоидных дифференцированных тканей, таких, как клетки стенок завязи, крахмалообразующие клетки клубней картофеля, клетки перисперма и др.

Эндомитоз. При этом типе деления (рис. 4) ядерная оболочка не распадается. Удвоение хромосом, как и при митозе, происходит во время предшествующей интерфазы. Процесс удвоения проходит неоднократно, поэтому число хромосом в ядре и размеры самого ядра увеличиваются. Эндомитоз впервые был обнаружен в клетках тапетума шпината (*Spinacia sativa*), а затем в антиподах семейств астровых (Asteraceae) и лютиковых (Ranunculaceae). При эндомитозе хромосомы проходят те же стадии, что и при нормальном митозе. Встречаются два типа этого деления, отличающиеся тем, что в одном случае хроматиды в эндоанафазе расходятся, а в другом — нет. Последний приводит к политению.

Политения. Ее можно рассматривать как частный случай эндомитоза. При политении образуются гигантские хромосомы за счет многократной редупликации хроматид без разделения центромеры. При этом степень конденсации хроматид меньше, чем у митотических хромосом. Хроматиды плотно прилегают друг к другу, и хромомеры многочисленных хроматид образуют поперечные *диски* и *пуффы*. Впервые *политенные хромосомы* были обнаружены в слюнных железах личинки комара, а затем и в ядрах эндосперма, синергид и антипод представителей различных семейств растений.

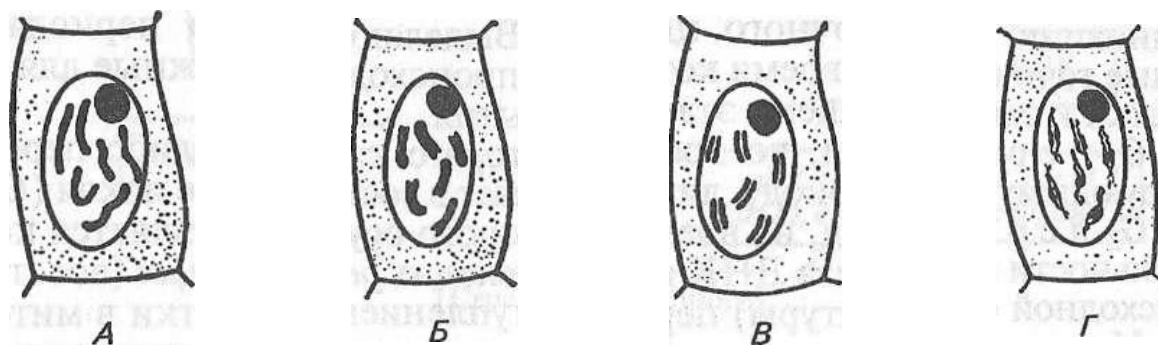


Рис. 4. Схема эндомитоза в клетках тапетума *Spinacia oleraceai*

А — эндопрофаза; *Б* — эндометафаза; *В* — эндоанафаза; *Г* — эндотелофаза (Уткус, из: Атабекова А. И., Устинова Е. И. Цитология растений. — М.: Колос, 1971. — С. 90)

Порядок выполнения задания

Фазы митотического деления можно хорошо рассмотреть на временных давленных препаратах корешков растений (при наличии постоянных препаратов, можно рассматривать на них, без приготовления временных). Корешки растений длиной не более 1-2 см предварительно фиксируют в фиксаторе Карнуа (абсолютный спирт : ледяная уксусная кислота в отношении 3 : 1) и хранятся в 70% - ном спирте. Корешки окрашиваются ацетокармином, приготовленным в 45% уксусной кислоте. Перед приготовлением препарата корешки мацерируют кипячением в 45% уксусной кислоте.

Порядок приготовления препарата:

1. На предметное стекло нанести каплю 40% раствора сахарозы или глицерина.
2. Пинцетом взять корешок и положить его на предметное стекло в каплю сахарозы или глицерина.
3. Накрывать корешок покровным стеклом и слегка подавить концом спички или черешком препаровальной иглы.
4. Положить на покровное стекло кусочек фильтровальной бумаги.
5. Круговыми движениями черешка препаровальной иглы или спичкой осторожно раздавить препарат, стараясь распределить клетки одновременно в один слой. Покровное стекло при этом не должно смещаться. В хорошо приготовленном препарате покровное стекло плотно прилегает к предметному. Пузырьки воздуха отсутствуют.
6. Приготовленный препарат поместить на предметный столик микроскопа, установить объектив $8\times$ и приступить к отысканию делящихся клеток.
7. Рассмотреть делящиеся клетки при увеличении $40\times$, $90\times$. Зарисовать стадии митоза. Рисунки снабдить комментариями.

Контрольные вопросы

1. Что называется клеточным циклом?
2. На какой стадии митоза происходит репликация ДНК?
3. В чем заключается генетическое значение митоза?
4. В какой фазе митоза происходит деление центромер?
5. Если $2n = 14$, то какое количество хроматид будет иметь клетка в профазе митоза?
6. Какие 2 стадии митоза противоположны по протекающим в них процессам?
7. В результате действия колхицина в течение одного митотического деления получены клетки ржи с 28 хромосомами. Каково гаплоидное число хромосом у ржи?
8. В чем разница между понятиями клеточный цикл и митоз?
9. Почему в интерфазе не видны хромосомы в световом микроскопе?
10. Какие возникают в процессе митоза дочерние клетки, генетически идентичные или разнокачественные? Пояснить.

11. Какие процессы в организме обуславливаются митотическим делением клеток?
12. В основе какого размножения лежит митоз?
13. Где в практике сельского хозяйства используется основное свойство митоза – генетическая идентичность наследственности исходных форм и потомства?
14. Как называется потомство одного вегетативно размноженного растения?
15. Каким размножением можно сохранить у перекрестно опыляющихся растений наследственную основу и гетерозисный эффект у гибридов?
16. В какой период интерфазы происходит удвоение генетического материала клетки?
17. В какой фазе митоза происходит деление центромер?
18. Сколько дочерних хромосом содержится в анафазе в клетках лука? (см. QR код)
19. В какой фазе митоза хромосомы уже состоят из двух хроматид?
20. В какой фазе митоза заканчивается деспирализация сестринских хромосом?
21. Сколько хроматид содержится в метафазе в клетках ячменя?
22. В какой период митотического цикла происходит репликация молекул ДНК?
23. В какой фазе митоза хроматиды расходятся по полюсам клетки?
24. В какой фазе митоза начинается разделение цитоплазмы и ее органоидов между дочерними, клетками?
25. Сколько сестринских хромосом содержится в клетках ржи в анафазе?
26. В начале какой фазы митоза начинается спирализация хроматиновых нитей?
27. В какой фазе митоза хромосомы имеют наиболее четко выраженное морфологическое строение?
28. В какой фазе митоза начинает формироваться клеточная оболочка?
29. Сколько сестринских хромосом содержится в одном ядре в телофазе митоза у кормовых бобов?
30. В начале какой фазы митоза хроматиды начинают расходиться по полюсам клетки?
31. В какой фазе митоза тянущие нити веретена прикрепляются к центромерам хромосом?
32. Сколько хромосом содержится в метафазных клетках кукурузы?
33. В какой фазе митоза происходит фрагментация ядерной оболочки и исчезновение ядрышка?
34. В какой фазе митоза центромеры хромосом располагаются по экватору клетки?
35. Сколько хроматид начинают расходиться к полюсам клетки в анафазе митоза у огурца?



36. Сколько сестринских хромосом содержится в анафазе митоза в клетке меристемы сахарной свеклы?
37. В начале какого периода интерфазы в ядре клетки уже содержится удвоенная генетическая информация?
38. Сколько хромосом содержится в метафазе в одной клетке у гречихи обыкновенной?
39. В меристеме корешка лука содержится 2485 клеток, в том числе 26 - в профазе, 8 - в метафазе, в анафазе, 12 - в телофазе. Определите митотический индекс.
40. В меристеме корешка ячменя содержится 854 клетки, в том числе в профазе 14, в метафазе - 3, в анафазе - 5, в телофазе - 6. Определите митотический индекс.
41. У ржи в меристеме конуса нарастания содержится 3676 клеток, в том числе 68 - в профазе, 18 - в метафазе, 23 - в анафазе, 42 - в телофазе. Определите митотический индекс.
42. В зоне меристемы зародышевого корешка кормовых бобов содержится 936 клеток, в том числе в профазе, 4 - в метафазе, 7 - в анафазе, 9 - в телофазе. Определите митотический индекс.
43. У кукурузы в меристеме конуса нарастания содержится 3744 клетки, в том числе 20 - в профазе, 7 в метафазе, 10 - в анафазе. 14 - в телофазе. Определите митотический индекс.
44. Дайте определения следующим терминам: митоз, амитоз, к-митоз, хроматида, хромосома, хроматиновая нить, интерфаза, профаза, метафаза, анафаза, телофаза, цитокинез, вегетативное размножение, гетерозисный эффект, кариокинез, ядрышко, ахроматиновое веретено, центромера, эндомитоз, полиплоидия, колхицин.

Отчетность Показать преподавателю тетрадь с выполненным заданием. Ответить на предложенные вопросы.

Библиографический список

- с. Пухальский В.А. Введение в генетику. – М.: КолосС, 2007.-224 с.
Практикум по цитологии и цитогенетике растений / Пухальский В.А. и др. – М. КолосС, 2007. – 198 с.:ил.

МЕЙОТИЧЕСКОЕ ДЕЛЕНИЕ КЛЕТКИ

Цель занятия: изучение мейотического деления клетки.

Задания 1. Изучите мейотическое деление клетки по пояснению к теме, зарисуйте схему мейоза в рабочую тетрадь (рис. 1). Просмотрите фильм (QR код) по теме «Мейоз».

2. Изучите типы кроссинговера (рис. 2). Зарисуйте схему двойного кроссинговера между двумя хроматидами.

3. Рассмотрите и зарисуйте все фазы мейоза в пыльниках растений на постоянном препарате с помощью микроскопа

4. Ответьте на вопросы для самопроверки

Материал и оборудование: Методические указания; постоянный препарат из пыльников растений; микроскоп.

Пояснение к теме



Мейоз - особый тип деления, протекающий в археспориальных клетках пыльников и семязачек. Он предшествует образованию гамет. В процессе мейоза число хромосом в клетке уменьшается вдвое и становится гаплоидным. Мейоз состоит из двух последовательных делений. **Первое** деление - редукционное, в результате образуется клетка с гаплоидным набором хромосом. Второе деление проходит по типу митоза. Каждое деление состоит из 4х фаз: **профаза, метафаза, анафаза, телофаза**. Фазы первого деления обозначаются римской цифрой **I**, второго - цифрой **II**. Делению предшествует **интерфаза**, во время которого происходит репликация ДНК. В результате первого деления образуются две клетки с гаплоидным набором хромосом. В результате 2-го деления образуются 4 клетки с гаплоидным набором хромосом.

Профаза I протекает наиболее сложно, ее принято подразделять на 5 этапов: лептотена, зиготена, пахитена, диплотена, диакинез.

Лептотена (стадия тонких нитей). На этой стадии появляются гонки перекрученные нити хромосом.

Зиготена. В этой фазе гомологичные хромосомы объединяются в пары происходит **конъюгация гомологичных хромосом**. Конъюгация обычно начинается с концов и распространяется вдоль гомологичных хромосом, соединяющихся строго идентичными участками. Такое соединение возможно за счет образования между гомологичными хромосомами белкового **синаптонемного комплекса**. Ультраструктура, названная синаптонемным комплексом, была открыта в 1956 году Мозесом. В электронном микроскопе она имеет вид трехслойной ленты, состоящей из центрального и двух боковых элементов.

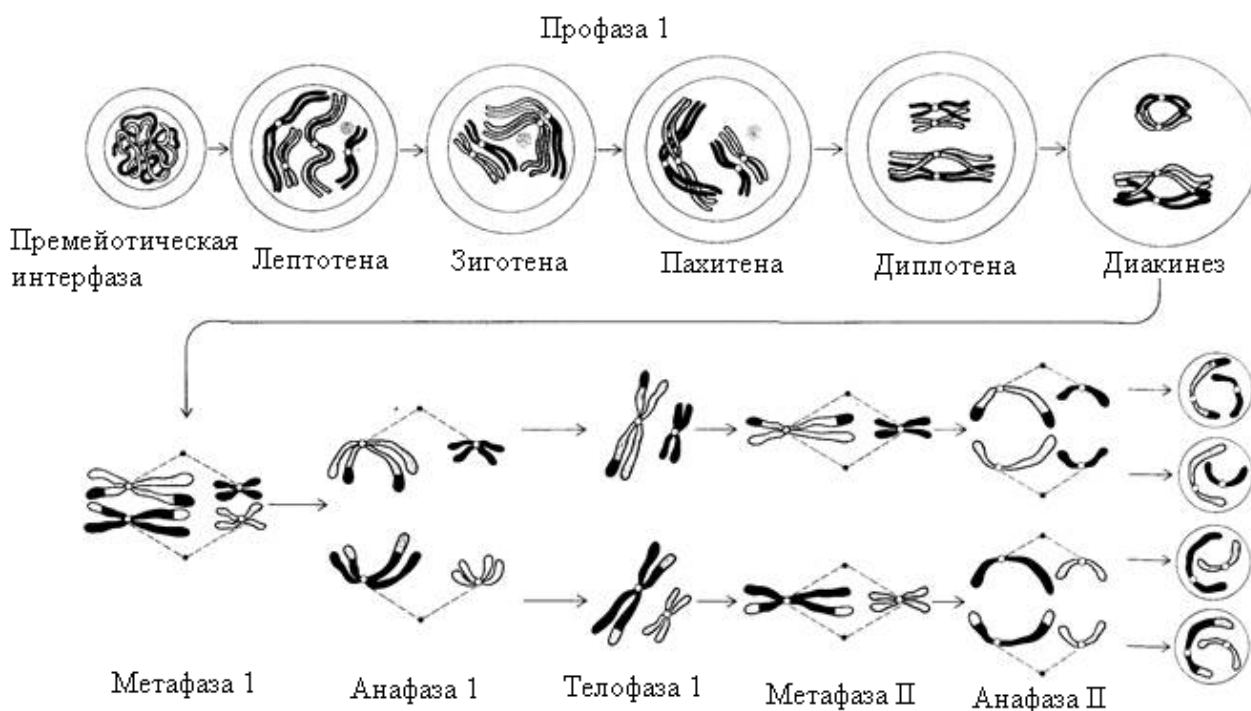


Рис. 1. Схема мейоза

Пахитена (стадия толстых нитей). Гомологичные пары хромосом, конъюгировавшие друг с другом, представляют собой **биваленты**, каждый из которых состоит из 4х хроматид. В процессе конъюгации за счет работы ферментов синаптонемного комплекса возможен обмен участками между гомологичными хромосомами - **кроссинговер**. Это приводит к рекомбинации хроматид, каждая из которых в этом случае будет иметь часть генов от материнской хромосомы, часть - от отцовской, что приводит к увеличению генетического разнообразия образующихся в дальнейшем гамет. В конце пахитены синаптонемный комплекс распадается и кроссинговер заканчивается. Биваленты укорачиваются и утолщаются вследствие спирализации.

Диплотена. Наиболее четко видна структура бивалентов и составляющие каждый из них четыре хроматиды. На этой стадии начинается отталкивание гомологов, и становятся различимыми фигуры, напоминающие греческую букву χ называемые **хиазмы**, которые свидетельствуют о произошедшем кроссинговере. Сестринские хроматиды остаются соединенными общей центромерой.

В **диакинезе** спирализация хромосом усиливается, хиазмы соскальзывают к концам хроматид (терминализация хиазм), число хиазм уменьшается, биваленты располагаются по периферии ядра. Так заканчивается профаза I. Вслед за этим исчезают ядерная оболочка, ядрышко и начинается перемещение бивалентов в экваториальную плоскость клетки.

Метафаза I. Появляется веретено деления и каждый бивалент располагается в экваториальной плоскости клетки. Бивалент имеет две центромеры, они устанавливаются симметрично по отношению к

экваториальной плоскости и направлены к разным полюсам. Центромерами хромосомы прикрепляются к веретену деления.

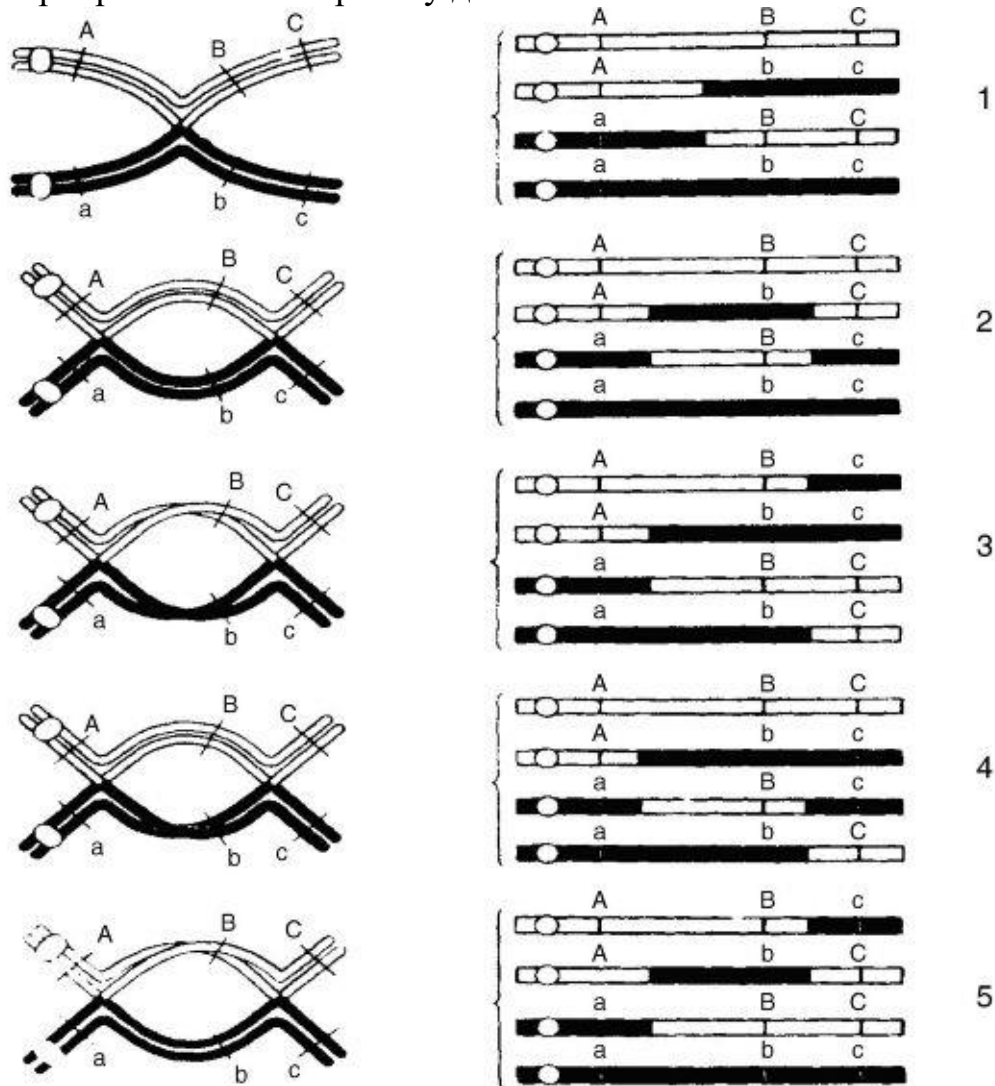


Рис. 2. Схематическое изображение различных типов кроссинговера: 1 – одиночный кроссинг-овер между двумя хроматидами; 2 – двойной кроссинг-овер между двумя хроматидами; 3 - двойной кроссинг-овер между четырьмя хроматидами; 4, 5 – двойной кроссинг-овер между тремя хроматидами; A, B, C – доминантные аллели; a, b, c – рецессивные аллели соответствующего гена

Анафаза I. Гомологичные хромосомы, каждая из которых состоит из 2х хроматид расходятся к разным полюсам клетки. В результате на каждом полюсе клетки оказывается гаплоидное число двуххроматидных хромосом.

Телофаза I. Хромосомы концентрируются на полюсах клетки и деспирализуются. На полюсах формируются ядра, нити веретена исчезают. На экваторе клетки формируется оболочка (происходит цитокинез). В результате первого деления мейоза образуются две клетки (**диада**) с гаплоидным числом хромосом. После короткого интеркинеза наступает второе деление мейоза: каждая из клеток диады делится по типу митоза: в метафазе II в экваториальной плоскости располагаются отдельные хромосомы, которые в анафазе делятся на две хроматиды и расходятся по полюсам клетки, за счет

сокращения ахроматиновых нитей, соединенных с центромерами хромосом. В телофазе II делится цитоплазма и восстанавливается ядро. В результате образуются 4 клетки (тетрада) с гаплоидным набором хромосом.

У многих видов растений в телофазе I деспирализации хромосом и образования ядерной оболочки не происходит. Телофаза I в таком случае является переходной фазой II делению мейоза. Первый тип деления называется **сукцессивным** (последовательным), второй тип - **симультанным** (одновременным).

Таким образом, в мейозе совершаются следующие процессы, имеющие важное значение в наследовании признаков: 1) редукция (уменьшение вдвое) числа хромосом; 2) *расхождение* гомологичных хромосом в разные дочерние клетки; 3) конъюгация гомологичных хромосом и, как возможный результат, кроссинговер.

Мейоз предшествует образованию гамет. Если он происходит в пыльниках тычинок растений, то процесс называется **микроспорогенезом** и образующаяся тетрада клеток - **микроспоры**. Некоторое время после мейоза тетрада микроспор лежат вместе, покрытые общей оболочкой. После растворения общей оболочки у каждой микроспоры образуется собственная оболочка. С этого времени микроспору называют пыльцевым зерном. Пыльцевое зерно покрывается двумя оболочками - внешней (экзина) и внутренняя (интина). Если мейоз происходит в семязачатках пестика, то процесс называется **макро- или мегаспорогенезом**, а образующаяся тетрада клеток - **макро- или мегаспорами**.

Порядок выполнения задания:

Изучить мейоз можно на давленных препаратах пыльников любого растения. Пыльники фиксируют в то время, когда в них происходит микроспорогенез: у ржи – за 5-7 дней до колошения, у кукурузы – 4-8 дней до выметывания метелки, у других растений – в период бутонизации. Соцветия фиксируют целиком в измененном фиксаторе Карнуа в течение 6 – 12 часов. Далее соцветия промывают в 70% спирте и хранят их в спирте такой же концентрации. Перед проведением занятий пыльники окрашивают ацетокармином. Для этого пыльники, извлеченные с помощью пинцета из соцветия, помещают в бюкс с красителем на 12 – 24 часа.

При наличии постоянного препарата из пыльников растений фазы мейоза рассматривают на них. В это случае выполняются только п.6 и 7 (см. ниже).

Ход работы:

1. Окрашенный пыльник пинцетом перенести на предметное стекло.
2. Раздавить пыльник стеклянной палочкой и удалить стенки. На предметном стекле получается мазок окрашенных микроспороцитов.
3. На мазок нанести 1 – 2 капли 45% уксусной кислоты и через 1 – 2 минуты удалить кислоту фильтровальной бумагой.
4. На мазок нанести каплю 40% раствора сахарозы или глицерина.

5. Накрыть препарат покровным стеклом и нажатием кончика спички удалить излишек сахарозы.
6. Препарат внимательно изучить под микроскопом.
7. Зарисовать рассмотренные фазы мейоза. Рисунки снабдить комментариями.

Вопросы для самопроверки

1. В какой стадии мейоза происходит конъюгация хромосом?
2. В какой фазе мейоза хромосомы располагаются по экватору клетки?
3. Сколько хромосом содержит микроспора овса? (см. QR код на стр. 8)
4. Сколько хроматид содержится у овса в метафазе I?
5. Сколько разных типов гамет может образоваться у овса в результате случайного независимого сочетания материнских и отцовских хромосом (укажите показатель степени)?
6. В какой фазе мейоза хромосомы уже состоят из двух хроматид?
7. Когда образуются биваленты?
8. Сколько хромосом содержится в одной микроспоре у томата?
9. Сколько разных типов гамет может образоваться у томата в результате случайного независимого сочетания материнских и отцовских хромосом (укажите показатель степени)?
10. В какой фазе мейоза происходит кроссинговер?
11. Когда начинается образование хиазм?
12. Сколько хроматид содержится в метафазе-1 у риса?
13. Сколько хромосом содержится в каждой клетке диады у овса?
14. В какой фазе мейоза биваленты располагаются на экваторе клетки?
15. В какой фазе мейоза образуется синаптонемальный комплекс?
16. Сколько хроматид содержится в одном биваленте у твердой пшеницы?
17. Сколько максимально, возможных материнских хромосом может содержаться в микроспоре клевера красного?
18. Когда хромосомы состоят из двух хроматид и имеют вид длинных тонких нитей?
19. Когда начинается отталкивание хромосом в биваленте?
20. Сколько хромосом содержит одна макроспора культурного картофеля?
21. В какой фазе мейоза образуется диада клеток?
22. Когда биваленты располагаются по периферии ядра?
23. В какой фазе мейоза хроматиды начинают расходиться к полюсам?
24. Сколько максимально возможных отцовских хромосом может содержать макроспора моркови?
25. Сколько сестринских хромосом содержится в одной клетке диады в анафазе-2 у мягкой пшеницы?
26. В какой фазе мейоза происходит деспирализация хроматид?
27. Предположим, что в анафазе-1 мейоза у сахарной свеклы к одному полюсу отошли две материнские хромосомы. Сколько будет отцовских хромосом в микроспоре?

28. Сколько разных типов гамет может образоваться в результате случайного независимого расхождения гомологичных хромосом у арбуза?

29. Начертите схему двойного кроссинговера между четырьмя хроматидами.

30. В какой фазе мейоза происходит случайное независимое расхождение хромосом по полюсам?

31. Предположим, что во время мейоза у кукурузы произошло нерасхождение хромосом одного из бивалентов. С какими наборами хромосом образуются в таком случае половые клетки?

32. Предположим, что во время мейоза у ржи произошло нерасхождение хроматид у одной из хромосом. С какими наборами хромосом образуются клетки тетрады?

33. Дайте определения следующим терминам: макроспора, микроспора, сукцессивное деление, симультанное деление, диада, тетрада, интеркинез, диакинез, хиазма, терминализация хиазм, бивалент, зиготена, диакинез, лептотена, пахитена, кроссинговер, синаптонемный комплекс, гомологичные хромосомы, редукционное деление, эквационное деление.

34. Пройдите онлайн тестирование по ссылке QR код



Число хромосом у основных видов культурных растений



Отчетность. Показать преподавателю тетрадь с выполненными заданиями и выводом по результатам лабораторной работы. Ответить на предложенные вопросы.

Библиографический список

1. Пухальский В.А. Введение в генетику. – М.: КолосС, 2007. – 224 с.
2. Никольский В.И. Генетика / В.И. Никольский. – М.: Издательский центр «Академия», 2010. – 256 с.
3. Практикум по цитологии и цитогенетике растений / Пухальский В.А., Соловьев А.А., Бадаева Е.Д., Юрцев В.Н. – М.: КолосС, 2007. – 198 с.
4. Генетика / А.А. Жученко, Ю.Л. Гужов и др.; М.: КолосС, 2003. – 480.
5. Абрамова З.В. Практикум по генетике. – М.: Агропромиздат, 1992. – 224 с.

ГАМЕТОГЕНЕЗ И ДВОЙНОЕ ОПОЛОДОТВОРЕНИЕ У ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Цель занятия: Изучить микро- и макрогаметогенез и двойное оплодотворение у покрытосеменных растений.

Задание: 1 Начертить схему микроспорогенеза и микрогаметогенеза растений. Схему снабдить комментариями. 2 Начертить схему макроспорогенеза и макрогаметогенеза у растений, снабдить комментариями. 3 Начертить схему двойного оплодотворения у растений, снабдить комментариями. 4 Ответить на вопросы для самоконтроля.

Оборудование: Планшеты «Микроспорогенез и микрогаметогенез», «Макроспорогенез и макрогаметогенез», «Двойное оплодотворение», Стенды «Митоз», «Мейоз», микрофотографии.

Отчетность. Представить преподавателю тетрадь с выполненным заданием и ответить на предложенные вопросы.

Пояснения к теме

Микрогаметогенез происходит в пыльцевом зерне (мужском гаметофите) – это процесс формирования мужских половых клеток – гамет (рис. 1). Процесс начинается через несколько дней после окончания микроспорогенеза и продолжается также несколько дней. Клетка пыльцевого зерна делится митозом и образуются две клетки – вегетативная и генеративная. Вегетативная клетка в дальнейшем не делится, в ней происходит накопление запаса питательных веществ, необходимых для развития генеративной клетки и для обеспечения прорастания пыльцевой трубки в завязь пестика во время оплодотворения. Генеративная клетка имеет веретенообразную форму. Она делится митозом, в результате образуются две мужские половые клетки – спермии. У одних растений это деление происходит за 2-3 дня до цветения, например у злаковых, у других видов образование спермиев происходит в пыльцевой трубке во время роста внутри пестика. Форма спермиев может быть разнообразной.

Из четырех мегаспор, образовавшихся в результате макроспорогенеза, развивается только одна, она становится материнской клеткой зародышевого мешка (рис. 2). Остальные три прекращают развитие. Материнская клетка зародышевого мешка претерпевает три последовательных митотических деления и образуется восьмиядерный зародышевый мешок, по полюсам которого располагаются по четыре ядра, а в середине – вакуоль. В дальнейшем происходит увеличение общих размеров зародышевого мешка и дифференциация: на микропилярном конце семязпочки возникает яйцевой аппарат, который состоит из яйцеклетки и двух синергид. Яйцеклетка является женской гаметой. Роль синергид заключается в привлечении пыльцевых трубок и растворении их оболочек. На противоположном конце зародышевого мешка располагаются три клетки – антиподы (у зерновых культур количество антипод более трех). При помощи антиподиального комплекса клеток в зародышевый мешок поступают питательные вещества. Из противоположных концов

зародышевого мешка отходит по одному ядру (полярные ядра), которые сближаются и располагаются в центральной его части.

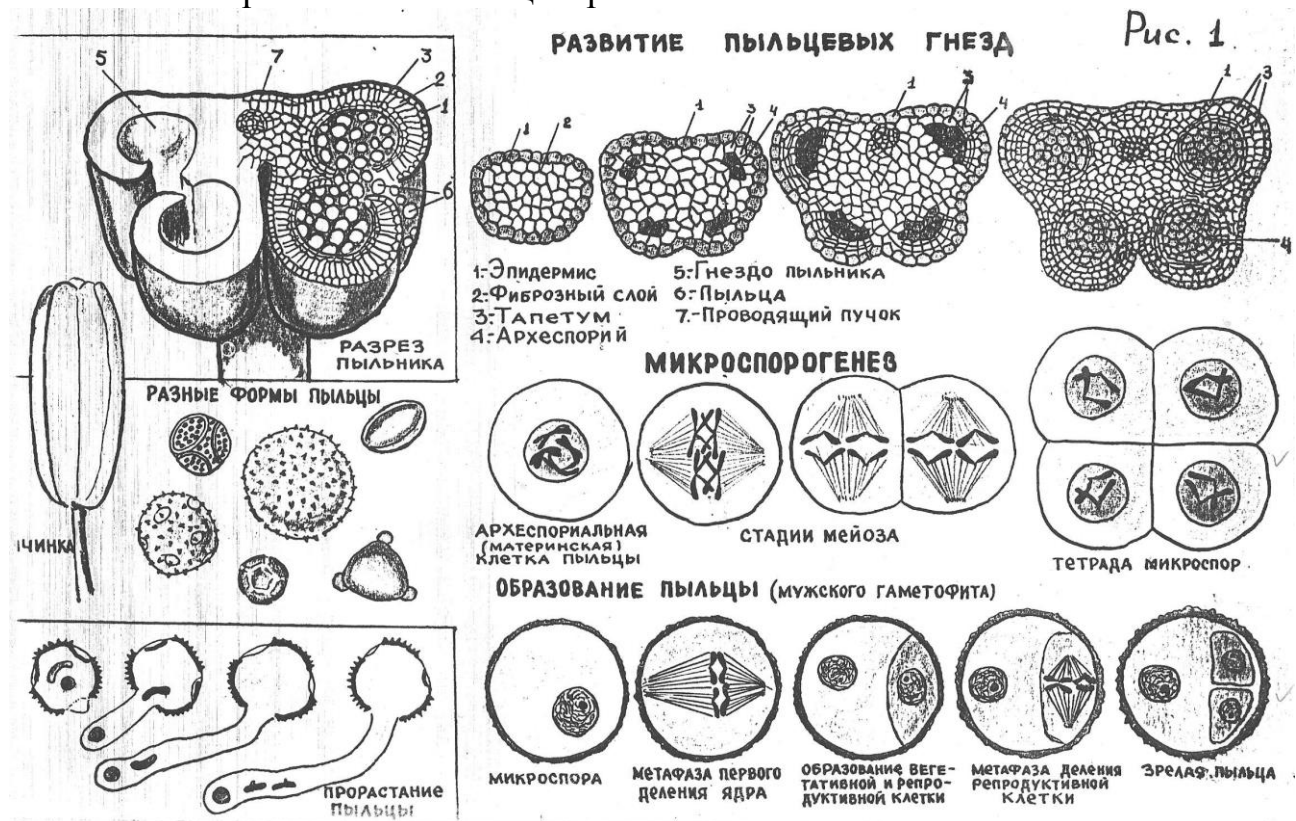


Рисунок 1. Развитие пыльника и образование пыльцы

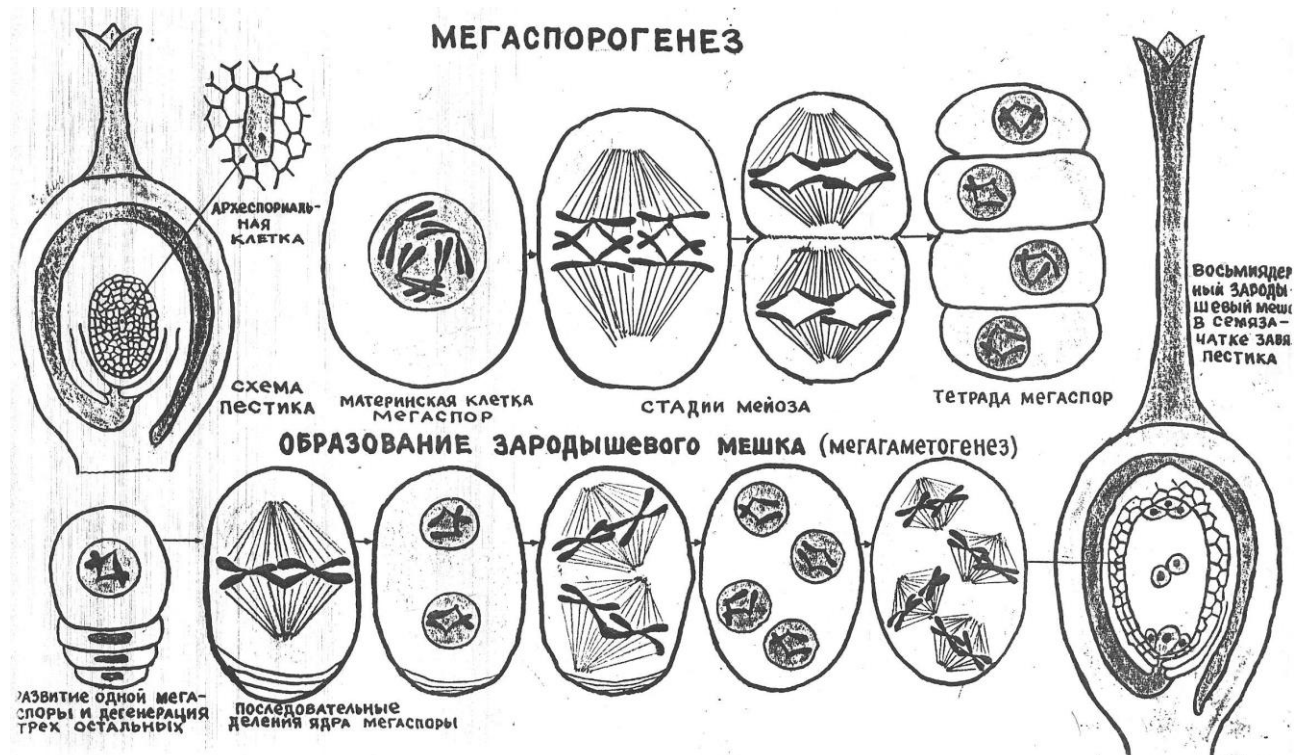


Рисунок 2. Мегаспорогенез и образование зародышевого мешка

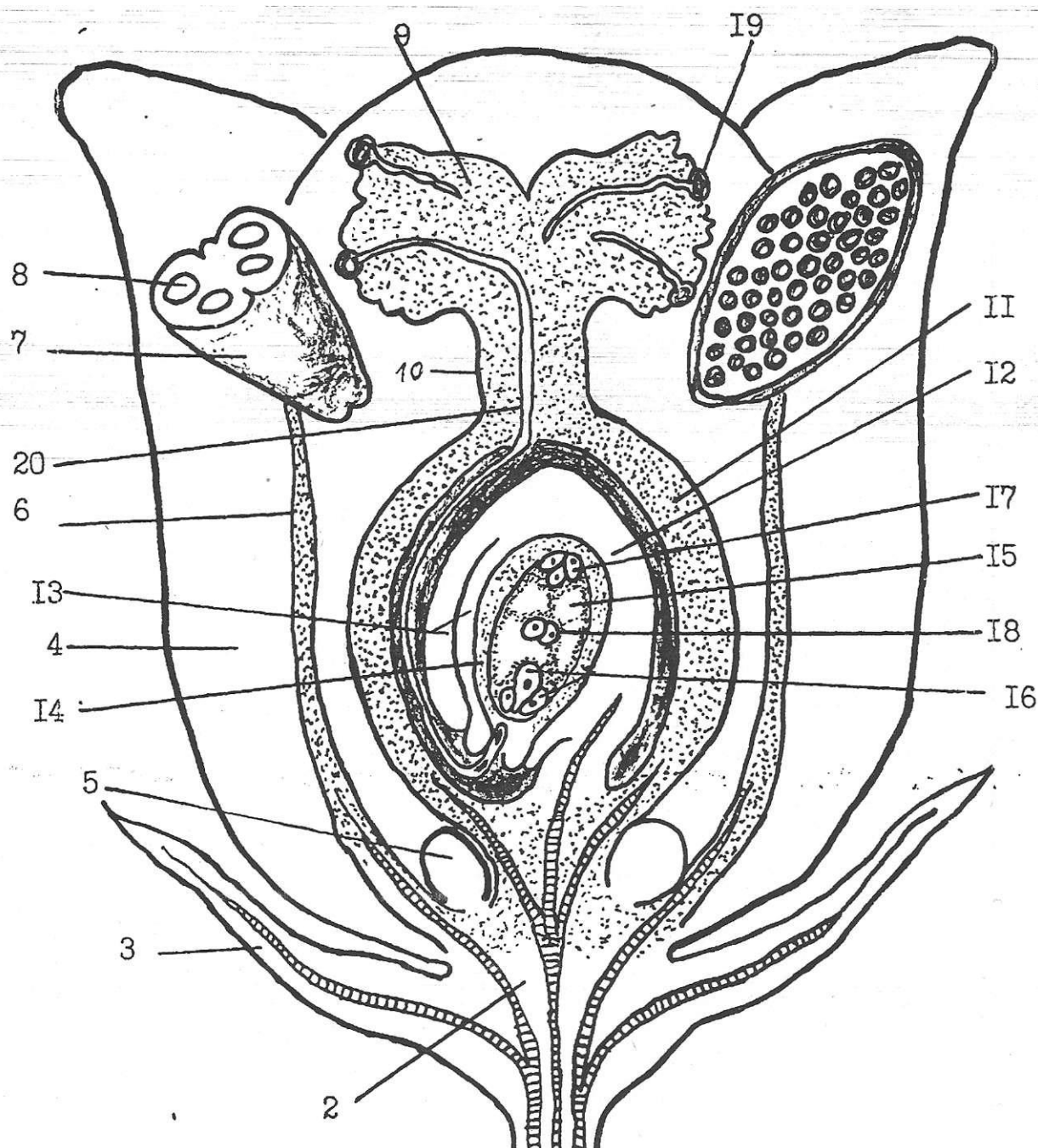


Рисунок 3. Схема двойного оплодотворения

1 - цветоножка, 2 - цветоложе, 3 - чашечка, 4 - венчик, 5 - нектарники, 6 - тычиночная нить, 7 - пыльник, 8 - гнездо пыльника, 9 - рыльце, 10 - столбик, 11 - завязь, 12 - семязпочка, 13 - интегументы, 14 - нуцелус, 15 - зародышевый мешок, 16 - яйцевой аппарат (яйцеклетка и синергиды), 17 - антиподы, 18 - два полярных ядра, 19 - прорастающее на рыльце пылевое зерно, 20 - пылевая трубка на кончике виднеется два спермия.

У одних растений они сливаются и образуют диплоидную центральную клетку зародышевого мешка (подсолнечник, гречиха и др.), у других - не сливаются и находятся в сближенном состоянии до оплодотворения (пшеница, кукуруза, кормовые бобы и т.д.).

Пылевая трубка, проникнув в зародышевый мешок, изливает свое содержимое в одну из синергид (рис. 3). Высвобождается пара спермиев, и

один из них сливается с ядром яйцеклетки. Образуется зигота с диплоидным набором хромосом, дающая начало диплоидному зародышу семени. В зиготе объединяется наследственная информация материнского и отцовского организмов и восстанавливается парность гомологичных хромосом. Второй спермий сливается с диплоидным ядром центральной клетки зародышевого мешка и образуется триплоидная клетка, из которой развивается эндосперм.

Эмбриогенез. После слияния ядер гамет, у возникающих зигот наступает митотическое деление, т.е. начинается эмбриогенез. Обычно первой делится триплоидная зигота, дающая начало эндосперму, и лишь спустя некоторое время в деление вступает диплоидная зигота, из которой образуется зародыш, т.е. образование питательной ткани идет с некоторым опережением, например, у пшеницы эта разница составляет 18 часов.

Образование ядер эндосперма может происходить по нуклеарному или клеточному типу. При нуклеарном типе развития эндосперма, например у пшеницы, после деления ядер клеточные перегородки не образуются, они начинают появляться только через 2-3 суток. При клеточном типе формирования эндосперма после каждого деления формируется клеточная перегородка. Продолжительность развития эндосперма неодинакова у различных видов и растений и составляет: у мятликовых – не менее 20-25 дней, у астровых (сложноцветных) – всего несколько дней, у древесных пород – несколько месяцев.

Оплодотворенная яйцеклетка, имеющая грушевидную форму, делится поперечной перегородкой на две клетки. Клетка, обращенная внутрь зародышевого мешка, называется верхней, или апикальной, а нижняя – базальной. Из апикальной клетки формируется предзародыш (проэмбрио), из базальной образуется подвесок, при помощи которого зародыш удерживается на стенке зародышевого мешка. Направление и последовательность делений в апикальной и базальной клетках не совпадают. Первая делится продольной, а вторая – поперечной перегородками. Дальнейшие митозы в подвеске идут очень медленно по сравнению с проэмбрио. Пятисуточный проэмбрио – многоклеточный, имеет грушевидную форму. В дальнейшем начинается его дифференциация и образуется зародыш, который, например, у злаков состоит из одной семядоли – щитка, который отделяет зародыш от эндосперма и поглощает питательные вещества из него, конуса нарастания побега, состоящего из почечки с зародышевыми листочками и корешка с чехликом. Полное формирование зародыша заканчивается через 35 – 45 дней. У двудольных растений – зародыш с двумя семядолями.

Домашняя подготовка к занятию.

Изучить гаметогенез и двойное оплодотворение по учебникам и лекциям и ответить на вопросы для самоконтроля:

1. Сколько сортов пыльцы образуется в пыльнике, если исходная клетка имела 1 пару хромосом? 4 пары хромосом?

2. Сколько типов яйцеклеток образуется, если исходная клетка имела 1 пару хромосом? 12 пар хромосом?
3. Сколько микроспор или пыльцевых зерен образуется из одной материнской клетки микроспоры?
4. Сколько сортов пыльцевых зерен образуется из одной материнской клетки микроспоры, имеющей 4 хромосомы?
5. Сколько функционирующих мегаспор образуется из одной материнской клетки мегаспоры у большинства растений?
6. Сколько типов ядер может быть в типичном восьмиядерном зародышевом мешке, если исходная клетка имела 1 пару хромосом? 4 пары хромосом?
7. У данного растения в процессе микроспорогенеза образовалось 100 пыльцевых зерен. Сколько материнских клеток пыльцы участвовало в их образовании?
8. В клетках корешка риса содержится по 24 хромосомы. Сколько хромосом содержит: а) материнская клетка пыльцы, б) микроспора, в) зародыш, г) яйцеклетка, д) центральное ядро зародышевого мешка, е) мегаспора, ж) ядро пыльцевой трубки, з) эндосперм, и) генеративное ядро, к) материнская клетка мегаспоры, л) полярное ядро?
9. У данного растения образовалось 40 семян. Сколько материнских клеток мегаспор участвовало в их образовании?
10. Дайте определение следующим терминам: генеративная клетка, вегетативная клетка, пыльцевое зерно, зародышевый мешок, эндосперм, полярное ядро, материнская клетка мегаспоры, мегаспора, материнская клетка микроспоры, микроспора, центральное ядро зародышевого мешка, зародыш, яйцеклетка, зигота, микроспорогенез, микрогаметогенез, макроспорогенез, макрогаметогенез, оплодотворение, двойное оплодотворение, мужской гаметофит, женский гаметофит, спорофит, гамета, спермий, микропиле, синергиды, антиподы,

Библиографический список

1. Пухальский В.А. Введение в генетику. – М.: КолосС, 2007. – 224 с.
2. Никольский В.И. Генетика / В.И. Никольский. – М.: Издательский центр «Академия», 2010. – 256 с.
3. Генетика / А.А.Жученко, Ю.Л.Гужов и др.; М.: КолосС, 2003. – 480.
4. Голубев А.К., Скробач Н.В., Забелина, СПб.: СПГАУ, 1999. – 186 с.
5. Абрамова З.В. Практикум по генетике. – М.: Агропромиздат, 1992. – 224 с.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

1 Цель занятия: Изучение молекулярных основ наследственности.

2 Задания

2.1 Изучить материал по учебникам.

2.2 Ответить на вопросы для самоконтроля.

2.3 Выполнить в рабочей тетради индивидуальную работу по заданию преподавателя.

3 Отчетность: показать преподавателю рабочую тетрадь с выполненным заданием и ответить на вопросы.

4 Вопросы для самоконтроля

- 1) Какими исследованиями была доказана роль нуклеиновых кислот в наследственности?
- 2) Кому принадлежит приоритет в расшифровке структуры молекулы ДНК?
- 3) Из скольких полинуклеотидных цепей состоит молекула ДНК и как они построены?
- 4) Из чего состоит нуклеотид каждой из цепей молекулы ДНК?
- 5) В чем выражается антипараллельность цепей молекулы ДНК?
- 6) Какими связями удерживаются вместе две цепи молекулы ДНК?
- 7) В чем выражается комплементарность цепей молекулы ДНК друг другу?
- 8) Как закодирована наследственная информация в молекуле ДНК?
- 9) Что составляет элементарную структурную единицу наследственной информации?
- 10) Что составляет элементарную смысловую единицу наследственной информации?
- 11) Из скольких нуклеотидов состоит кодон?
- 12) Что кодирует триплетный код?
- 13) Что составляет функциональную единицу наследственной информации?
- 14) Какое определение можно дать понятиям “ген” и “генотип”?
- 15) Чем отличается друг от друга структурное строение участков нитей ДНК разных генов?
- 16) Синтез какого вещества контролирует ген?
- 17) Какое определение можно дать понятию “генетический код”?
- 18) Каковы свойства генетического кода?
- 19) Поясните понятие универсальности генетического кода.
- 20) Поясните понятие неперекрываемости генетического кода.
- 21) Что означает “вырожденность” генетического кода?
- 22) Что означает понятие “бессмысленный триплет”?
- 23) Какими учеными и с помощью каких опытов был расшифрован генетический код?
- 24) Каков механизм репликации ДНК?
- 25) Как происходит процесс транскрипции? Какие ферменты при этом участвуют?

- 26) Как происходит процесс трансляции?
- 27) Каково строение гена прокариот, эукариот, вирусов?
- 28) Как происходит транскрипция генов эукариот?
- 29) Что такое экзон? интрон?
- 30) Чем отличаются предшественник и-РНК и зрелая и-РНК у эукариот?
- 31) Что такое “оперон” и как он устроен?
- 32) Какие гены входят в состав оперона?
- 33) Какова функция гена-регулятора?
- 34) Каковы функции гена-оператора?
- 35) Что такое промотор и какова его функция?
- 36) Какие существуют типы регуляции активности генов?
- 37) Где синтезируются и какую функцию выполняют т-РНК?
- 38) Дайте определение термину “геном”.
- 39) Как организованы геномы вирусов, прокариот, эукариот?
- 40) Какие органоиды клетки имеют собственную ДНК?
- 41) Каковы особенности генома митохондрий?
- 42) Что такое генетическая инженерия?
- 43) Что такое биотехнология?
- 44) Как осуществляется биосинтез белка?
- 45) Что такое генетическая трансформация?
- 46) Что такое трансдукция?
- 47) Каковы основные пути переноса генетической информации в клетке?
- 48) Дайте определение понятию «ген».

Наследственность организмов обуславливается функциями нуклеиновых кислот - **ДНК и РНК**. Нуклеиновые кислоты - сложные биополимеры, состоящие из более простых соединений - **нуклеотидов**. Каждый нуклеотид, в свою очередь, состоит из трех компонентов - сахара (дезоксирибозы у ДНК и рибозы у РНК), остатка фосфорной кислоты и одного из четырех типов азотистых оснований. В молекуле ДНК содержатся азотистые основания **аденин, гуанин, цитозин и тимин**, а в молекуле РНК - **аденин, гуанин, цитозин и урацил**. Специфичность каждого нуклеотида определяется азотистым основанием, поэтому нуклеотиды принято обозначать начальными буквами соответствующего основания: **А** - адениновый нуклеотид, **Г** - гуаниновый, **Ц** - цитозиновый, **Т** - тиминовый, **У** - урациловый. Характерной особенностью нуклеиновых кислот является **принцип комплементарности** при построении двойной цепочки молекулы ДНК в процессе редупликации (А - Т, Г - Ц), в процессе транскрипции (А - У, Т - А, Г - Ц) и построения полипептидной цепочки на основании взаимодействия кодонов и антикодонов (трансляция).

Любые различия между организмами сводятся к различиям в структурном и количественном составе их белков. Белки - это биологические полимеры, специфичность которых, в первую очередь, определяется порядком чередования каждой из 20 аминокислот в полипептидной цепи (первичная структура

белковой молекулы), а также количеством аминокислот, входящих в эту молекулу и аминокислотным составом. Участки молекулы ДНК - гены - определяют число и порядок чередования аминокислот в полипептидной цепи. М.Ниренберг, Дж. Маттеи, а затем С.Очоа и другие расшифровали генетический код - определили состав кодонов, кодирующих порядок чередования аминокислот в данной полипептидной цепи (таблица 1).

Таблица 1 Последовательность нуклеотидов в кодонах и-РНК для разных аминокислот

Аминокислота	К о д о н					
	1	2	3	4	5	6
Аланин (Ала)	ГЦУ	ГЦЦ	ГЦА	ГЦГ		
Аргинин (Арг)	ЦГУ	ЦГЦ	ЦГА	ЦГГ	АГА	АГГ
Аспарагин (Асн)	ААУ	ААЦ				
Аспарагиновая кислота (АСП)	ГАУ	ГАЦ				
Валин (Вал)	ГУУ	ГУЦ	ГУА	ГУГ		
Гистидин (Гис)	ЦАУ	ЦАЦ				
Глицин (Гли)	ГГУ	ГГЦ	ГГА	ГГГ		
Глутамин (Глун)	ЦАА	ЦАГ				
Глутаминовая кислота (ГЛУ)	ГАА	ГАГ				
Изолейцин (Илей)	АУУ	АУЦ	АУА			
Лейцин (Лей)	УУА	УУГ	ЦУУ	ЦУЦ	ЦУА	ЦУГ
Лизин (Лиз)	ААА	ААГ				
Метионин (Мет)	АУГ					
Охр	УАА					
Пролин (Про)	ЦЦУ	ЦЦЦ	ЦЦА	ЦЦГ		
Серин (Сер)	УЦУ	УЦЦ	УЦА	УЦГ		
Терминальный	УГА					
Тирозин (Тир)	УАУ	УАЦ				
Треонин (Тре)	АЦУ	АЦЦ	АЦА	АЦГ		
Триптофан (Три)	УГГ					
Фенилаланин (Фен)	УУУ	УУЦ				
Цистеин (Цис)	УГУ	УГЦ				
Янт	УАГ					

Примечание: Охр, Янт, Терминальный - бессмысленные триплеты.

Характер решения задач по молекулярной генетике можно рассмотреть на следующих примерах.

Задача 1. Одна из цепочек ДНК имеет следующее чередование нуклеотидов: А – Г – Г – Ц – А – Т – Т – Ц – Г – Ц – Г – А... Напишите последовательность нуклеотидов во второй цепочке. Произведите транскрипцию и трансляцию генетической информации. Как изменится состав и последовательность аминокислот в синтезируемом белке, если в данной

цепочке ДНК произойдет мутация – вставка нуклеотида Г между 6-ым и 7-ым нуклеотидами?

Решение задачи 1) Строим цепь, комплементарную исходной цепочке ДНК: А – Г – Г – Ц – А – Т – Т – Ц – Г – Ц – Г – А - исходная цепь

Т – Ц – Ц – Г – Т – А – А – Г – Ц – Г – Ц – Т - комплементарная цепь

2) Производим транскрипцию с исходной цепочки ДНК и, пользуясь генетическим кодом, - трансляцию:

ДНК: А – Г – Г – Ц – А – Т – Т – Ц – Г – Ц – Г – А

и – РНК: У – Ц – Ц – Г – У – А – А – Г – Ц – Г – Ц – У

Белок: серин - валин - серин - аланин

3) Если произойдет вставка нуклеотида Г между шестым и седьмым нуклеотидами в ДНК, то изменится и-РНК. В соответствии с этим изменится состав и последовательность аминокислот в молекуле белка:

ДНК (мутантная): А – Г – Г – Ц – А – Т – Г – Т – Ц – Г – Ц – Г – А

и-РНК: У – Ц – Ц – Г – А – У – Ц – А – Г – Ц – Г – Ц – У

Белок: серин - валин - глутамин - аргинин

Вывод: Вставка нуклеотида Г между 6 и 7 нуклеотидами в молекуле ДНК привела к изменению состава аминокислот в молекуле белка.

Задача 2. Приведите графическую модель гена, если белковая молекула имеет следующий состав и последовательность аминокислот: глицин – лизин – пролин – серин .

Решение задачи. В связи с вырожденностью генетического кода каждая аминокислота кодируется более чем одним триплетом (кодоном). Запишем под каждой аминокислотой все кодирующие ее триплеты в и-РНК в соответствии с генетическим кодом, приведенным в таблице 1.

Белок:	глицин	-	лизин	-	пролин	-	серин
	ГГУ		ААА		ЦЦУ		УЦУ
	ГГЦ		ААГ		ЦЦЦ		УЦЦ
	ГГА				ЦЦА		УЦА
	ГГГ				ЦЦГ		УЦГ
	4	х	2	х	4	х	4 = 128

Как видно, в связи с вырожденностью генетического кода участок белка с данной последовательностью аминокислот мог образоваться в процессе трансляции у 128 вариантов и – РНК.

И – РНК переписывает информацию о структуре белка в процессе транскрипции с гена. Разнообразие возможных и – РНК (128) могло образоваться на основе такого же разнообразия генов. Следовательно, графически можно изобразить 128 вариантов гена, содержащих информацию об этом белке.

Приведем один из возможных вариантов:

и – РНК : Г – Г – У – А – А – А – Ц – Ц – У – У – Ц – У

ДНК: Ц – Ц – А – Т – Т – Т – Г – Г – А – А – Г – А - 1-я цепочка

Г – Г – Т – А – А – А – Ц – Ц – Т – Т – Ц – Т - 2-я цепочка

ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

6.1 Задание 1

6.1.1 Одна из цепочек молекулы ДНК имеет следующее чередование нуклеотидов: -Г-Т-А-А-Т-А-Ц-Ц-Т-Т-Т-Т-А-Ц-Г-А-А-Ц-А-Ц-Г-А-Т-Г-А-Т-Г-

а) постройте комплементарную цепочку данной молекулы ДНК. Сколько нуклеотидов, содержащих аденин, в ней будет?

б) постройте и-РНК на данной ДНК. Сколько нуклеотидов, содержащих урацил, в ней будет?

в) Постройте участок молекулы белка, кодируемый данной ДНК. Сколько молекул триптофана он содержит?

г) выпишите все т-РНК, участвующие в данном биосинтезе. Сколько разных типов т-РНК принимает в нем участие?

6.1.2 Дайте схему репликации, транскрипции и трансляции для ДНК, если ее матричная нить содержит следующую последовательность нуклеотидов: -А-А-Т-Т-А-А-Ц-А-Г-А-Г-Т-Г-Г-Ц-Г-Т-А-А-Ц-Ц-Г-Г-Г-А-А-Т-

6.1.3 Определите последовательность аминокислот белка, закодированной следующей последовательностью нуклеотидов ДНК: Г-Г-Г-Ц-А-Г-Ц-Ц-Г-А-Ц-Ц-А-А-Т-Ц-А-Г-Г-Г-Ц-Г-Г-А-

Какой она станет, если 3-й нуклеотид под влиянием радиации будет выбит, а между 7-ым и 8-ым нуклеотидами встанет А?

6.1.4 Белковая молекула имеет следующий состав и последовательность аминокислот: лизин-триптофан-глутамин-серин-метионин-гистидин-аланин-валин... Дайте графическую модель фрагмента гена. Сколькими способами может быть кодирован этот участок молекулы белка?

6.1.5 Белок состоит из 300 аминокислот. Сколько т-РНК участвовало в синтезе данного белка? Сколько кодонов содержала и-РНК, на которой синтезировался данный белок? Сколько нуклеотидов содержала и-РНК? Сколько нуклеотидов содержит ген данного белка? Какова молекулярная масса гена, если молекулярная масса одного нуклеотида в среднем равна 300? Какова длина гена, если расстояние между двумя нуклеотидами в ДНК составляет 3,4 ангстрема?

6.1.6 В состав ДНК входит 240 тиминовых нуклеотидов, что составляет 12% от общего числа нуклеотидов. Сколько адениновых, гуаниновых и цитозиновых нуклеотидов (в отдельности) входит в состав данной ДНК?

6.1.7 Кодирующая цепь ДНК содержит 300 нуклеотидов, 50% из которых приходится на долю интронов. Сколько нуклеотидов будет содержать зрелая и-РНК, которая синтезируется на этом гене?

6.1.8 Химический анализ показал, что 28% от общего числа нуклеотидов данной и-РНК приходится на аденин, 6% - на гуанин и 40% на урацил. Каков должен быть нуклеотидный состав соответствующего участка двухцепочечной ДНК, информация с которого “переписана” данной и-РНК?

6.2 Задание 2

6.2.1 Одна из цепочек молекулы ДНК имеет следующее чередование нуклеотидов: Ц-Т-А-А-А-А-Г-Ц-А-Ц-Т-Т-А-Ц-А-Ц-Т-Т-Т-Т-Т-А-А-А-Ц-А

а) постройте комплементарную цепочку молекулы ДНК. Сколько нуклеотидов, содержащих аденин, будет в комплементарной цепочке?

б) постройте на данной ДНК и-РНК. Сколько нуклеотидов, содержащих цитозин, она будет содержать?

в) постройте участок белковой молекулы, кодируемый данной ДНК. Сколько разных аминокислот она будет содержать?

г) сколько молекул лизина и триптофана будет содержать полученная вами молекула белка?

д) выпишите все т-РНК, участвующие в синтезе данной молекулы белка. Сколько разных типов т-РНК участвует в этом процессе?

6.2.2 Дайте схему репликации, транскрипции и трансляции для ДНК, если ее матричная нить содержит следующую последовательность нуклеотидов: -А-А-А-Г-А-Ц-Ц-Т-Т-А-Г-Ц-Ц-Г-Г-Т-А-Т-Т-А-Г-Т-Ц-Г-Т-А-Г-.

6.2.3 Определите последовательность аминокислот белка, закодированной следующей последовательностью нуклеотидов ДНК: -Ц-А-Ц-Г-Т-Ц-А-Г-Г-А-Т-Г-Т-А-Ц-Ц-Ц-Ц-Т-Ц-Г-Г-А-А-

Какой она станет, если 5-ый нуклеотид под влиянием радиации будет выбит?

6.2.4 Белковая молекула имеет следующий состав и последовательность аминокислот: аргинин-лизин-триптофан-фенилаланин-тирозин-валин-валин-метионин... Дайте графическую модель фрагмента гена. Сколькими способами может быть кодирован этот участок молекулы белка?

6.2.5 В синтезе белка участвовало 150 молекул т-РНК. Из скольких аминокислот состоит синтезированный белок? Сколько кодонов содержала и-РНК, на которой синтезировался данный белок? Сколько нуклеотидов содержала эта и-РНК?

Сколько нуклеотидов содержит ген данного белка? Какова длина гена, если расстояние между нуклеотидами в ДНК составляет 3,4 ангстрема? Какова молекулярная масса гена, если средняя молекулярная масса одного нуклеотида равна 300?

6.2.6 В состав молекулы ДНК входит 720 нуклеотидов, 25% из которых входит в состав интронов. Сколько нуклеотидов содержит зрелая и-РНК, которая синтезируется на данной ДНК? Белок из скольких аминокислот синтезируется на этой и-РНК?

6.2.7 В состав ДНК входит 300 гуаниновых нуклеотидов, что составляет 15% от общего числа нуклеотидов данной ДНК. Сколько адениновых, тиминовых и цитозиновых нуклеотидов входит в состав этой ДНК?

6.2.8 Химический анализ показал, что 30% от общего числа нуклеотидов данной и-РНК приходится на аденин, 18% - на гуанин и 20% на урацил. Каков должен быть нуклеотидный состав соответствующего участка двухцепочечной ДНК, информация с которого “переписана” данной и-РНК?

6.3 Задание 3

6.3.1 Одна из цепочек молекулы ДНК имеет следующее чередование нуклеотидов: -Ц-Г-А-Ц-Ц-А-Ц-Т-Т-Г-Т-А-Ц-Т-А-Т-Т-Т-Г-Г-А-Т-Т-Т-А-Г-А-

а) постройте комплементарную цепочку молекулы ДНК. Сколько нуклеотидов тимина содержит комплементарная цепочка ДНК?

б) постройте молекулу и-РНК. Сколько нуклеотидов, содержащих аденин, будет в и-РНК?

в) постройте участок молекулы белка, кодируемый данной ДНК. Сколько всего молекул аминокислот он содержит?

г) сколько молекул лизина содержит полученная вами белковая молекула?

д) выпишите все т-РНК, участвующие в синтезе белковой молекулы? Сколько разных типов т-РНК участвует в данном процессе?

6.3.2 Дайте схему репликации, транскрипции и трансляции для ДНК, если ее матричная нить содержит следующую последовательность нуклеотидов: -А-А-А-Г-А-Г-Т-Т-Г-А-Г-Ц-Ц-Т-Г-А-Т-Т-Ц-Ц-Ц-Г-А-Г-Г-Т-Т-.

6.3.3 Определите последовательность аминокислот белка, закодированной следующей последовательностью нуклеотидов ДНК: Г-Ц-Г-Т-Т-Г-А-А-Г-Т-Ц-Ц-Г-Т-Т-А-А-А-Т-Г-А-А-Ц-Г-. Какой она станет, если под действием ионизирующей радиации будут выбиты 3-й и 4-й нуклеотиды?

6.3.4 Белковая молекула имеет следующий состав и последовательность аминокислот: лизин-гистидин-серин-серин-аргинин-аланин-пролин-лизин... Дайте графическую модель фрагмента гена. Сколькими способами может быть кодирован этот участок молекулы белка?

6.3.5 В состав и-РНК входит 330 нуклеотидов. Сколько кодонов содержит эта и-РНК? Белок из скольких аминокислот на ней синтезируется? Сколько т-РНК участвует в синтезе белка на данной и-РНК? Сколько нуклеотидов содержит ген, на котором она синтезировалась? Какова молекулярная масса и-РНК, если средняя молекулярная масса одного нуклеотида равна 300? Какова длина и-РНК, если расстояние между двумя нуклеотидами в молекуле составляет 3,4 ангстрема?

6.3.6 В состав ДНК входит 510 адениновых нуклеотидов, что составляет 30% от общего числа нуклеотидов. Сколько гуаниновых, цитозиновых и тиминовых нуклеотидов входит в состав данной ДНК?

6.3.7 Зрелая и-РНК содержит 420 нуклеотидов. Сколько нуклеотидов содержит ген, с которого транскрибирована данная РНК, если экзоны составляют 35% от общего числа нуклеотидов, входящих в состав гена?

6.3.8 Химический анализ показал, что 12% от общего числа нуклеотидов данной и-РНК приходится на урацил, 46% - на цитозин и 15% - на аденин. Каков должен быть нуклеотидный состав соответствующего участка двухцепочечной ДНК, информация с которого “переписана” данной и-РНК?

6.4 Задание 4

6.4.1 Одна из цепочек молекулы ДНК имеет следующую последовательность нуклеотидов: -А-А-А-А-Ц-Ц-А-Ц-А-Ц-Т-А-Т-Т-Т-Ц-Т-Т-Г-Т-А-Ц-Т-Т- .

а) постройте комплементарную цепочку молекулы ДНК. Сколько нуклеотидов гуанина она содержит?

б) постройте и-РНК на данном участке молекулы ДНК. Сколько в ее составе нуклеотидов, содержащих урацил ?

в) постройте участок белковой молекулы, кодируемый данной ДНК. Сколько всего аминокислот она содержит?

г) сколько молекул глутамина содержится в полученной вами молекуле белка?

д) выпишите все т-РНК, участвующие в данном биосинтезе. Сколько разных типов т-РНК будет участвовать в синтезе данной белковой молекулы?

6.4.2 Дайте схему репликации, транскрипции и трансляции для ДНК, если ее матричная цепь содержит следующую последовательность нуклеотидов: -Г-Г-Ц-Т-Г-Т-Т-А-Г-Т-Ц-Т-Г-А-А-Т-Г-Ц-Т-Г-А-Т-Т-Ц-А-Т-А-.

6.4.3 Определите последовательность аминокислот белка, закодированной следующей последовательностью нуклеотидов ДНК: -Г-Г-Г-Т-Т-Г-Т-А-Ц-Т-Г-Ц-Ц-Ц-Ц-Т-Г-А-А-Ц-Г-Т-Т-Т-.

Какой она станет, если под действием радиации будут выбиты 3-й, 5-й и 12-й нуклеотиды?

6.4.4 Белковая молекула имеет следующий состав и последовательность аминокислот: фенилаланин – пролин – лизин - валин-гистидин – тирозин – серин - аланин... Дайте графическую модель фрагмента гена. Сколькими способами может быть закодирован этот участок молекулы белка?

6.4.5 Ген состоит из 600 нуклеотидов. Сколько нуклеотидов входит в состав и-РНК, синтезированной на данном гене? Сколько кодонов содержит и-РНК? Белок из скольких аминокислот закодирован в данном гене? Сколько т-РНК участвует в синтезе белка, закодированном в данном гене? Какова длина гена, если расстояние между нуклеотидами равна 3,4 ангстрема? Какова молекулярная масса гена, если средняя молекулярная масса одного нуклеотида равна 300?

6.4.6 В состав фрагмента ДНК входит 400 цитозиновых нуклеотидов, что составляет 20% от общего числа нуклеотидов. Сколько тиминовых, адениновых и гуаниновых нуклеотидов входит в состав данного фрагмента ДНК?

6.4.7 Предшественник и-РНК состоит из 400 нуклеотидов. Из них 40% составляют интроны. Сколько нуклеотидов содержит зрелая и-РНК и белок из скольких аминокислот на ней синтезируется?

6.4.8 Химический анализ показал, что 20% от общего числа нуклеотидов данной и-РНК приходится на гуанин, 15% -на урацил и 28% на цитозин. Каков должен быть нуклеотидный состав соответствующего участка двухцепочечной ДНК, информация с которого “переписана” данной и-РНК?

6.5 Задание 5

6.5.1 Одна из цепочек молекулы ДНК имеет следующее чередование нуклеотидов: -Т-А-А-Ц-Г-А-Ц-А-А-Т-Г-А-Т-А-Ц-Ц-Т-Т-Т-Ц-А-Ц-Т-Т-Т-А-Т

а) постройте комплементарную цепочку молекулы ДНК. Сколько нуклеотидов, содержащих аденин, будет в комплементарной цепочке?

б) постройте и-РНК на данном участке молекулы ДНК. Сколько нуклеотидов, содержащих гуанин, будет в и-РНК?

в) Сколько аминокислот кодирует данный участок молекулы ДНК?

г) пользуясь таблицей кодонов, выпишите все аминокислоты, кодируемые данным участком ДНК. Сколько типов т-РНК будет участвовать в синтезе белковой молекулы, кодируемой данной цепочкой ДНК?

6.5.2 Дайте схему репликации, транскрипции и трансляции для ДНК, если ее матричная нить содержит следующую последовательность нуклеотидов: -Т-Г-Г-А-Ц-Т-Ц-Т-Г-А-А-Т-Г-Ц-Т-А-Г-Ц-Т-Г-А-А-Т-Г-Г-Т-Ц-

6.5.3 Определите последовательность аминокислот белка, закодированной следующей последовательностью нуклеотидов ДНК: Т-Т-Т-Т-Т-Ц-А-А-Г-Т-А-Ц-Г-Г-Т-Г-Ц-Ц-Т-А-А-А-Т-Г-. Какой она станет, если между 4-ым и 5-ым нуклеотидами произойдет вставка аденинового нуклеотида?

6.5.4 Белковая молекула имеет следующий состав и последовательность аминокислот: лейцин – метионин – валин – серин – фенилаланин – лизин – триптофан – валин... Дайте графическую модель фрагмента гена. Сколькими способами может быть закодирован этот участок молекулы белка?

6.5.5 Белок состоит из 540 аминокислот. Сколько т-РНК участвовало в синтезе данного белка? Сколько кодонов содержала и-РНК, на которой синтезировался данный белок? Сколько нуклеотидов содержала и-РНК? Сколько нуклеотидов содержит ген данного белка? Какова молекулярная масса гена, если молекулярная масса одного нуклеотида в среднем равна 300? Какова длина гена, если расстояние между двумя нуклеотидами в ДНК составляет 3,4 ангстрема?

6.5.6 В состав ДНК входит 180 гуаниновых нуклеотидов, что составляет 9% от их общего числа. Сколько адениновых, цитозиновых, тиминовых нуклеотидов (каждого в отдельности) входит в состав данной ДНК?

6.5.7 Зрелая и-РНК состоит из 150 нуклеотидов, что составляет 30% от числа нуклеотидов, входящих в состав предшественника и-РНК. Сколько нуклеотидов входит в состав интронов гена?

6.5.8 Химический анализ показал, что 18% от общего числа нуклеотидов данной и-РНК приходится на аденин, 26% - на гуанин и 40% на урацил. Каков должен быть нуклеотидный состав соответствующего участка двухцепочечной ДНК, информация с которого “переписана” данной и-РНК?

6.6 Задание 6

6.6.1 Одна из цепочек ДНК имеет следующее чередование нуклеотидов: -Т-А-Ц-Ц-Т-А-А-Т-А-А-Г-А-Ц-Г-А-Т-Т-Т-Ц-А-А-Т-А-Ц-Ц-А-

а) постройте комплементарную цепочку молекулы ДНК. Сколько в ней будет нуклеотидов, содержащих аденин?

б) постройте и-РНК на данном участке ДНК. Сколько нуклеотидов, содержащих урацил, будет в и-РНК?

в) постройте цепочку аминокислот, кодируемых данным участком ДНК. Сколько молекул валина она будет содержать?

г) Сколько всего аминокислот кодирует данный участок молекулы ДНК?

д) выпишите все типы т-РНК, обеспечивающие синтез белковой молекулы на и-РНК. Сколько разных типов т-РНК будет участвовать в синтезе?

6.6.2 Дайте схему репликации, транскрипции и трансляции для ДНК, если ее матричная нить содержит следующую последовательность нуклеотидов: -Т-А-Т-Г-Г-Г-Т-А-Ц-Ц-А-Т-Г-Т-Ц-А-Т-Г-Т-Ц-А-А-А-Т-Г-Ц-А-

6.6.3 Определите последовательность аминокислот белка, закодированной следующей последовательностью нуклеотидов ДНК: -Т-Т-Г-Т-Т-Ц-Г-А-Т-Ц-Г-А-Т-Г-Т-Ц-Т-Т-Т-Г-Г-А-А-Г-. Какой она станет если под влиянием ионизирующей радиации будут выбиты из цепи 3-ий и 11-ый нуклеотиды?

6.6.4 Белковая молекула имеет следующий состав и последовательность аминокислот: глутамин – лизин – гистидин – пролин – аргинин – лизин – треонин – валин... Дайте графическую модель фрагмента гена. Сколькими способами может быть закодирован этот участок молекулы белка?

6.6.5 В синтезе белка участвовало 750 т-РНК. Из скольких аминокислот состоит белок? Сколько кодонов и-РНК участвовало в синтезе белка? Сколько нуклеотидов содержала и-РНК, на которой синтезировался данный белок? Сколько нуклеотидов содержит ген данного белка? Какова молекулярная масса гена, если молекулярная масса одного нуклеотида в среднем равна 300. Какова длина гена, если расстояние между двумя нуклеотидами в ДНК составляет 3,4 ангстрема?

6.6.6 В состав ДНК входит 800 тиминовых нуклеотидов, что составляет 40% от общего числа нуклеотидов. Сколько адениновых, гуаниновых и цитозиновых нуклеотидов входит в состав данной ДНК?

6.6.7 Предшественник и-РНК состоит из 1000 нуклеотидов, 40% из которых входят в состав интронов. Белок из скольких аминокислот будет синтезироваться?

6.6.8 Химический анализ показал, что 10% от общего числа нуклеотидов данной и-РНК приходится на гуанин, 30% - на урацил и 24% на цитозин. Каков должен быть нуклеотидный состав соответствующего участка двухцепочечной ДНК, информация с которого “переписана” данной и-РНК?

6.7 Задание 7

6.7.1 Одна из цепочек молекулы ДНК имеет следующее чередование нуклеотидов: -Т-Т-Г-Т-Т-Г-Т-Т-Г-Т-Т-А-Т-А-Ц-Т-Т-А-Ц-Ц-Г-Т-Г-Т-Т-Г-Т-

а) постройте комплементарную цепочку молекулы ДНК. Сколько нуклеотидов, содержащих аденин, будет в комплементарной цепочке?

б) сколько нуклеотидов, содержащих цитозин, будет в комплементарной цепочке данного участка молекулы ДНК?

в) постройте и-РНК на данной цепочке молекулы ДНК. Сколько нуклеотидов, содержащих урацил, будет в и-РНК?

г) сколько аминокислот кодирует данный участок молекулы ДНК?

д) постройте полипептидную цепь, кодируемую данным участком молекулы ДНК. Сколько молекул аспарагина в ней содержится?

6.7.2 Дайте схему репликации, транскрипции и трансляции для ДНК, если ее матричная нить содержит следующую последовательность нуклеотидов: -Т-А-Т-А-Т-Г-Т-Ц-Ц-Т-Г-А-Ц-Ц-Ц-Т-А-Г-Т-Ц-Г-Т-А-А-Г-Г-Т-.

6.7.3 Определите последовательность аминокислот белка, закодированной следующей последовательностью нуклеотидов ДНК: Ц-Ц-Т-Ц-Г-Г-Ц-Т-А-Т-А-Ц-Т-Г-А-Т-Ц-А-Г-Ц-Ц-Т-Г-А-...Какой она станет, если под влиянием каких-либо факторов произойдет потеря 2-го нуклеотида и инверсия участка, включающего с 11 по 15 нуклеотиды?

6.7.4 Белковая молекула имеет следующий состав и последовательность аминокислот: лизин – тирозин – аланин – триптофан – гистидин – серин – валин – аспарагин... Дайте графическую модель фрагмента гена. Сколькими способами может быть закодирован этот участок молекулы белка?

6.7.5 и-РНК состоит из 330 нуклеотидов. Сколько кодонов она содержит? Белок из скольких аминокислот на нем синтезируется? Из скольких нуклеотидов состоит ген данного белка? Какова молекулярная масса гена, если молекулярная масса одного нуклеотида в среднем равна 300? Какова длина гена, если расстояние между нуклеотидами в молекуле ДНК равна 3,4 ангстрема?

6.7.6 В состав фрагмента молекулы ДНК входит 440 адениновых нуклеотидов, что составляет 11% от общего числа нуклеотидов. Сколько тиминовых, гуаниновых и цитозиновых нуклеотидов (каждого в отдельности) входит в состав данной ДНК?

6.7.7 Белок состоит из 320 аминокислот. Из скольких нуклеотидов состоит ген этого белка, если область экзонов составляет 45%?

6.7.8 Химический анализ показал, что 32% от общего числа нуклеотидов данной и-РНК приходится на урацил, 24% -на гуанин и 20% -на цитозин. Каков должен быть нуклеотидный состав соответствующего участка двухцепочечной ДНК, информация с которого “переписана” данной и-РНК?

6.8 Задание 8

6.8.1 Одна из цепочек молекулы ДНК имеет следующее чередование нуклеотидов: -А-А-А-Ц-Г-А-Ц-А-А-Г-Т-А-А-Ц-А-Ц-А-А-Т-А-А-А-А-Т-А-А-

а) постройте комплементарную цепочку молекулы ДНК. Сколько нуклеотидов, содержащих тимин, будет в комплементарной цепочке?

б) сколько нуклеотидов, содержащих урацил, будет в молекуле и-РНК, синтезированной на данной цепочке?

в) сколько разных аминокислот кодирует данный участок молекулы ДНК?

г) сколько типов т-РНК будет участвовать в синтезе белковой молекулы, кодируемой данной цепочкой ДНК?

д) постройте полипептидную цепь, кодируемую этим участком молекулы ДНК. Сколько молекул валина в ней содержится?

6.8.2 Дайте схему репликации, транскрипции и трансляции для ДНК, если ее матричная нить содержит следующую последовательность нуклеотидов: -Г-Г-Г-Т-Г-Ц-А-Т-Г-Ц-Ц-Т-А-Т-Ц-Т-Г-А-Т-Т-Т-Ц-Г-Т-А-А-Т-.

6.8.3 Определите последовательность аминокислот белка, закодированной следующей последовательностью нуклеотидов ДНК: -Ц-Ц-Ц-Т-А-Г-Т-А-А-Т-Т-Г-А-Г-Г-Ц-Т-А-Г-Ц-Т-Г-А-А-.

Какой она станет, если под действием каких-либо факторов между 3-им и 4-ым нуклеотидами произойдет вставка тиминового нуклеотида и потеря 15-го нуклеотида?

6.8.4 Белковая молекула имеет следующий аминокислотный состав: цистеин-лизин-глутамин-тирозин-треонин-изолейцин-глицин-триптофан. Дайте графическую модель фрагмента гена. Сколькими способами может быть закодирован этот участок белковой молекулы?

6.8.5 В синтезе белка участвует 280 т-РНК. Сколько кодонов содержит и-РНК, на которой синтезируется белок? Сколько нуклеотидов содержит и-РНК? Из скольких аминокислот состоит синтезируемый белок? Сколько нуклеотидов содержит ген белка? Какова длина гена, если расстояние между нуклеотидами в молекуле ДНК составляет 3,4 ангстрема? Какова молекулярная масса гена, если средняя молекулярная масса одного нуклеотида равна 300?

6.8.6 В состав ДНК входит 640 гуаниновых нуклеотидов, что составляет 12% от общего числа нуклеотидов. Сколько тиминовых, адениновых и цитозиновых нуклеотидов (каждого в отдельности) входит в состав этой молекулы ДНК?

6.8.7 Ген состоит из 1600 нуклеотидов, 40% из которых составляют интроны. Белок из скольких аминокислот закодирован в данном гене?

6.8.8 Химический анализ показал, что 20% от общего числа нуклеотидов данной и-РНК приходится на гуанин, 45% - на урацил и 18% на цитозин. Каков должен быть нуклеотидный состав соответствующего участка двухцепочечной ДНК, информация с которого “переписана” данной и-РНК?

6.9 Задание 9

6.9.1 Одна из цепочек молекулы ДНК имеет следующее чередование нуклеотидов: -Т-А-А-Ц-Г-А-Ц-А-А-Т-Г-А-Т-А-Ц-Ц-Т-Т-Т-А-Ц-Т-Т-Т-А-Т-А

а) постройте комплементарную цепочку молекулы ДНК. Сколько нуклеотидов, содержащих аденин, будет в комплементарной цепочке?

б) постройте и-РНК на данном участке молекулы ДНК. Сколько нуклеотидов, содержащих гуанин, будет в и-РНК?

в) сколько аминокислот кодирует данный участок молекулы ДНК?

г) пользуясь таблицей кодонов, выпишите все аминокислоты, кодируемые данным участком ДНК. Сколько молекул метионина он кодирует?

д) сколько типов т-РНК будет участвовать в синтезе белковой молекулы, кодируемой данной цепочкой ДНК?

6.9.2 Дайте схему репликации, транскрипции и трансляции для ДНК, если ее матричная нить содержит следующую последовательность нуклеотидов: -Г-Ц-Ц-Т-А-Г-Т-Ц-Ц-Г-Т-А-А-А-Т-Т-А-Ц-Ц-Г-Г-Т-А-Г-Ц-Г-А-.

6.9.3 Определите последовательность аминокислот белка, закодированной следующей последовательностью нуклеотидов ДНК: -А-Ц-Ц-Т-Ц-А-Г-Т-Ц-Т-А-Г-Г-Т-Ц-ГА-Т-Г-Т-А-Ц-Г-Т-....Какой она станет, если под влиянием каких-либо факторов из молекулы ДНК будет удален 5-ый нуклеотид, а 9-ый и 10-ый нуклеотиды поменяются местами?

6.9.4 Белковая молекула имеет следующий состав и последовательность аминокислот: аргинин-лизин-глицин-тирозин-изолейцин-триптофан-глутамин-фенилаланин... Дайте графическую модель гена. Сколькими способами может быть закодирован этот участок молекулы белка?

6.9.5 Белок состоит из 180 аминокислот. Сколько т-РНК участвовало в синтезе данного белка? Сколько кодонов содержала и-РНК, на которой синтезировался данный белок? Сколько нуклеотидов содержала и-РНК? Сколько нуклеотидов содержит ген данного белка? Какова длина гена, если расстояние между нуклеотидами в ДНК равна 3,4 ангстрема? Какова молекулярная масса гена, если средняя молекулярная масса одного нуклеотида равна 300?

6.9.6 В состав ДНК входит 560 гуаниновых нуклеотидов, что составляет 20 % от общего числа нуклеотидов. Сколько тиминовых, адениновых и цитозиновых нуклеотидов входит в состав данной ДНК?

6.9.7 Белок состоит из 280 аминокислот. Сколько нуклеотидов содержит ген белка, если экзоны составляют 60%?

6.9.8 Химический анализ показал, что 19% от общего числа нуклеотидов данной и-РНК приходится на цитозин, 27% -на аденин и 15% на урацил. Каков должен быть нуклеотидный состав соответствующего участка двухцепочечной ДНК, информация с которого “переписана” данной и-РНК?

6.10 Задание 10

6.10.1 Одна из цепочек ДНК имеет следующее чередование нуклеотидов: -А-А-Т-Ц-Ц-Г-Т-Т-Г-Г-А-А-Ц-А-Т-Г-Г-Т-А-Г-Ц-Т-А-А-Г-Ц-А-

а) постройте комплементарную цепочку молекулы ДНК. Сколько нуклеотидов, содержащих аденин, будет в комплементарной цепочке?

б) постройте и-РНК на данном участке молекулы ДНК. Сколько нуклеотидов, содержащих гуанин, будет в и-РНК?

в) сколько аминокислот кодирует данный участок молекулы ДНК?

г) пользуясь таблицей кодонов, выпишите все аминокислоты, кодируемые данным участком ДНК. Сколько молекул метионина он кодирует?

д) сколько типов т-РНК будет участвовать в синтезе белковой молекулы, кодируемой данной цепочкой ДНК?

6.10.2 Дайте схему репликации, транскрипции и трансляции для ДНК, если ее матричная нить содержит следующую последовательность нуклеотидов: -Г-Ц-Г-Ц-Ц-Т-А-Т-Г-Ц-Т-Т-Ц-Г-Т-Ц-Т-Г-А-Т-Г-У-У-У-Т-Г-Ц-.

6.10.3 Определите последовательность аминокислот белка, закодированной следующей последовательностью нуклеотидов: -Ц-Т-Т-Ц-Г-Т-Ц-А-Т-Т-Г-Г-Т-А-А-Ц-Ц-Т-Г-Г-А-. Какой она станет, если под влиянием радиации будет выбит 2-ой нуклеотид и произойдет инверсия 5-го триплета?

6.10.4 Белковая молекула имеет следующий состав и последовательность аминокислот: триптофан – фенилаланин – тирозин – аланин – лизин – аргинин – цистеин – аланин... Дайте графическую модель фрагмента гена. Сколькими способами может быть закодирован этот участок молекулы белка?

6.10.5 Информационная РНК содержит 310 кодонов. Сколько нуклеотидов содержит эта и-РНК? Белок из скольких аминокислот в ней закодирован? Сколько т-РНК примет участие в синтезе данного белка? Сколько нуклеотидов содержит ген белка? Какова молекулярная масса гена, если средняя молекулярная масса одного нуклеотида равна 300? Какова длина гена, если расстояние между нуклеотидами в ДНК равна 3,4 ангстрема?

6.10.6 В состав ДНК входит 110 цитозиновых нуклеотидов, что составляет 11% от их общего числа. Сколько адениновых, гуаниновых, тиминовых нуклеотидов входит в состав данной ДНК?

6.10.7 Кодирующая цепь ДНК содержит 900 нуклеотидов, 30% из которых приходится на экзоны. Белок из скольких аминокислот закодирован в данном гене?

6.10.8 Химический анализ показал, что 30% от общего числа нуклеотидов данной и-РНК приходится на гуанин, 45% -на урацил и 18% на цитозин. Каков должен быть нуклеотидный состав соответствующего участка двухцепочечной ДНК, информация с которого “переписана” данной и-РНК?

Библиографический список

- a. Пухальский В.А. Введение в генетику. – М.: КолосС, 2007.-224 с.
- b. Никольский В.И. Генетика / В.И. Никольский. – М.: Издательский центр «Академия», 2010. – 256 с.
- c. Генетика / А.А.Жученко, Ю.Л.Гужов и др.; М.: КолосС, 2003. – 480.
- d. Голубев А.К., Скробач Н.В., Забелина, СПб.: СПГАУ, 1999. – 186 с.
- e. Абрамова З.В. Практикум по генетике. – М.: Агропромиздат, 1992. – 224 с.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ

Цель: научиться определять генетическую структуру панмиктической популяции.

Задание. 1. Познакомиться с законом Харди-Вайнберга и методикой определения генетической структуры популяции. 2. Определить генетическую структуру популяции кукурузы, ржи и подсолнечника по признакам семян.

3. Определить равновесное состояние популяции в поколениях.

Материал. 1. Зерновки районированных сортов ржи. 2. Початки кукурузы. 3. Семянки подсолнечника. 4. Ланцет.

Пояснения к заданию. Популяцией называется совокупность особей одного вида, занимающих определенный ареал, свободно скрещивающихся друг с другом, имеющих общее происхождение, определенную генетическую структуру и в той или другой степени изолированных от других популяций данного вида. Любой дикий или культурный вид бывает представлен несколькими изолированными популяциями. Совокупность растений одного сорта, произрастающих на одном поле, изолированных от других посевов данной культуры, является популяцией. Популяцией является и совокупность растений любого дикорастущего вида, произрастающих на определенной территории. Популяцией можно назвать и стадо диких животных одного вида, обитающих на определенной территории.

Генетика популяций - раздел генетики, изучающий закономерности наследования признаков и генетической структуры популяций при их естественном размножении. Генетической структурой популяции называется частота встречаемости в ней растений или животных, имеющих все возможные сочетания в своем генотипе доминантных и рецессивных аллелей соответствующих генов - АА, Аа или аа или частоту встречаемости каждого аллеля данного гена. Генетическая структура популяции того или иного вида зависит от ряда факторов, в том числе и от способа размножения и опыления. Растения и животные большинства видов размножаются половым путем при свободном скрещивании. Такое размножение обуславливает равновероятную встречаемость гамет и их непрерывную рекомбинацию. Равновероятная встречаемость гамет при свободном перекресте всех растений в популяции называется панмиксией (panmixia - случайное спаривание). Например, растения одного сорта ржи, растущие на одном поле при оптимальных условиях опыления, представляют собой панмиктическую популяцию.

Одним из понятий в генетике популяций является частота каждого аллеля соответствующего гена, и при анализе популяций оперируют не особью (растением, животным), а частотой (концентрацией) аллелей, так как в популяции имеется определенная связь между частотами аллелей А и а частотой особей с генотипами АА, Аа и аа.

Генетической структурой популяции называются соотношения (частоты) доминантного и рецессивного аллелей (А и а), частоты гомозиготных АА, аа и гетерозиготного Аа генотипов, определяемых в процентах или долях единицы. Например, генетическая структура популяции может быть записана таким

образом: 0,5А:0,5а или 50 % А :50 % а; 25 % АА:50 % Аа:25 % аа или 0,25 АА :0,50 Аа :0,25 аа.

Равновесием структуры панмиктической популяции называется сохранение в поколениях частот аллелей и генотипов. Генетическая структура панмиктической популяции, определяемая частотой распределения генотипов, подчиняется закону Харди-Вайнберга, установленному ими в 1908 г.: **"... в неограниченно большой популяции при отсутствии отбора и мутирования данных генов и отсутствии миграции численные соотношения генотипов АА, аа и Аа остаются из поколения в поколение постоянными "**. Частота каждого генотипа в панмиктической популяции подчиняется формуле $p^2AA + 2pAa + q^2aa = 1$.

Условия, при соблюдении которых действует этот закон (отсутствие мутаций, отбора, миграций, изоляции), практически невозможны ни в одной реально существующей популяции, поэтому его следует рассматривать как закон, применимый для идеальной (модельной) популяции, с которой можно сопоставить конкретные природные и экспериментальные популяции.

Данная формула позволяет рассчитать частоты аллелей и генотипов в каждой конкретной панмиктической популяции.

Частоту встречаемости гамет с доминантным аллелем А принято обозначать буквами р - рА; частоту встречаемости рецессивного аллеля - q - qа. Таким образом, частоту данных аллелей в популяции можно выразить формулой $pA + qa = 1$ (или 100 %).

Зная частоту одного аллеля в популяции, по этой формуле можно определить частоту другого: $pA = 1 - qa$ или $qa = 1 - pA$.

Пользуясь формулой Харди-Вайнберга, при полном доминировании признака можно определить частоту рецессивного генотипа. Например, в отобранной пробе семян ржи можно подсчитать число зеленых зерновок. Этот признак контролируется рецессивным аллелем, который для простоты обозначим буквой а. Частота данного генотипа в популяции составляет q^2aa . Частота рецессивного аллеля $a/(qa) = \sqrt{q^2aa}$. Зная частоту рецессивного аллеля, можно вычислить частоту доминантного аллеля: $pA = 1 - qa$. Частота доминантного гомозиготного генотипа $p^2AA = (pA)^2$, частота гетерозиготного генотипа $2pqAa$.

В панмиктической популяции из поколения в поколение будет сохраняться генетическое равновесие, т. е. будут сохраняться частоты генотипов и аллелей, присущие исходной популяции.

Данное занятие можно проводить с семенами, взятыми из урожая данного года, методом отбора средних проб, применяемым в семеноведении. Эти пробы отражают состав популяции данного сорта. Перед проведением занятия следует точно установить, какой признак детерминирован гомозиготным рецессивным генотипом. У ржи желтая окраска зерновки доминирует над зеленой, у кукурузы окрашенный алейрон доминирует над неокрашенным, крахмалистый эндосперм - над восковидным. У подсолнечника наличие панцирного слоя в

лузге семянки (его легко определить, слегка поскоблив поверхность лузги ланцетом) доминирует над отсутствием его.

Занятие выполняется как самостоятельная научно-исследовательская работа. Ее следует проводить в течение 2-3 лет, чтобы проследить динамику генетической структуры изучаемой популяции. Следует изучить семенную продуктивность растений с доминантным и рецессивным признаками и определить коэффициент отбора. Пользуясь соответствующей программой для ЭВМ можно определить генетическую структуру данной популяции в 5-м, 8-м и других поколениях.

Выполнение задания. (Пример анализа) 1. Проанализировать по окраске зерновки среднюю пробу озимой ржи сорта Чулпан. Предположим, что из 4000 проанализированных зерновок 160 имеют зеленую рецессивную окраску и генотип aa .

2. Определить частоту рецессивного генотипа в данной популяции: $q^2aa = 160 \cdot 100/4000 = 4 \%$, или 0,04 в долях единицы.

3. Определить частоту рецессивного аллеля a и доминантного A в данной популяции: $qa = \sqrt{q^2a} = \sqrt{0,04} = 0,2$; $pA = 1 - qa = 1 - 0,2 = 0,8$.

4. Определить частоту доминантного генотипа AA и гетерозигот Aa : $p^2AA = (pA)^2 = 0,8^2 = 0,64$; $2pqAa = 2 \cdot 0,2 \cdot 0,8 = 0,32$.

5. Выписать генетическую структуру анализируемой популяции: частота рецессивного аллеля - 20 %; частота доминантного аллеля - 80 %; частота рецессивного генотипа - 4 %; частота доминантного генотипа - 64 %; частота гетерозигот - 32 %.

6. Определить генетическую структуру данной популяции в 3—5 поколениях. Установить состояние равновесия генетической структуры в модельной популяции. Для этого, зная частоту рецессивного и доминантного аллелей в каждом поколении, рассчитать частоты гомозиготных доминантного и рецессивного генотипов и частоту гетерозигот. Данные занести в таблицу 1.

Таблица 1 Состояние генетического равновесия в панмиктической популяции озимой ржи сорта Чулпан

Поколение	Частота генотипов			Частота аллелей	
	p^2AA	$2pqAa$	q^2aa	pA	qa
Исходное	0,64	0,32	0,04	0,80	0,20
F_1	0,64	0,32	0,04	0,80	0,20
F_2	0,64	0,32	0,04	0,80	0,20
F_3	0,64	0,32	0,04	0,80	0,20
n	p^2	$2pq$	q^2	0,80	0,20

7. Аналогичным образом могут быть проанализированы популяции любых перекрестноопыляющихся сортов.

ДИНАМИКА ПАНМИКТИЧЕСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ У ПЕРЕКРЕСТНООПЫЛЯЮЩИХСЯ КУЛЬТУР ПРИ ПОЛНОЙ ЭЛИМИНАЦИИ РЕЦЕССИВНЫХ ГОМОЗИГОТ

Задание. 1. Ознакомиться с причинами, нарушающими генетическое равновесие панмиктической популяции. 2. Определить изменение частот генотипов в поколениях озимой ржи при полной элиминации рецессивных гомозигот.

Материал и оборудование. 1. Посев озимой ржи сорта Чулпан .

Пояснения к заданию. Динамика популяции выражается в изменении частот разных генотипов в поколениях. Причинами нарушения равновесия в популяции могут быть мутации, отбор, увеличение или уменьшение численности популяций, изоляция их. Генофонд популяции в каждом поколении может пополняться вновь возникающими мутациями. Процесс возникновения мутаций и накопления их в популяциях называется мутационным давлением, которое обуславливает изменение соотношения частот генов, их аллелей и генотипов в поколениях популяции.

Например, мутирование аллеля A в аллель a и обратно может нарушить равновесие в популяции, т. е. изменить соотношение генотипов AA , Aa и aa . Каждая вновь возникшая мутация подвергается действию отбора, т. е. все особи (мутанты), у которых возникает мутация, снижающая жизнеспособность или плодовитость, могут полностью или частично выпасть из популяции — элиминироваться. Если возникшая мутация доминантна, то все мутанты элиминируются в первом поколении популяции. Если мутация рецессивна, то действию отбора подвергаются только гомозиготные мутанты. В этом случае мутантные рецессивные аллели могут сохраняться в популяции у гетерозиготных особей. Поэтому элиминация рецессивных гомозигот не ведет к исчезновению рецессивных особей в популяции: в каждом последующем поколении рецессивные гомозиготы будут появляться вновь из гетерозигот Aa в результате их расщепления.

Показатель увеличения или уменьшения частоты соответствующего аллеля в поколениях данной популяции называется коэффициентом отбора и обозначается буквой S . Он может изменяться от $+1$ до -1 и быть направленным против доминантного или рецессивного аллеля,

Значение $S = +1 \rightarrow A$ указывает, что все растения, имеющие в своем генотипе аллель A , дадут потомство и полностью сохранятся в следующем поколении популяции.

Если $S = -1 \rightarrow A$, то все растения, имеющие в своем генотипе аллель A , полностью элиминируются, и в следующем поколении популяции они будут отсутствовать, в популяции не будет содержаться особей с генотипами AA и Aa . Чаще всего коэффициент отбора $S = -1$ бывает направлен против рецессивных гомозигот aa . Так, коэффициент отбора $S = -1 \rightarrow aa$ может иметь место, если в популяции возникает хлорофилльная мутация и растения погибают в фазу всходов или возникают стерильные мутанты, у которых вследствие нарушения развития генеративных органов не образуются плоды и семена.

Рецессивные мутации могут сохраняться в популяции и появляться в ряде поколений даже при полной элиминации рецессивных гомозигот, так как рецессивные аллели содержатся в генотипах гетерозиготных особей (табл. 2).

При $S = -1 \rightarrow (aa)$ частота рецессивных аллелей вычисляется для любого поколения популяции по формуле

$$q_n = q / 1 + nq$$

где n - поколение, для которого ведется расчет.

Например, частота рецессивного аллеля в популяции пятого поколения рассчитывается следующим образом:

$$q_5 = 0,5 / 1 + 5 \times 0,5 = 0,5 / 1 + 2,5 = 0,143$$

Зная частоту аллеля a в данном поколении популяции, пользуясь приведенными внизу таблицы формулами, определяют генетическую структуру популяции. В нашем примере (таблица 2) генетическая структура популяции в пятом поколении будет вычисляться следующим образом:

Таблица 2 Динамика популяции при полной элиминации рецессивных гомозигот ($S = -1 \rightarrow aa$)

Поколение	Частота		Количество особей в популяции с генотипом, %		
	pA	qa	q^2aa	$2pqAa$	p^2AA
Исходное	0.500	0.500	25.00	50.00	25.00
F_1	0.667	0.333	11.12	44.44	44.44
F_2	0.750	0.250	6.25	6.25	56.25
F_3	0.800	0.200	4.00	4.00	64.00
F_4	0.833	0.167	2.78	2.78	69.44
F_5	0.857	0.143	2.04	2.04	73.44
F_{10}	0.917	0.083	0.69	0.69	84.09
F_n	$p_n = 1 - q_n$	$q_n = q / 1 + nq$	q_n^2	$2 p_n q_n$	p^2

частота доминантного аллеля $p_5A = 1 - 0,143 = 0,857$;

частота рецессивного генотипа в процентах $(q_5)^2 = 0,143^2 \times 100 = 2,04\%$;

частота гомозиготного доминантного генотипа в процентах $(p_5)^2 = 0,857^2 \times 100 = 73,44\%$;

частота гетерозиготного генотипа в процентах $2p_5q_5 = 2 \times 0,857 \times 0,143 \times 100 = 24,51\%$,

Таким образом, зная генетическую структуру исходной популяции при полной элиминации рецессивных гомозигот ($S = -1 \rightarrow aa$), можно определить генетическую структуру любого ее поколения,

Выполнение задания. 1. Отобрать пробный сноп на посеве озимой ржи в количестве 500-1000 растений. Внимательно просмотреть каждое растение и установить процент стерильных. Обычно их бывает 10—20 на 1000 или меньше.

2. Начертить в тетради таблице 2, в нее удобно записывать результаты расчетов.

3. Вычислить генетическую структуру анализируемой популяции, данные записать в таблицу.

4. Вычислить частоту рецессивного аллеля для первого поколения и, пользуясь вышеприведенными формулами, определить генетическую структуру популяции первого поколения. Таким же образом рассчитать генетическую структуру 2, 3, 4-го и последующих поколений данной популяции. Как видно из табл. 2, при полной элиминации рецессивных гомозигот из поколения в поколение увеличивается частота доминантных гомозигот: с 25 % в исходной популяции до 91,20 % в 20-м поколении. Частота гетерозигот уменьшается с 50 до 8,6 %, а рецессивных гомозигот - с 25 до 0,2 %.

Задание может выполняться на растениях ржи, кукурузы, гречихи, клевера и других перекрестноопыляющихся культур.

Задания для самоконтроля

1 У клевера лугового позднеспелость доминирует над скороспелостью и наследуется моногенно. При апробации установлено, что 4% растений относятся к раннеспелому типу клевера. Какую часть от позднеспелых растений составляют гетерозиготы?

2. Какова частота гена А в популяции, если гомозиготы по рецессивной аллели а составляют 16% от всего количества особей?

3. У кукурузы устойчивость к ржавчине контролируется доминантным геном, восприимчивость – рецессивным. В популяции, находящейся в равновесии, рецессивные особи составляют 9%. Вычислите частоты рецессивного и доминантного гена в популяции.

4. У подсолнечника наличие панцирного слоя семянки доминирует над беспанцирностью. При апробации установлено, что из 500 проанализированных семян 20 оказались беспанцирными. определите генетическую структуру популяции.

5. У дикорастущей земляники красная окраска ягод доминирует над розовой и наследуется моногенно. В популяции земляники, включающей 2000 растений, 180 растений имеют розовую окраску ягод. Рассчитайте фенотипическую и генотипическую структуру популяции.

6. Гибридная люцерна по окраске соцветий подразделяется на 3 группы: растения с фиолетовой окраской венчиков, пестрой и желто-зеленой. При апробации гибридной люцерны установлено, что 25% растений имеют желто-зеленую окраску соцветий. Рассчитайте соотношение генотипов в данной популяции при условии, что ген фиолетовой окраски неполностью доминирует над желто-зеленой.

7. При анализе гибридной популяции ржи установлено, что частота доминантного гена устойчивости к стеблевой головне $p = 0,9$. Определите генотипическую и фенотипическую структуру популяции.

Библиографический список

1. Пухальский В.А. Введение в генетику. – М.: КолосС, 2007.-224 с.
2. Никольский В.И. Генетика / В.И. Никольский. – М.: Издательский центр «Академия», 2010. – 256 с.
3. Генетика / А.А.Жученко, Ю.Л.Гужов и др.; М.: КолосС, 2003. – 480.
4. Голубев А.К., Скробач Н.В., Забелина, СПб.: СПГАУ, 1999. – 186 с.
5. Абрамова З.В. Практикум по генетике. – М.: Агропромиздат, 1992. – 224 с.