

## **Лабораторная работа № 1**

### **Строение растительной клетки и способы ее деления.**

План работы:

1. Устройство микроскопа и правила работы с ним.
2. Методика подготовки материала для исследования.
3. Строение растительной клетки.
4. Хлоропласты, лейкопласты, хромопласты, ядро.
5. Митоз.
6. Мейоз.

**Задание 1. Изучить устройство микроскопа.**

**Материалы и оборудование:** микроскоп.

Микроскоп – это оптический прибор, с помощью которого можно получить увеличение объекта и рассмотреть мелкие детали его строения.

В микроскопе выделяют две системы: оптическую и механическую.

Оптическую систему составляют конденсор, объектив и окуляр, которые используются для рассматривания объекта и увеличения его изображения.

Различают следующие типы аберраций:

- 1) сферическая аберрация (изображение точки передается в виде кружка рассеяния);
- 2) астигматизм (кружки рассеяния имеют эллипсоидную форму);
- 3) кома (в изображении точки наблюдается односторонняя деформация);
- 4) кривизна поля зрения (не позволяет одновременно видеть резко центр и края поля зрения);
- 5) дисторсия (нарушение подобия между объектом и его изображением).

В зависимости от аберраций различают оптику:

- а) анастигматическую (свободную от астигматизма);
- б) апланатическую (лишенную комы и сферической аберрации);
- в) ортоскопическую (без дисторсии).

Объективы бывают сухие и иммерсионные.

Разрешающая способность микроскопа представляет собой величину наименьшего диаметра частиц, которые можно видеть в микроскоп, или наименьшее различимое расстояние между двумя точками. Разрешающая способность светового микроскопа равна 2000 Å (ангстрем), электронного – 10 Å, глаз человека имеет разрешающую способность всего 0,15 мм.

Окуляр состоит из 2–3 линз, смонтированных в металлический цилиндр. Подобно лупе, он дает прямое, мнимое, увеличенное изображение изучаемого объекта. С помощью окуляров исправляются остаточные аберрации.

Конденсор – специальный осветитель, расположенный под предметным (объектным) столиком микроскопа. Состоит из двух или трех линз, собирающих от зеркала свет в пучок, направляемый в плоскость препарата.

Зеркало (расположено под конденсором) отражает падающий на него свет и направляет его в конденсор для освещения препарата. Для лучшего освещения объекта в биологических микроскопах вместо зеркала используют различные типы осветителей.

Механическая система микроскопа состоит из подставки, коробки с микрометрическим механизмом и микрометрическим винтом, тубусодержателя, винта грубой наводки, кронштейна конденсора, винта перемещения конденсора, револьвера, предметного столика.

Микрометрический винт служит для незначительного перемещения тубусодержателя и объектива на расстояния, измеряемые микрометрами.

Тубус – цилиндр, в который сверху вставляют окуляры. Он подвижно соединяется с головкой тубусодержателя и фиксируется стопорным винтом в определенном положении.

Тубусодержатель несет тубус и револьвер, предназначенный для быстрой смены объективов. Для передвижения тубусодержателя и объектива с целью фокусировки объекта при малом увеличении служит винт грубой наводки.

Предметный столик имеет в середине круглое отверстие. Предметный координатный столик обеспечивает перемещение препарата, установленного в препаратопроводитель, в горизонтальной плоскости по двум взаимно перпендикулярным направлениям с помощью рукояток, расположенных с левой стороны на препаратопроводителе.

**Задание 2.** Изучить правила работы с микроскопом.

Микроскоп «Биомед-5» имеет увеличение от 40 до 1600 крат, числовая апертура его составляет 1,25 «МИ». В зависимости от степени исправления аберрации объектив микроскопа «Биомед-5» относится к ахроматам ( $4\times/0,10$ ;  $10\times/0,25$ ;  $40\times/0,65$ ;  $100\times/1,25$  «МИ»). Освещение установлено по Келлеру.

При работе с микроскопом его ставят у края стола так, чтобы окуляры находились напротив глаз, и в течение работы его не передвигают. Открывают полностью диафрагму, поднимают конденсор в крайнее верхнее положение. Столик центрируют. Ставят объектив  $8\times$  в рабочее положение – на расстояние 1 см от предметного столика, так как работу с микроскопом всегда начинают с малого увеличения. Глядя в окуляры, добиваются равномерного освещения. Кладут на предметный столик препарат и, глядя сбоку, опускают объектив с помощью винта грубой наводки так, чтобы между фронтальной линзой и препаратом было расстояние в 4–5 мм. Глядя в окуляр и вращая винт грубой наводки на себя, плавно поднимают объектив до положения, при котором хорошо видно изображение объекта. С помощью микрометрического винта добиваются хорошей видимости изображения препарата.

Для изучения какого-либо участка объекта при большем увеличении ставят этот участок в центр поля зрения, далее поворотом револьвера переводят объектив на большее увеличение (объектив не поднимать!). Затем с помощью микрометрического винта добиваются четкой видимости изображения объекта. После окончания работы с большим увеличением поворотом револьвера устанавливают малое увеличение и только после этого снимают препарат.

**Задание 3.** Методика подготовки материала для исследования.

Метод исследования:

- 1) прижизненные наблюдения;
- 2) изучение фиксированных и окрашенных клеток тканей;
- 3) цитохимические исследования;

- 4) дифференциальное центрифугирование;
- 5) автордиография;
- 6) метод культуры клеток и тканей;
- 7) микрогрия и др.

Фиксация с последующим окрашиванием клеток и тканей является самым распространенным способом подготовки объектов к исследованию. Фиксация представляет собой быстрое умерщвление клетки с сохранением ее прижизненной структуры. Искажение структур клетки (в цитологии носит название артефакта) очень нежелательно. В цитологической и эмбриологической практике применяется большое число фиксирующих жидкостей в зависимости от цели и характера исследования. Наиболее часто применяемые в цитогенетической практике фиксаторы делятся на спиртовые и водные.

К спиртовым фиксаторам относят:

- 1) Карнуа (6:3:1) – спирт, хлороформ, уксусная кислота;
- 2) упрощенный Карнуа, или уксусный алкоголь (3:1);
- 3) Чемберлена (90:0,5:0,5) – спирт, формалин, уксусная кислота.

К водным фиксаторам относят:

- 1) Навашина (10:4:1) – 1%-ная хромовая кислота, 16%-ный формалин (от 40%-ного медицинского), ледяная уксусная кислота;
- 2) Левитского (1:10) – хромовая кислота, формалин.

При работе с фиксаторами следует запомнить три правила:

1. Фиксатор не должен быть теплым.
2. Водные фиксаторы смешивают перед их употреблением.
3. Количество фиксирующей жидкости должно превышать объект в 20–40 раз.

Исследуемый материал в водном фиксаторе выдерживают около 24 ч, а в спиртовом – от 30 мин до 12 ч.

Для окраски временных препаратов чаще всего используют кармин, лакмоид, орсеин, растворенные в уксусной кислоте. Для окраски постоянных препаратов используют гематоксилин, генциановый фиолетовый, фуксин, метиленовый синий.

При исследовании срезов и временных препаратов широко используют окрашивание их различными красителями. Чаще всего эти красители представляют собой сложные органические соединения, комплексные соли. Если в красителях красящим веществом является основание, то они называются основными, если остаток кислоты – кислыми.

К основным красителям относятся: сафранин, генциановый фиолетовый, метиленовый зеленый, синий и фиолетовый, фуксин основной и др.

К кислым красителям относятся: конго красный, эозин, кислый фуксин, пикриновая кислота и др.

Красители обычно применяют в виде водных или спиртовых растворов. Водные растворы чаще готовят в концентрации 1–2 %, спиртовые – на 50–70%-ном спирте, хранят в темном месте.

В зависимости от объекта и красителя окрашивание ведут двумя способами: прогрессивным и регрессивным. В первом случае срез помещают в

слабый раствор красителя и окрашивают довольно продолжительное время. Вначале окраска бывает слабой, со временем она прогрессирует. При регрессивном способе окрашивания срез заведомо переокрашивают в концентрированном красителе, а избыток красителя в дальнейшем отмывают соответствующим растворителем (дифференцировка).

В цитологической и эмбриологической практике часто употребляют так называемую комбинированную окраску препаратов двумя или тремя красителями.

Способы приготовления красителей и методы окраски разработаны различными исследователями и поэтому носят сложные названия: окрашивание гематоксилином по Гейденгайну при приготовлении постоянных препаратов по Навашину; окрашивание реактивом Шиффа (кармином) по Фельгену и др.

#### Задание 4. Строение растительной клетки

**Материалы и оборудование:** луковица лука, зрелые плоды рябины, листочки элодеи или традесканции, семена бобовых (горох, фасоль), кусочки клубней картофеля; раствор йода; микроскоп, предметные и покровные стекла, пинцет, препаровальная игла.

Изготовить препарат эпидермы сочной чешуи луковицы лука, рассмотреть и зарисовать строение клетки в капле воды и в растворе йода.

Для изготовления препарата препаровальной иглой снимают эпидермис с выпуклой поверхности чешуи, помещают ее в каплю воды на предметное стекло и накрывают покровным стеклом. Прodelывают то же, но с добавлением раствора йода. Под действием йодистого калия белки цитоплазмы окрасятся в желтый цвет, а ядра – в темно-желтый.

Вакуоли будут выделяться в виде более светлых мест. Оболочки клеток останутся бесцветными (рис. 1).

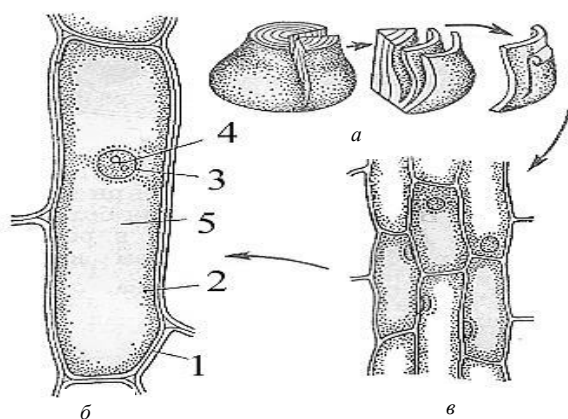


Рис. 1. Схема строения недифференцированной клетки сочной чешуи луковицы лука (*Allium cepa*): а – луковица лука; б, в – клетки эпидермы: 1 – стенка клетки; 2 – цитоплазма; 3 – ядро; 4 – ядрышко; 5 – вакуоль

Изучить строение паренхимной клетки под микроскопом при большом увеличении. Зарисовать клетку и обозначить видимые компоненты (оболочку, поры, цитоплазму, вакуоль, ядро).

Изучить органеллы клетки. Рассмотреть пластиды в клетках листа элодеи, движение цитоплазмы. Рассмотреть и зарисовать хромопласты в клетках плодов рябины.

В цитоплазме клеток растения находятся пластиды – двумембранные органоиды. В зависимости от окраски и функций их делят на три группы: хлоропласты (зеленые), хромопласты (желтые, оранжевые или красные) и лейкопласты (бесцветные).

Приготовить препарат клеток листа элодеи и плодов рябины. На предметное стекло в каплю воды положить лист элодеи и накрыть покровным стеклом. Сначала рассмотреть клетки листа при малом увеличении, а затем – при большом, найти хлоропласты, обратить внимание на окраску пластид. Зарисовать несколько клеток с хлоропластами и указать на рисунке стрелкой движение цитоплазмы (рис. 2).

Взять немного мякоти плода рябины, поместить в каплю воды на предметном стекле, осторожно разрыхляя, и накрыть покровным стеклом. Рассмотреть и зарисовать хромопласты.

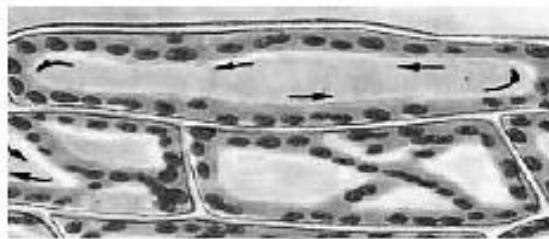


Рис. 2. Хлоропласты и движение цитоплазмы в клетках листа элодеи

Изучить явление тургора и плазмолиза.

Клеточный сок, находящийся в вакуолях, содержит различные растворенные вещества. Если клеточный сок имеет более высокую концентрацию, чем окружающий раствор, то он начинает притягивать жидкость, которая проникает в клетку через оболочку. После чего клетка увеличивается в объеме, становится упругой. Такое явление называется тургором. Тургор является нормальным физиологическим состоянием растительной клетки. Если концентрация клеточного сока ниже, чем в окружающей среде, то вода начинает выходить из клетки, что вызывает падение тургора. Объем клетки снижается, а содержимое в ней сжимается в виде комочка в центре клетки. Данное явление называется плазмолизом. При таком состоянии растение увядает. Длительный плазмолиз может вызывать гибель клетки (рис. 3).

На препарате с листом элодеи видны клетки, которые находятся в состоянии тургора, т. е. их оболочки испытывают давление постенного слоя цитоплазмы, на которую, в свою очередь, оказывает давление содержимое клеточного сока.

Снять покровное стекло, забрать фильтровальной бумагой воду и добавить каплю 1 М раствора NaCl. Высокая концентрация внешнего раствора вызывает отдачу воды из клетки в окружающую среду, содержимое ее

уменьшается в объеме, и цитоплазма начинает отходить от оболочки клетки. Данный процесс называется плазмолиз, а способность клетки занимать исходное положение – деплазмолиз.

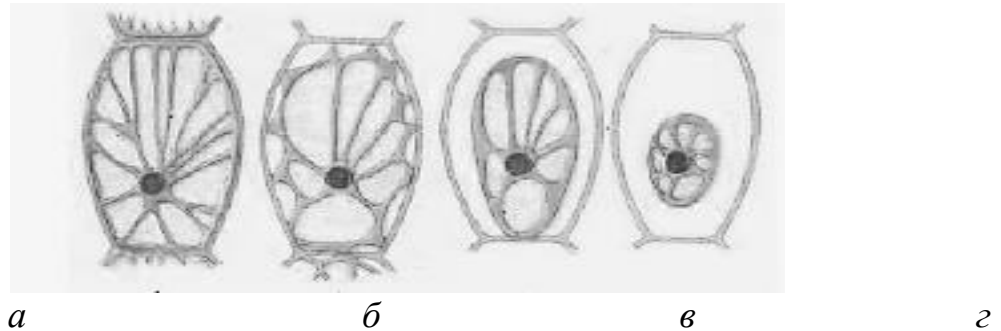


Рис. 3. Явления тургора и плазмолиза в растительной клетке:  
*а* – клетка в состоянии тургора;  
*б – г* – клетка в различных стадиях плазмолиза

Под микроскопом при большом увеличении рассмотреть состояние клетки при тургоре и плазмолизе. Зарисовать и обозначить оболочку, протопласт, полость.

Изучить морфологическую структуру крахмальных и алейроновых зерен и определить локализацию их в органах растений.

Клетка является объектом для накопления питательных веществ. Так, вторичный крахмал откладывается в ней в виде крахмальных зерен, которые отличаются формой, строением и размерами (рис. 4).

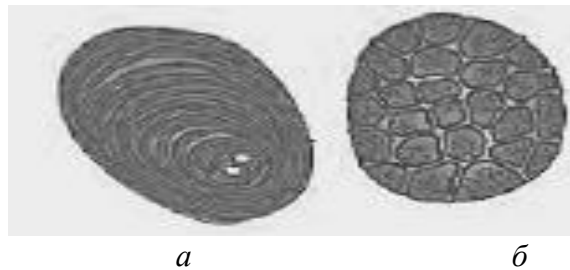


Рис. 4. Строение крахмальных зерен: *а* – картофель; *б* – овес

В каждом крахмальном зерне есть центр крахмалообразования, вокруг которого откладываются слои крахмала. Причем для каждого вида растений характерна определенная форма и величина крахмальных зерен. Различают простые, полусложные и сложные крахмальные зерна.

Приготовить препарат для изучения крахмальных зерен. Маленьким кусочком клубня картофеля сделать мазок на предметном стекле, затем нанести каплю воды и накрыть покровным стеклом. Под микроскопом при малом увеличении найти, а при большом – рассмотреть простое, сложное и полусложное крахмальные зерна. Зарисовать их.

Для выявления наличия крахмала используется йод, растворенный в йодиде калия. Действие этого реактива вызывает окрашивание крахмальных

зерен в синий цвет, что позволяет обнаружить следы крахмала в органах растения. С целью обнаружения содержания крахмала капнуть раствор йода в йодистом калии и посмотреть, какой цвет приобретают крахмальные зерна.

Приготовить препарат из предварительно замоченного семени гороха или фасоли, снять семенную кожуру, отделить одну семядолю, сделать с нее тонкие срезы и поместить на предметное стекло в каплю воды, смешанную с глицерином.

При малом увеличении микроскопа рассмотреть форму клеток семядолей, найти в них крупные зерна крахмала и более мелкие алейроновые зерна. Нанести на препарат каплю йода и понаблюдать за изменением окраски крахмальных (станут фиолетовыми) и белковых (станут желтыми) зерен.

У гороха в семядолях полость клеток заполнена крупными крахмальными зернами и мелкими алейроновыми, равномерно рассеянными по цитоплазме. Крахмальные зерна гороха отличаются от зерен картофеля концентрической слоистостью и наличием трещин в центре их образования (рис. 5).

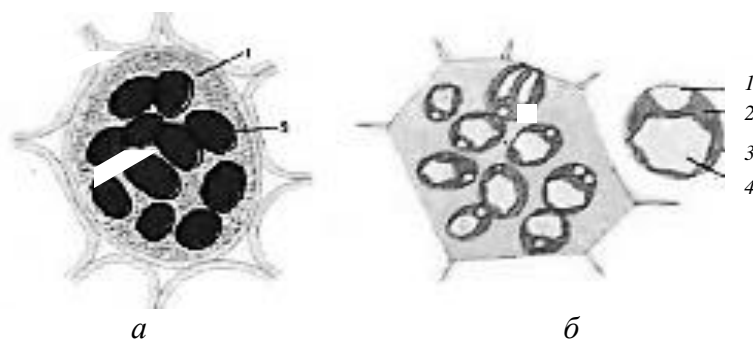


Рис. 5. Алейроновые зерна: *а* – простые; *б* – сложные: 1 – глобид; 2 – пространство, занимаемое аморфным белком; 3 – оболочка зерна; 4 – белковый крахмал

Зарисовать несколько клеток и обозначить амилопласты картофеля (крахмальные зерна), алейроновые зерна гороха (зерна белка).

**Задание 5.** Приготовить временный препарат из корешков лука для изучения митоза.

**Материал и оборудование:** микроскоп, зафиксированные корешки лука, рисовальный аппарат, ацетокармин, 45 % уксусная кислота, предметные и покровные стекла, лезвие, фильтровальная бумага, спиртовка, спички, препаровальная игла, постоянные препараты и микрофотографии с продольными срезами корешков лука.

Митоз – сложный тип деления, протекающий в соматических клетках и являющийся основным способом их размножения. В результате митоза из одной материнской клетки образуются две дочерние. Ядро каждой дочерней клетки имеет, как правило, такой же набор хромосом, какой был в исходной материнской клетке. В процессе митоза различают четыре последовательно идущие фазы: профазу, метафазу, анафазу и телофазу.

Ход выполнения работы:

1. На дно фарфоровой чашечки налить раствор ацетокармина и перенести

в него корешки лука.

2. С целью лучшего окрашивания объекта и одновременного мацерирования раствор ацетокармина с корешками нагревать над пламенем спиртовки до появления паров.

3. Краситель слить из чашки и корешки 2–3 раза промыть 45 % уксусной кислотой. При слабом окрашивании уксусной кислотой можно не промывать.

4. На предметное стекло нанести каплю 45 % уксусной кислоты и поместить в нее окрашенный корешок.

5. Лезвием бритвы отделить кончик корешка (конус нарастания) и накрыть его покровным стеклом.

6. Кончиком спички или деревянной палочки легкими ударами по покровному стеклу осторожно раздавить препарат и распределить клетки равномерно в один слой. Покровное стекло не должно смещаться. Избыток уксусной кислоты удалить фильтровальной бумагой.

7. Приготовленный препарат поместить на предметный столик микроскопа.

8. На препарате найти хорошие метафазные пластинки.

9. Зарисовать каждую хромосому на подобранной метафазной пластинке.

10. Установить зону деления клеток и подсчитать число клеток по каждой фазе митотического цикла.

11. Определить митотический индекс  $MI$  в промилле ( $‰$ ):

$$MI = \frac{(П + М + А + Т)}{И + П + М + А + Т} \cdot 1000,$$

где П – число клеток в профазе, М – в метафазе, А – в анафазе, Т – в телофазе, И – в интерфазе.

4. Полученные данные занести в таблицу 1 и произвести расчёт относительной длительности каждой фазы митоза. Например, для профазы этот показатель вычисляется следующим образом:

$$П = \frac{П \cdot 100}{П + М + А + Т} (\%).$$

Таблица 1. Определение митотического индекса в зоне деления корешков лука

Номер поля зрения под микроскопом	Число клеток					Митотический индекс, ‰
	Профаза (П)	Метафаза (М)	Анафаза (А)	Телофаза (Т)	Интерфаза (И)	

**Задание 6.** Приготовить временный препарат из цветков соцветий пшеницы, ржи для изучения мейоза.

**Материал и оборудование:** зафиксированные колосья пшеницы, микроскоп, рисовальный аппарат, ацетокармин, 45 % уксусная кислота, предметные

и покровные стекла, препаровальная игла, фильтровальная бумага, спиртовка и спички, пинцет.

Мейоз – особый вид деления клетки, протекающий в материнских клетках микроспор и мегаспор. При мейозе число хромосом уменьшается вдвое, диплоидное ядро превращается в гаплоидное; через комбинаторику гомологов из разных пар и через кроссинговер резко увеличивается комбинационная наследственная изменчивость организмов. В результате мейоза образуются споры, которые в дальнейшем дают начало мужскому гаметофиту (пыльце) и женскому гаметофиту (зародышевому мешку).

Мейоз состоит из двух циклов клеточного деления: первого приводящего к уменьшению числа хромосом вдвое, и второго, идущего по типу обычного митоза. Первое мейотическое деление включает профазу I, состоящую из лептотемы, зигонемы, пахинемы, диплонемы. За профазой I наступает метафаза I, анафаза I и телофаза I. В результате образуются две клетки, ядра которых с гаплоидным набором хромосом. Затем две клетки почти синхронно после недолгой подготовки приступают к следующему делению. Второе деление включает профазу II, метафаза II, анафаза II и телофаза II. После двух делений из одной клетки с диплоидным набором хромосом образуется четыре клетки с гаплоидным набором.

Для приготовления временных препаратов используют специально зафиксированные в период микроспорогенеза соцветия пшеницы, ржи, тритикале и других растений. Соцветия фиксируют целиком в измененном фиксаторе Карнуа (3:1) в течение 6 часов. После отмывки от фиксатора соцветия хранят в 70 % спирте.

Ход работы:

1. Из цветков соцветий пшеницы, ржи, овса пинцетом извлечь 2–3 пыльника.
2. Пыльники поместить на предметное стекло в каплю ацетокармина, раздавить препаровальной иглой, тщательно распределив по стеклу содержимое пыльника, стенки пыльника удалить со стекла.
3. Для лучшего окрашивания препарат подогреть на спиртовке 2 раза по 2 с.
4. С целью удаления избытка красителя на содержимое нанести каплю 45 % уксусной кислоты и накрыть покровным стеклом.
5. Препарат рассмотреть под микроскопом, найти соответствующие фазы мейоза и зарисовать их. Подсчитать число бивалентов в метафазе I мейоза.
6. Приготовить соответствующим образом препараты из средней и верхней части колоса пшеницы.

## **Лабораторная работа № 2. Строение и функции хромосом. Кроссинговер**

### **План работы:**

1. Число хромосом у сельскохозяйственных культур.

2. Идиограмма. Построение кариограмм сельскохозяйственных растений.
3. Определение основных морфологических параметров хромосом.
4. Приготовление ацетокарминовых препаратов для изучения гигантских хромосом из слюнных желез личинок дрозофилы и хирономуса.

5. Кроссинговер.

**Задание 1.** Изучить число хромосом у растений.

Выписать число хромосом основных видов культурных растений в таблицу 2.

Таблица 2. Соматическое число хромосом у растений

Название вида	Латинское название	2n
<b>Мятликовые – Poaceae (= Gramínea)</b>		
Ежа сборная	<i>Dactylis glomerata</i> L.	14; 28; 42
Кострец безостый	<i>Bromis inermis</i> Leyss.	28; 42; 56
Кукуруза	<i>Zea mays</i> L.	20
Лисохвост луговой	<i>Alopecurus pratensis</i> L.	28; 42
Мятлик луговой	<i>Poa pratensis</i> L.	28; 56; 70
Овес посевной	<i>Avena sativa</i> L.	42
Овсяница луговая	<i>Festuca pratensis</i> Huds.	14
Просо обыкновенное	<i>Panicum miiaceum</i> L.	36
Пшеница твердая	<i>Triticum durum</i> Desf.	28
Пшеница мягкая	<i>Triticum aestivum</i> L.	42
Райграс высокий	<i>Arrhenatherum elatius</i> M. et K.	14; 28; 42
Райграс многоукосный	<i>Lolium multiflorum</i> Lam.	14
Райграс пастбищный	<i>Lolium perenne</i> L.	14; 28
Райграс посевной	<i>Oryza sativa</i> L.	24
Рожь культурная	<i>Secale cereale</i> L.	14
Суданская трава	<i>Sorghum sudanense</i> (Piptr) Stapf	20
Тимофеевка луговая	<i>Phleum pratense</i> L.	14; 42
Ячмень двурядный	<i>Hordeum distichon</i> L.	14
Ячмень многорядный	<i>Hordeum vulgare</i> L.	14
<b>Бобовые – Fabaceae (= Leguminosae)</b>		
Вика крупноцветковая	<i>Vicia amphicarpa</i> L.	10
Вика узколистная	<i>Vicia angustifolia</i> L.	12
Вика мохнатая	<i>Vicia villosa</i> Roth	14
Горох посевной	<i>Pisum sativum</i> L.	14
Горох полевой (пелюшка)	<i>Pisum arvense</i> L.	14
Бобы конские	<i>Vicia faba</i> L.	12
Клевер луговой	<i>Trifolium pratense</i> L.	14
Клевер горный	<i>Trifolium montanum</i> L.	16
Клевер гибридный (розовый)	<i>Trifolium hybridum</i> L.	16
Клевер ползучий	<i>Trifolium repens</i> L.	32
Клевер средний	<i>Trifolium medium</i> L.	80; 96–98; 126
Люпин узколистный	<i>Lupinus angustifolius</i> L.	40
Люпин белый	<i>Lupinus albus</i> L.	48; 50
Люпин желтый	<i>Lupinus luteus</i> L.	52
Люцерна посевная	<i>Medicago sativa</i> L.	32
Лядвенец рогатый	<i>Lotus corniculatus</i> L.	24
Нут культурный	<i>Cicer arietinum</i> L.	16

Соя культурная	<i>Clicine hispida</i> Maxim.	38; 40
Фасоль обыкновенная	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	22
Чечевица культурная	<i>Lens esculenta</i> Moench	14
Чина посевная	<i>Lathyrus sativus</i> L.	14
Эспарцет песчаный	<i>Onobrychis arenaria</i> (Kit.) Ser.	14; 28
<b>Льновые – <i>Linaceae</i></b>		
Лен обыкновенный, долгунец	<i>Linum usitatissimum</i> L.	30; 32
<b>Капустные — <i>Brassicaceae</i> (=Cruciferae)</b>		
Капуста кочанная	<i>Brassica oleracea</i> L.	18
Рапс	<i>Brassica napus</i> L., ssp. <i>oleifera</i> Metzg.	38
Редька посевная	<i>Raphanus sativas</i> L.	18
Турнепс, репа	<i>Brassica rapa</i> L.	20
<b>Маревые — <i>Chenopodiaceae</i></b>		
Свекла обыкновенная	<i>Beta vulgaris</i> L.	18
<b>Гречишные – <i>Polygonaceae</i></b>		
Гречиха культурная	<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench	16
<b>Пасленовые – <i>Solanaceae</i></b>		
Баклажан	<i>Solanum melongena</i> L.	24
Картофель культурный	<i>Solanum tuberosum</i> L.	48
Томат	<i>Lucopersicum esculentum</i> Mill	24
<b>Лилейные – <i>Liliaceae</i></b>		
Лук-батун	<i>Allium fistulosum</i> L.	16
Лук репчатый	<i>Allium cepa</i> L.	16
Чеснок посевной	<i>Allium sativum</i> L.	16
<b>Розоцветные – <i>Rosales</i></b>		
Крыжовник	<i>Ribes grossularia</i> L.	16
Смородина обыкновенная	<i>Ribes vulgare</i> Lam.	16
Абрикос обыкновенный	<i>Armeniaca vulgaris</i> Lam.	16
Вишня обыкновенная	<i>Cerasus vulgaris</i> Mill.	32
Груша обыкновенная	<i>Pyrus communis</i> L.	34
Земляника лесная	<i>Fragaria vesca</i> L.;	14
Земляника мускатная (клубника)	<i>Fragaria moschata</i> Duch.	42
Земляника садовая	<i>Fragaria grandiflora</i> Ehrh.	56
Малина обыкновенная	<i>Rubus idaeus</i> L.	14
Персик обыкновенный	<i>Persica vulgaris</i> Mill.	16
Слива домашняя	<i>Prunus domestica</i> L.	48
Черешня	<i>Cerasus avium</i> Moench	16
Яблоня домашняя	<i>Malus domestica</i> Borkh	34; 51

**Задание 2.** Идиограмма. Построение кариограмм сельскохозяйственных растений.

Идиограмма – графическое изображение кариотипа с указанием размеров хромосом и особенностей их строения (систематизированный кариотип). Ее составление основано на измерении каждой хромосомы, учете длин плеч, положения центромер, вторичных перетяжек, спутников (рисунок б).

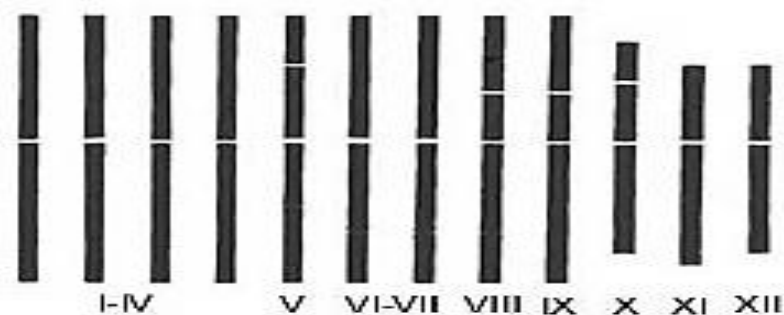


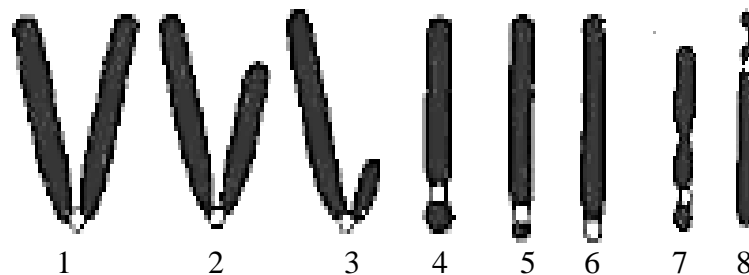
Рисунок 6. Идиограмма сосны обыкновенной,  $2n=2x=24$

Кариотип – определенное постоянное число, форма и размеры хромосом. Хромосомы имеют свою морфологию, к которой относят: длину плеч, положение центromеры (кинетохор), наличие вторичной перетяжки, спутника и др.

Для кариотипа постоянными являются нормальная длина каждой хромосомы и суммарная длина всех хромосом, а положение центromеры определяет морфологию хромосомы.

В зависимости от положения центromеры выделяют следующие типы хромосом:

- 1) метацентрические хромосомы (M) плечи примерно одинаковой длины, плечевой индекс – 1–1,9;
- 2) субметацентрические хромосомы (S) плечи разной длины (2–4,9);
- 3) акроцентрические хромосомы (A) центromера расположена вблизи одной из теломер (более 5);
- 4) головчатые хромосомы (более 8) (рисунок 7).



1 – метацентрические; 2 – субметацентрические; 3,4,5 – акроцентрические; 6 – телоцентрические; 6 – головчатые; 7 – акроцентрическая со вторичной перетяжкой; 8 – спутничная

Рисунок 7. Типы метафазных хромосом

Все хромосомы, входящие в кариотип можно расположить в виде кариограммы – «раскладка» всех хромосом, входящих в кариотип тестируемого объекта на бумаге путем подбора гомологичных пар и распределения по типам (в зависимости от положения центromеры) (рисунок 8).

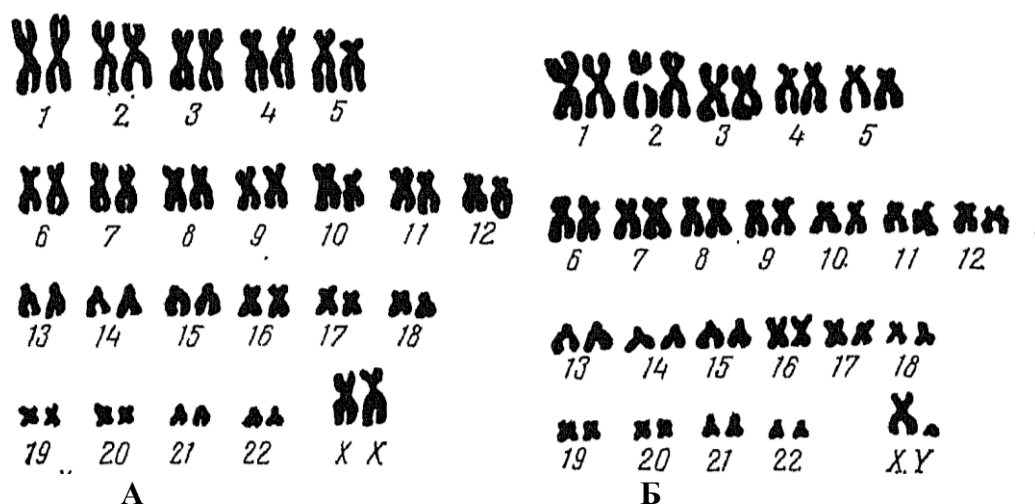


Рисунок 8. Кариограмма хромосом человека ( $2n=46$ ), А – женские хромосомы, Б – мужские хромосомы

**Материал и оборудование:** фотографии метафазных пластинок конских бобов (*Vicia faba*), ржи и других сельскохозяйственных культур; ножницы, клей, линейки, микрокалькуляторы.

**Задание. 3.** Определить основные морфологические параметры хромосом.

Ход работы:

1. Рассмотреть фотографии хромосом основных сельскохозяйственных культур.

2. Вырезанные хромосомы и наклеить на странице тетради с расположением в один ряд путем подбора гомологичных пар и распределить их по типам (от больших к маленьким).

3. Выполнить замеры плеч с использованием миллиметровой бумаги или линейки.

3. Важнейшие показатели, установленные при замере хромосом, занести в таблицу 3.

4. Замерить абсолютную длину каждой хромосомы ( $L^A$ ), в микрометрах.

Рассчитать следующие показатели:

**1) относительную длину хромосомы**

$$L^F = \frac{\text{длина хромосомы}}{\text{длина всех хромосом ядра}}, \%$$

**2) плечевой индекс**

$$I^B = \frac{\text{длина длинного плеча хромосомы}}{\text{длина короткого плеча хромосомы}}$$

**3) центромерный индекс**

$$I^C = \frac{\text{длина короткого плеча хромосомы}}{\text{длина всей хромосомы}}, \%$$

**4) индекс спирализации**

$$I^S = \frac{\text{суммарная длина двух коротких хромосом}}{\text{суммарная длина двух длинных хромосом}}, \%$$

Таблица 3. Показатели длин хромосом (культура)

№ пары гомологичных хромосом	№ хромосомы	Длина хромосом, мм			Параметры				
		Общая	Длинное плечо	Короткое плечо	Относительная длина $L^F$ , %	Плечевой индекс $I^B$	Центромерный индекс $I^C$ , %	Форма хромосомы	Индекс спирализации $I^S$ , %
I–VI	1 2								
	11 12								
и т. д.									

**Задание 4.** Приготовить ацетокарминовые препараты для изучения гигантских хромосом из слюнных желез личинок дрозофилы и хирономуса.

**Материал и оборудование:** живой материал – культивируемые личинки дрозофилы или мотыль (личинка комара *chironomus*), микроскоп, предметные стекла, покровные стекла, препаровальные иглы, физиологический раствор, бинокулярная лупа (может быть заменена микроскопом с малым увеличением), фильтровальная бумага, 45 % уксусная кислота, краска (ацетокармин или ацетоорсенин), постоянные препараты политенных хромосом личинки дрозофилы.

Для изучения строения хромосом целесообразно использовать препараты гигантских хромосом из слюнных желез двукрылых; их можно изготовить из слюнных желез личинок дрозофилы, хирономуса (мотыля). Слюнные железы личинок дрозофилы или мотыля представляют собой парное мешковидное образование с общим выводным протоком. Характерной особенностью клеток слюнных желез является то, что в них происходит эндомитоз, т.е. деление клетки завершается на стадии умножения хромосомных нитей, а деление ядра (кариокinesis) и цитоплазмы (цитокinesis) – образование двух дочерних клеток, как при обычном митозе – не происходит. В результате неоднократно повторяющихся эндомитозов в процессе развития личинки рост слюнных желез обеспечивается только за счет увеличения размеров ядер и самих клеток, число же их не меняется. Таким образом, возникают так называемые гигантские – политенные (многонитчатые) хромосомы.

Для того чтобы приготовить препарат гигантских хромосом, прежде всего следует извлечь сами слюнные железы.

1. На чистое предметное стекло в капельку физиологического раствора помещают самую крупную личинку. По движению определяют головной отдел ее (личинка движется головой вперед).

2. Одну препаровальную иглу накладывают на переднюю часть личинки, а другую – на середину ее (рисунок 9 а).

3. Придерживая второй иглой личинку, первую иглу тянут вперед и разрывают личинку. Вместе с оторванной головной частью личинки вытягивается пара прозрачных мешковидных образований (рисунок 9 б). Это и есть слюнные железы личинки. Если с оторванной головной частью личинки мешки не

вытягиваются, тогда приходится вынимать все органы передней части личинки и в этой «кашице» искать слюнные железы.

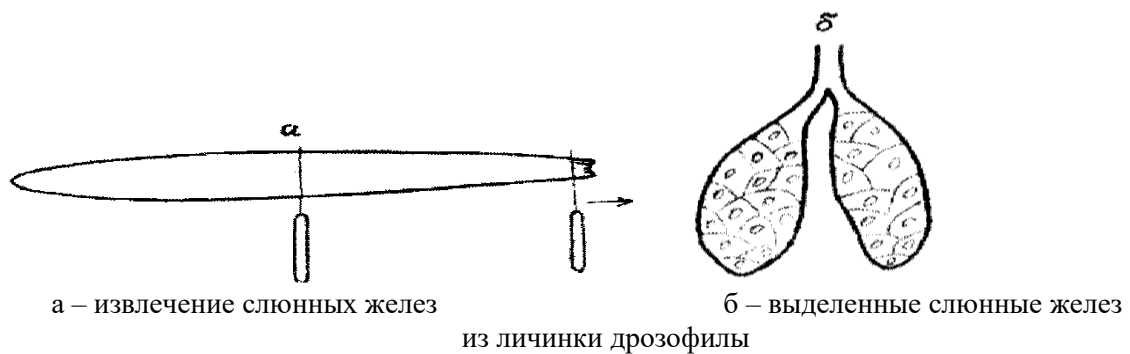


Рисунок 9. Слюнные железы и их извлечение

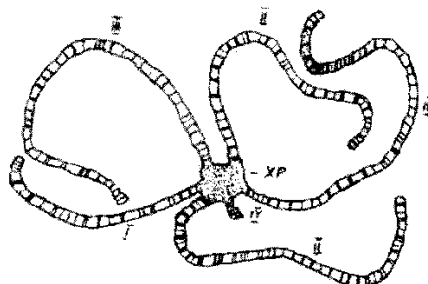
4. Под предметное стекло подложить однотонную темную пластинку для того, чтобы прозрачные мешки слюнных желез были видны более отчетливо. От других структур железы можно отличить по наличию в них клеток с крупными ядрами, контуры которых хорошо заметны без всякой окраски.

5. Выделенные слюнные железы освободить от посторонней ткани и капнуть каплю красителя. Прикрыть чашкой Петри и оставить на 15–20 минут при температуре +37 °С (если работа проводится при комнатной температуре, то время окраски приходится увеличить до 30 минут).

6. Окрашенные слюнные железы препаровальной иглой переносят на чистое обезжиренное предметное стекло в капельку 45 % уксусной кислоты, фильтровальной бумагой отсасывают кислоту, затем капают несколько капель свежей уксусной кислоты (удаляют лишнюю окраску).

7. Объект осторожно накрыть покровным стеклом. Фильтровальной бумагой осушают жидкость, выступающую за края покровного стекла. Затем накрывают препарат новой полоской фильтровальной бумаги, фиксируют положение покровного стекла и тупым концом препаровальной иглы давят на слюнные железы. Давить нужно довольно сильно, но так, чтобы не разбить стекло.

8. Изучить препарат под микроскопом. Должны быть видны длинные, окрашенные в розовый цвет клубки нитей гигантской хромосомы (рис. 10, 11).



ХР – хромоцентр, I, II, III, IV – соответствующие пары хромосом.

Рисунок 10. Гигантские хромосомы слюнных желез дрозофилы

Следует обратить внимание на рисунок 11. На нем видно, что центромерные (гетерохроматические) области всех хромосом объединены и образуют общий хромоцентр. От хромоцентра отходят четыре длинные нити (приблизительно равной длины). Это вторая и третья пара хромосом дрозофилы. И еще одна непарная хромосома (X-хромосома). Четвертую пару мелких, так называемых микрохромосом обычно не видно. Отчетливо прослеживается, что по всей своей длине хромосомы не однородны. Они состоят из светлоокрашенных и темноокрашенных дисков. Диски представляют собой эухроматические и гетерохроматические области гигантских политенных хромосом. Пользуясь фотографиями цитологических карт, можно идентифицировать все три пары хромосом. Следует отметить, что вместо восьми (четырёх пар) хромосом мы видим только четыре. Это является результатом того, что в слюнных железах гомологичные хромосомы находятся на стадии сильной конъюгации, поэтому вместо пары гомологичных хромосом мы видим только одну хромосому.

Приготовленный препарат рассматривают при малом увеличении микроскопа (7x8).

В центре клетки, где хромосомы расправлены, легче обнаружить центромеру (хромоцентр) в виде более ярко окрашенного узла. От него отходят хромосомы, следует рассмотреть детали строения при больших увеличениях (рисунок 54).



Рисунок 11. Часть гигантской политенной хромосомы слюнной железы мотыля (пуф отмечен стрелкой)

### **Задание 5. Кроссинговер.**

Различают полное и неполное сцепление генов при передаче признаков от родителей потомству.

Сцепленное наследование – это совместная передача признаков от родителей к потомкам, так как анализируемые гены расположены в одной паре гомологичных хромосом. Группа генов, наследующихся вместе называется полным сцеплением генов. Однако такое явление встречается редко. Чаще всего в мейозе на межгенном участке с той или иной вероятностью происходит кроссинговер (взаимный обмен генетического материала между гомологичными хромосомами), приводящий к нарушению сцепленного наследования и появлению рекомбинантных потомков, содержащих из двух анализируемых признаков один материнский и второй отцовский. Это явление называется неполным,

или частичным сцеплением.

Доля кроссоверных потомков в анализирующем скрещивании, выраженная в процентах (морганидах), называется силой сцепления. Она пропорциональна расстоянию между генами в паре гомологичных хромосом, поэтому используется для построения генетических карт хромосом.

**Вариант 1.** При анализирующем скрещивании тригетерозиготы получено потомство:

$F_1$ : 126 – AaBbCc,

10 – AaBbcc,

64 – AabbCc,

62 – Aabbcc,

68 – aaBbCc,

70 – aaBbcc,

14 – aabbCc,

133 – aabbcc

Проведите генетический анализ результатов анализирующего скрещивания.

Определите:

1. Тип наследования;
2. Карту исследуемого участка хромосомы, частоту кроссинговера между генами;
3. Расстояние между генами.

**Решение:** рецессивная особь всегда будет давать гаметы одного вида abc, отсюда можно найти генотипы  $F_1$  в гаплоидном виде:

126 – ABC,

10 – ABc,

64 – AbC,

62 – Abc,

68 – aBC,

70 – aBc,

14 – abC,

133 – abc.

Анализ сцепления генов А и В:

AB – 136 (126+10);

Ab – 126 (64+62);

aB – 138 (68+70);

ab – 147 (14+133);

Всего – 547.

Так как получены примерно равные доли генотипов, то можно говорить о независимом наследовании генов.

Анализ сцепления генов А и С:

AC – 190 (126+64);

Ac – 72 (10+62);

aC – 82 (68+14);

ac – 203 (70+133);

Всего – 547.

Однако, частота встречаемости гамет различная, следовательно, гены А и С наследуются сцепленно.

Некроссоверные гаметы АС – 190 и ас – 203, а кроссоверные гаметы Ас – 72 и аС – 82 АС % кроссинговера  $(72+82) / 547 \times 100 = 28,1$  %. Генотип АС и ас 3.

Анализируем наследование пары генов В и С:

ВС – 194 (126+68);

Вс – 80 (10+70);

вС – 78 (64+14);

вс – 195 (62+133).

Всего – 547.

По распределению гамет, гены наследуются сцепленно, отсюда некроссоверные ВС – 194 и вс – 195. Кроссоверные Вс – 80 и вС – 78 ВС % кроссинговера  $(80+78)/547 \times 100 = 28,9$  %. Генотип ВС и вс. Таким образом, гены А и В сцеплены с геном С, следовательно предположение о независимом наследовании генов А и В оказалось ошибочным. Для уточнения наследования генов А и В проведем анализ из сцепленного наследования. Некроссоверные АВ – 136 ав – 147. Кроссоверные Ав – 126 аВ – 138 всего – 547. АВ % кроссинговера  $(126+138)/547 \times 100 = 48,3$  %. Так как % кроссинговера близок к 50 %, это дает картину статистически неотличимую от независимого наследования. Генотип А В А в

Карта исследуемого участка хромосомы:

А \_\_\_\_\_ 28,1 \_\_\_\_\_ С \_\_\_\_\_ 28,9 \_\_\_\_\_ В

АВ = АС + СВ = 28,1 + 28,9 = 57%  $\neq 48,3$ , так как между генами возможен двойной кроссинговер АВс – 10 авС – 14, % двойного кроссинговера  $(10+14)/547 \times 100 = 4,4$  %. Отсюда АВ = 48,3 % + 2X 4,4 % = 57 %.

**Ответ:** Сцепленное наследование с двойным кроссинговером.

Карта исследуемого участка хромосомы:

А \_\_\_\_\_ 28,1 \_\_\_\_\_ С \_\_\_\_\_ 28,9 \_\_\_\_\_ В

Частота кроссинговера АС – 28,1 %; СВ – 28,9 %, АВ – 48,3 % 3. Расстояние между генами АС – 28,1 М; СВ – 28,9 М; АВ – 57 М.

**Вариант 2.** Гены А, В и С сцеплены и располагаются в хромосоме в указанном порядке. Гены наследуются с неполным сцеплением и двойным кроссинговером. При этом кроссинговер между генами А и В происходит с частотой 8 %, а между генами В и С – 25 %. Определите:

1. Расстояние между генами А и С;

2. Частоту кроссинговера между генами А и С;

3. Сколько и каких гамет будет образовываться у тригетерозиготы Аbc//aBC?

**Вариант 3.** Гомозиготное стелющееся растение гороха с окрашенными цветками скрещивается с гомозиготным кустистым растением с белыми цветками. В F<sub>2</sub> получилось следующее расщепление: 20 стелющихся с белыми

цветками 128 стелющихся с окрашенными цветками 30 кустистых с белыми цветками 22 кустистых с окрашенными цветками

1. Сделайте генетический анализ полученных результатов;
2. Определите генотипы родительских растений;
3. Определите генотипы и фенотипы растений  $F_1$ .

**Вариант 4.** Растение кукурузы, гетерозиготное по трем генам, скрещено с растением, гомозиготным по трем рецессивным аллелям этих генов. В потомстве наблюдалось следующее расщепление по фенотипу: ABD – 3200; abd – 3050; ABd – 800; aBD – 540; AbD – 90; aBd – 101; abD – 830; Abd – 451. Всего – 9062.

Определить расстояние между генами, порядок расположения их в хромосоме, генотип гетерозиготного родителя. Имеет ли место интерференция и каково ее значение?

**Решение.** Определим расстояние между генами А и В. Выпишем все возможные комбинации этих генов в гаметах и количество последних:

AB – 4000 (3200+800);  
Ab – 541 (90+451);  
ab – 3880 (3050+830);  
aB – 641 (540+101);  
Всего – 9062.

Видно, что гаметы образуются с разной вероятностью. Это свидетельствует о сцеплении генов. В расщеплении преобладают гаметы АВ и ab типа, которые и являются гаметами родительского класса. Гаметы же Ab и aB типа являются кроссоверными. Следовательно,  $(541+641)/9062 \cdot 100 = 13 \%$ .

Аналогичным образом определяем расстояние между генами В и D:

BD – 3740 (3200+540);  
Bd – 901 (800+101);  
bd – 3501 (3050+451);  
bD – 920 (830+90).

Видно, что, как и в предыдущем случае, гаметы образуются с разной вероятностью. Это свидетельствует о сцеплении генов. В расщеплении преобладают гаметы BD и bd, которые и являются гаметами родительского класса. Гаметы Bd и bD являются кроссоверными. Следовательно,  $(901+920)/9062 \cdot 100 = 20 \%$ .

Определяем расстояние между генами А и D:

AD – 3290 (3200+90);  
Ad – 1251 (800+451);  
ad – 3151 (3050+101);  
aD – 1370 (540+830).

В расщеплении преобладают гаметы AD и ad, которые являются гаметами родительского класса. Соответственно, гаметы Ad и aD являются кроссоверными. Следовательно,  $(1251+1370)/9062 \cdot 100 = 29 \%$ .

При построении генетической карты локализуют прежде всего те гены, которые наиболее удалены друг от друга, а затем располагают третий ген, учитывая частоты кроссинговера.



После построения генетической карты региона следует определить генотип тригетерозиготы. Это можно сделать по родительским комбинациям генов в расщеплении так как гаметы с такими комбинациями должны количественно преобладать над остальными типами гамет. В нашем случае это гаметы ABD и abd. Следовательно, генотип тригетерозиготы ABD//abd.

Как видно из генетической карты региона, в анализируемом нами случае не соблюдается принцип аддитивности расстояний:  $29\% \neq 20\% + 13\%$ . Это противоречие обусловлено тем, что при определении частоты кроссинговера между крайними генами нами дважды не учитывался двойной кроссинговер. Гаметы с двойным кроссинговером будут двух типов: AbD и aBd. Следовательно, двойной кроссинговер происходит с частотой  $2\%$  двойной  $(90+101)/9062 \cdot 100 = 2\%$ .

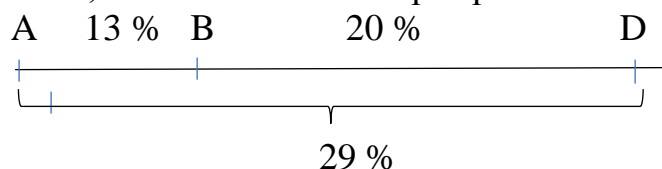
Отсюда уточненное расстояние между двумя крайними генами A и D будет равно  $29\% + (2 \times 2\%) = 33\%$ .

Имеет ли место интерференция и каково ее значение, для этого необходимо определить коэффициент коинциденции.

$$C = 0,02 / 0,2 \cdot 0,13 = 0,77.$$

Тогда  $I = 1 - 0,77 = 0,23$ . Это означает, что имеет место положительная интерференция, т. е. обмен на одном участке хромосомы препятствует одновременному обмену на соседнем участке.

**Ответ.** Генотип тригетерозиготы ABD//abd; AB = 13 %, BD = 20, AD = 33 %; I = +0,23. Генетическая карта региона:



**Вариант 5.** Локусы A, B и C сцеплены. Определение расстояний с помощью дигибридных анализирующих скрещиваний дало следующие результаты: BaC = 22 %, АвС = 26,5 %, ВсА = 8 %.

1. Определите взаимное расположение генов. Почему расстояние между крайними генами меньше суммы расстояний между ними и средним геном?

2. Вычислите теоретическую частоту гамет, образующихся в результате двойного кроссинговера.

3. Рассчитать коэффициенты коинциденции и интерференции.

**Вариант 6.** Проведите генетический анализ результатов анализирующего скрещивания тригетерозиготы AaBbCc: abc – 2; Abc – 136; abC – 4; AbC – 92; aBc – 96; ABc – 6; aBC – 144. Всего: 480.

Определить расстояние между генами, порядок расположения их в хромосоме, генотип гетерозиготного родителя. Имеет ли место интерференция и каково ее значение?

**Вариант 7.** Проведите генетический анализ результатов анализирующего скрещивания тригетерозиготы  $AaBbCc$ :  $AbC - 344$ ;  $Abc - 2$ ;  $ABc - 6$ ;  $AbC - 4$ ;  $ABC - 4$ ;  $ABc - 328$ . Всего: 688.

Определить расстояние между генами, порядок расположения их в хромосоме, генотип гетерозиготного родителя. Имеет ли место интерференция и каково ее значение?

#### Лабораторная работа № 4.

#### Нуклеиновые кислоты, как материальные носители наследственности.

##### План занятий

1. Нуклеиновые кислоты: ДНК, РНК.
2. Количественные параметры ДНК.
3. Процессы транскрипции и трансляции.

**Вариант 1.** Хромосомный набор соматических клеток картофеля равен 48. Определите хромосомный набор и число молекул ДНК в одной из клеток во время фаз митоза.

Решение:

Используя закономерности преобразования генетического материала во время митоза, определим количество и состояние генетического материала по фазам митоза:

Профаза  $2n4c$ , следовательно у картофеля 48 хромосом, а число ДНК в соматических клетках равно 96;

Метафаза  $2n4c$ , следовательно у картофеля 48 хромосом, а число ДНК в соматических клетках равно 96;

Анафаза  $4n4c$ , следовательно у картофеля 96 хромосом и число ДНК в соматических клетках равно 96;

Телофаза  $2n2c$ , следовательно у картофеля 48 хромосом и число ДНК в соматических клетках равно 48;

**Вариант 2.** Участок одной из двух цепей молекулы ДНК содержит 300 нуклеотидов с аденином (А), 200 нуклеотидов с тиминном (Т), 50 нуклеотидов с гуанином (Г) и 200 нуклеотидов с цитозином (Ц). Какова длина этого участка двуцепочечной молекулы ДНК, если известно, что линейная длина одного нуклеотида – 0,34 нм?

Сколько водородных связей образуется между двумя цепями молекулы ДНК на этом участке?

Решение:

В указанном участке цепи ДНК 750 нуклеотидов, значит, его длина составляет  $750 \cdot 0,34 = 255$  нм.

Аденин с тиминном соединяются двумя водородными связями, а гуанин с цитозином – тремя:

$(300 + 200) \cdot 2 + (50 + 200) \cdot 3 = 1750$  водородных связей.

**Вариант 3.** Хромосомный набор соматических клеток люпина узколистного равен 40. Определите хромосомный набор и число молекул ДНК в одной из клеток во время фаз митоза.

**Вариант 4.** Хромосомный набор соматических клеток озимой ржи равен 14. Определите хромосомный набор и число молекул ДНК в одной из клеток во время фаз митоза.

**Вариант 5.** Хромосомный набор соматических клеток клевера лугового равен 14. Определите хромосомный набор и число молекул ДНК в одной из клеток во время фаз митоза.

**Вариант 6.** Фрагмент молекулы ДНК (двойной спирали) имеет длину 68 нм и содержит 120 адениновых нуклеотидов (А). Рассчитайте процентное содержание всех типов нуклеотидов, входящих в состав данного фрагмента ДНК.

**Вариант 7.** Определите процентное содержание нуклеотидов с аденином, тиминном, гуанином и цитозином участка молекулы ДНК, в которой 80 нуклеотидов соединяются между собой двумя водородными связями и 40 нуклеотидов – тремя водородными связями. Объясните полученные результаты.

**Вариант 8.** Фрагмент молекулы ДНК содержит 280 остатков нуклеотидов цистеина, что составляет 14 % от общего количества нуклеотидов. Определите длину фрагмента молекулы ДНК.

**Вариант 9.** Одна из цепочек молекулы ДНК имеет следующее чередование нуклеотидов: 5' Ц-А-Ц-А-Г-А-А-Ц-Ц-Ц-Т-Т-Т-Т-Т-Ц-Т-А-Ц-Г-А-Ц-Т-А-А-Т-А-А-Ц-А-А-Т-А-А-Т-Т ... 3'.

1. Постройте комплементарную цепочку молекулы ДНК.
2. Определите количественные параметры ДНК.
3. Проведите транскрипцию.
4. Смоделируйте трансляцию.
5. Сколько аминокислот в данном белке.
6. Определите коэффициент специфичности для данной молекулы ДНК.
7. Выпишите все антикодоны, участвующие в данном синтезе.

**Вариант 10.** Одна из цепочек молекулы ДНК имеет следующее чередование нуклеотидов: 5' Г-А-Г-Г-Ц-А-Г-Г-Т-Ц-Т-Т-Г-Т-А-Ц-Т-А-Т-Т-Т-Г-Г-А-А-Г-А-Т-Т-Т-Ц-А-Г-А-Т-А ... 3'.

1. Постройте комплементарную цепочку молекулы ДНК.
2. Определите количественные параметры ДНК.
3. Проведите транскрипцию.
4. Смоделируйте трансляцию.
5. Сколько аминокислот в данном белке.
6. Определите коэффициент специфичности для данной молекулы ДНК.
7. Выпишите все антикодоны, участвующие в данном синтезе.

**Таблица 5.1. Последовательность нуклеотидов в кодонах и-РНК для разных аминокислот**

		Второе положение нуклеотида				
		<b>У</b>	<b>Ц</b>	<b>А</b>	<b>Г</b>	
Первое положение нуклеотида	<b>У</b>	УУУ – Фенилаланин (фен)	УЦУ – Серин (сер)	УАУ – Тирозин (тир)	УГУ – Цистеин (цис)	<b>У</b>
		УУЦ – Фенилаланин (фен)	УЦЦ – Серин (сер)	УАЦ – Тирозин (тир)	УГЦ – Цистеин (цис)	<b>Ц</b>
		УУА – Лейцин (лей)	УЦА – Серин (сер)	УАА – Охра	УГА – Опал	<b>А</b>
		УУГ – Лейцин (лей)	УЦГ – Серин (сер)	УАГ – Амбер	УГГ – Триптофан (три)	
	<b>Ц</b>	ЦУУ – Лейцин (лей)	ЦЦУ – Пролин (про)	ЦАУ – Гистидин (гис)	ЦГУ – Аргинин (арг)	<b>У</b>
		ЦУЦ – Лейцин (лей)	ЦЦЦ – Пролин (про)	ЦАЦ – Гистидин (гис)	ЦГЦ – Аргинин (арг)	<b>Ц</b>
		ЦУА – Лейцин (лей)	ЦЦА – Пролин (про)	ЦАА – Глутамин (глун)	ЦГА – Аргинин (арг)	<b>А</b>
		ЦУГ – Лейцин (лей)	ЦЦГ – Пролин (про)	ЦАГ – Глутамин (глун)	ЦГГ – Аргинин (арг)	
	<b>А</b>	АУУ – Изолейцин (илей)	АЦУ – Треонин (тре)	ААУ – Аспарагин (аспн)	АГУ – Серин (сер)	<b>У</b>
		АУЦ – Изолейцин (илей)	АЦЦ – Треонин (тре)	ААЦ – Аспарагин (аспн)	АГЦ – Серин (сер)	<b>Ц</b>
		АУА – Метионин (мет)	АЦА – Треонин (тре)	ААА – Лизин (лиз)	АГА – Аргинин (арг)	<b>А</b>
		АУГ – Метионин (мет)	АЦГ – Треонин (тре)	ААГ – Лизин (лиз)	АГГ – Аргинин (арг)	
<b>Г</b>	ГУУ – Валин (вал)	ГЦУ – Аланин (ала)	ГАУ – Аспарагиновая кислота (асп)	ГГУ – Глицин (гли)	<b>У</b>	
	ГУЦ – Валин (вал)	ГЦЦ – Аланин (ала)	ГАЦ – Аспарагиновая кислота (асп)	ГГЦ – Глицин (гли)	<b>Ц</b>	
	ГУА – Валин (вал)	ГЦА – Аланин (ала)	ГАА – Глутаминовая кислота (глу)	ГГА – Глицин (гли)	<b>А</b>	
	ГУГ – Валин (вал)	ГЦГ – Аланин (ала)	ГАГ – Глутаминовая кислота (глу)	ГГГ – Глицин (гли)		

Третье положение нуклеотида

**Вариант 11.** Фрагмент молекулы и-РНК содержит следующую последовательность нуклеотидов: ЦЦУ-УУУ-ААА-УАА-УГГ-ГАА-УЦА-АУУ-УАУ.

1. Смоделируйте трансляцию.
2. Сколько аминокислот участвует в данном синтезе.
3. Выпишите все антикодоны, участвующие в синтезе белка.
4. Постройте молекулу ДНК.
5. Сколько нуклеотидов цитозина находится в комплементарной цепочке молекулы ДНК.
6. Определите длину структурного гена.
7. Рассчитайте коэффициент специфичности.

**Вариант 12.** Даны следующие антикодоны: ГУУ, ААА, УАА, УГГ, ГАА, ГЦА, ЦУГ, ЦУУ, УАУ.

1. Выпишите все кодоны, участвующие в синтезе белка.

2. Смоделируйте трансляцию.
3. Сколько разных аминокислот участвует в данном синтезе.
4. Постройте молекулу ДНК.
5. Сколько нуклеотидов гуанина содержится данной молекуле ДНК.
6. Определите длину структурного гена.
7. Рассчитайте коэффициент специфичности.

**Вариант 13.** Даны следующие антикодоны: УАЦ, АЦА, УАА, УГГ, ГАА, ГЦА, ЦУГ, АУУ, УАУ.

1. Выпишите все кодоны, участвующие в синтезе белка.
2. Смоделируйте трансляцию.
3. Сколько разных аминокислот участвует в данном синтезе.
4. Постройте молекулу ДНК.
5. Сколько нуклеотидов аденина в комплементарной цепочке молекулы ДНК.
6. Определите длину структурного гена.
7. Рассчитайте коэффициент специфичности.

**Вариант 14.** Даны следующие антикодоны: УАУ, АЦА, УАГ, УГГ, ГУА, ГЦЦ, ЦУГ, АУУ, УАУ.

1. Выпишите все кодоны, участвующие в синтезе белка.
2. Смоделируйте трансляцию.
3. Сколько разных аминокислот участвует в данном синтезе.
4. Постройте молекулу ДНК.
5. Сколько нуклеотидов аденина в комплементарной цепочке молекулы ДНК.
6. Определите длину структурного гена.
7. Рассчитайте коэффициент специфичности.

**Вариант 15.** Анализируемый участок белка включает следующие аминокислоты: тирозин – гистидин – валин – треонин – цистеин – аспарагин – глицин – аланин – аспаргиновая кислота – метионин.

1. Постройте молекулу и-РНК по данному участку белка.
2. Сколько молекул аденина в ней содержится?
3. Постройте молекулу ДНК.
4. Определите длину структурного гена.
5. Рассчитайте коэффициент специфичности.
6. Сколько молекул тимина содержится в комплементарной цепочке молекулы ДНК.
7. Выпишите т-РНК, участвующие в данном биосинтезе. Сколько их разных?

**Вариант 16.** Анализируемый участок белка включает следующие аминокислоты: лизин – тирозин – фенилаланин – валин – аспаргиновая кислота – глутамин – гистидин – лейцин – цистеин – глицин – серин – гистидин.

1. Постройте молекулу и-РНК по данному участку белка.
2. Сколько молекул аденина в ней содержится?
3. Постройте молекулу ДНК.
4. Определите длину структурного гена.

5. Рассчитайте коэффициент специфичности.
6. Сколько молекул тимина содержится в комплементарной цепочке молекулы ДНК.
7. Выпишите т-РНК, участвующие в данном биосинтезе. Сколько их разных?

**Вариант 17.** Анализируемый участок белка включает следующие аминокислоты: гистидин – лейцин – треонин – пролин – глутаминовая кислота – глутаминовая кислота – лизин – изолейцин.

Требуется восстановить весь процесс биосинтеза и определить количественные параметры.

**Вариант 18.** Анализируемый участок белка включает следующие аминокислоты: глутамин – глицин – аспарагиновая кислота – валин – тирозин – валин – пролин – валин – гистидин – фенилаланин.

Требуется восстановить весь процесс биосинтеза и определить количественные параметры.

### Лабораторная работа № 5.

#### Генетическая инженерия как наука ее основы и методы.

#### Ферменты, применяемые в генной инженерии. Построение карт

#### План занятий:

1. Представления о науке генетическая инженерия.
2. Развитие генетической инженерии.
3. Основные методы генетической инженерии и их использование в сельскохозяйственном производстве.
4. Ферменты, используемые в генетической инженерии растений.
5. Построение генетических карт хромосом.

Для составления карт хромосом рассчитывают взаимное расстояние между отдельными парами генов и затем определяют расположение этих генов относительно друг друга.

Так, например, если три гена расположены в следующем порядке: А В С, то расстояние между генами А и С (процент рекомбинаций) будет равно сумме расстояний (процентов рекомбинаций) между парами генов АВ и ВС.

Если гены расположены в порядке: А С В, то расстояние между генами А и С будет равно разности расстояний между парами генов АВ и СВ.

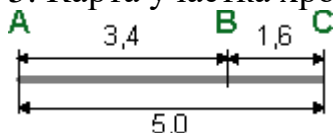
**Вариант 1.** При анализирующем скрещивании тригетерозиготы АаВвСс были получены организмы, соответствующие следующим типам гамет:

АВС – 47,5%	}	Построить карту этого участка хромосомы.
abc – 47,5%		
Abc – 1,7%		
aBC – 1,7%		
ABc – 0,8%		
abC – 0,8%		

Решение:

1. Расщепление при анализирующем скрещивании, близкое к 1:1, указывает на то, что все три пары генов находятся в одной хромосоме.
2. Расстояние между генами А и В равно:  $1,7 + 1,7 = 3,4$  М.
3. Расстояние между генами В и С равно:  $0,8 + 0,8 = 1,6$  М.
4. Ген В находится между генами А и С. Расстояние между генами А и С равно:  $1,7 + 1,7 + 0,8 + 0,8 = 5,0$  М.

5. Карта участка хромосомы:



**Вариант 2.** При скрещивании высокого растения томата со сложными соцветиями и карликового растения с простыми соцветиями все потомство получилось высоким с простыми соцветиями. В анализирующем скрещивании гибридного потомства получились четыре разные фенотипические группы, две из них составили по 20 % от общего количества потомков. Составьте схемы скрещиваний. Укажите генотипы, фенотипы родительских особей и генотипы, фенотипы, долю каждой группы потомков в анализирующем скрещивании. Постройте генетическую карту для указанных выше генов, укажите на ней местоположение каждого гена и расстояние (в %) между ними, определите тип наследования генов, указанных выше признаков.

**Вариант 3.** При скрещивании растения томата со сложными соцветиями, опушёнными плодами и растения с простыми соцветиями, гладкими плодами всё потомство получилось с простыми соцветиями, опушёнными плодами. В анализирующем скрещивании гибридного потомства получилось четыре разные фенотипические группы, две из них составили по 8 % от общего количества потомков. Составьте схемы скрещиваний. Укажите генотипы, фенотипы родительских особей и генотипы, фенотипы, долю каждой группы потомков в анализирующем скрещивании. Постройте генетическую карту для указанных выше генов, укажите на ней местоположение каждого гена и расстояние (в %) между ними, определите тип наследования генов, указанных выше признаков.

### Темы рефератов

1. Революция в редактировании генов.
2. Генетическая инженерия в сельском хозяйстве.
3. Проблемы использования генетически модифицированных объектов.
4. Биография П. Берга, как основоположника генетической инженерии.

### Лабораторная работа № 6.

#### Молекулярно-генетические маркеры и их использование.

#### Влияние мутагенеза в изменение и анализ последовательностей ДНК

#### План работы:

1. Молекулярно-генетические маркеры.

2. Использование молекулярно-генетических маркеров в сельскохозяйственном производстве.
3. Мутагены, используемые в генетической инженерии.
4. Анализ изменений в молекуле ДНК.

### Темы рефератов

1. Характеристика молекулярных маркеров, применяемых для генетического анализа сортов культурных растений.
2. Направленный мутагенез и белковая инженерия.
3. Принципы подбора мутагенов в генетической инженерии.
4. Достижения и проблемы в изменении последовательности нуклеотидов в молекуле ДНК для сельскохозяйственного производства.

**Вариант 1.** Участок молекулы ДНК, кодирующий полипептид, имеет в норме следующий порядок азотистых оснований: ААА–АЦЦ–ААА–АТА–ЦТТ–АТА–ЦАА... Во время репликации третий слева аденин выпал из цепи. Как изменится при этом первичная структура белка?

**Вариант 2.** На участке полипептидной цепи белковой молекулы чередование аминокислот: аланин – цистеин – гистидин – лейцин – метионин – тирозин. В результате точковой мутации 11-й нуклеотид аденин оказался замененным на цитозин, а в 12-м нуклеотиде тимин – на цитозин.

Пользуясь цифровыми обозначениями аминокислот (см. табл. 6.1), укажите, какая из них будет кодироваться в результате данной точковой мутации.

**Вариант 3.** На участке одной из цепей фермента рибонуклеазы следующее чередование аминокислот: валин – гистидин – фенилаланин – аспарагин – аланин – серин – валин. Пользуясь цифровыми обозначениями аминокислот (см. табл. 6.1), постройте молекулу и-РНК.

1. Постройте молекулу ДНК.

2. Укажите, какая из аминокислот будет включена в данную цепочку, если в результате точковой мутации в 13-м нуклеотиде на данном участке молекулы ДНК цитозин заменится на тимин.

**Вариант 4.** Одна из цепей фермента рибонуклеазы имеет следующее чередование аминокислот: глутамин – глицин – аспарагиновая кислота – пролин – тирозин – валин – пролин. Пользуясь цифровыми обозначениями аминокислот (см. табл. 6.1), постройте молекулу и-РНК.

1. Постройте молекулу ДНК.

2. В результате точковой мутации 8-й нуклеотид молекулы ДНК изменился, и вместо азотистого основания тимина стал цитозин. Укажите, какая аминокислота будет кодироваться измененным триплетом.

**Вариант 5.** Одна из полипептидных цепочек глюкогена имеет следующий порядок чередования аминокислот: треонин – серин – аспарагин – тирозин – серин – лизин – серин. Пользуясь цифровыми обозначениями аминокислот (см. табл. 6.1), постройте молекулы и-РНК и ДНК.

В молекуле ДНК, кодирующей данный участок, произошла точковая

мутация, в результате которой 13-й нуклеотид аденин заменился на тимин. Какую аминокислоту в данной полипептидной цепочке будет кодировать измененный триплет ДНК?

Таблица 6.1. Последовательность нуклеотидов в кодонах и-РНК для разных аминокислот

Аминокислота	Кодоны					
	1	2	3	4	5	6
Фенилаланин (фен)	УУУ	УУЦ				
Лейцин (лей)	УУА	УУГ	ЦУУ	ЦУЦ	ЦУА	ЦУГ
Изолейцин (илей)	АУУ	АУЦ				
Метионин (мет)	АУГ	АУА				
Валин (вал)	ГУУ	ГУЦ	ГУА	ГУГ		
Серин (сер)	УЦУ	УЦЦ	УЦА	УЦГ	АГУ	АГЦ
Пролин (про)	ЦЦУ	ЦЦЦ	ЦЦА	ЦЦГ		
Треонин (тре)	АЦУ	АЦЦ	АЦА	АЦГ		
Аланин (ала)	ГЦУ	ГЦЦ	ГЦА	ГЦГ		
Тирозин (тир)	УАУ	УАЦ				
Гистидин (гис)	ЦАУ	ЦАЦ				
Аспарагиновая кислота (асп)	ГАУ	ГАЦ				
Лизин (лиз)	ААА	ААГ				
Глутамин (глун)	ЦАА	ЦАГ				
Цистеин (цис)	УГУ	УГЦ				
Триптофан (три)	УГГ					
Аргинин (арг)	ЦГУ	ЦГЦ	ЦГА	ЦГГ	АГА	АГГ
Аспарагин (аспн)	ААУ	ААЦ				
Глутаминовая кислота (глу)	ГАА	ГАГ				
Глицин (гли)	ГГУ	ГГЦ	ГГА	ГГГ		
Охра	УАА					
Амбер	УАГ					
Опал	УГА					

### Лабораторная работа № 7.

#### Векторные молекулы ДНК и их конструирование. Методы получения рекомбинантных молекул ДНК и введение их в клетки реципиента.

#### Идентификация и отбор. Библиотека генов

#### План работы:

1. Векторные молекулы ДНК для растений.
2. Методика получения рекомбинантных молекул ДНК.
3. Методы введения рекомбинантных ДНК в клетки реципиента.
4. Анализ полученных клеток с введенными рекомбинантными молекулами ДНК.
5. Отбор объектов с рекомбинантными молекулами ДНК.
6. Библиотека генов.

#### Темы для рефератов

1. Плазмиды (pBR322, pUC).

2. Бактериофаги.
3. Вирусы бактерий.
4. Космиды и фазмиды.
5. Искусственные хромосомы.
6. Способы конструирования векторных молекул ДНК.
7. Электропорационный метод введения ДНК в клетки растений.
8. Метод слияния липосом.
9. Введение ДНК в клетки растений с помощью микроинъекций.
10. Биобаллистический метод введения ДНК в клетки растений.
11. Метод трансформации протопластов.
12. Метод трансформации хлоропластов.
13. Метод введения ДНК в клетки растений с использованием вирусов.
14. Метод введения ДНК в клетки растений с использованием Ti- и Ri-плазмид.
15. Рекомбинантные молекулы ДНК – анализ и отбор.
16. Значение библиотеки генов.

### **Лабораторная работа № 8.**

## **Генная инженерия растений. Методы получения трансгенных растений устойчивых к различным факторам**

### **План работы:**

1. Цель генетической инженерии растений.
2. Основные направления для создания трансгенных растений.
3. Использование трансгенных растений.

### **Темы рефератов**

1. Методические подходы к созданию трансгенных растений.
2. Этапы получения трансгенных растений.
3. Создание трансгенных растений с повышенной общей продуктивностью.
4. Создание трансгенных растений устойчивых к насекомым и вредителям.
5. Создание трансгенных растений устойчивых к гербицидам.
6. Создание трансгенных растений устойчивых к стрессовым факторам.
7. Продукция белков, антител в трансгенных растениях (интерферон, иммуноглобулин).
8. Трансгенные растения как будущее сельского хозяйства.
9. Проблемы биобезопасности использования трансгенных растений.
10. Этические проблемы использования генно-модифицированных объектов растений.