

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
по выполнению лабораторных работ по дисциплине
«Большой практикум по генетике»

Направление подготовки	06.03.01 Биология
Направленность (профиль)	Генетика, селекция и биоинформатика

Ставрополь, 2026

Лабораторная работа № 1

Изучение морфологических особенностей *Drosophila melanogaster*. Определение самок и самцов вида *Drosophila melanogaster*.

Цель занятия: познакомить студентов с внешним строением дрозофилы, особенностями ее разведения, длительностью различных стадий жизненного цикла.

Материалы и оборудование: 1. пробирки с мухами дрозофилами (*Drosophila melanogaster*). 2. набор для работы с дрозофилой: капельница с эфиром, морилки (пробирки с ватными пробками), доска для работы с мухами, голубиное маховое перо.

Дрозофила является очень удобным объектом для генетических исследований и чисто учебных целей. Четыре наиболее важные особенности: 1) небольшой срок развития от яйца до взрослой мухи; 2) исключительно высокая плодовитость; 3) богатство наследственных рас или мутаций; 4) малое число хромосом.

Дрозофила впервые была использована в лабораторных опытах Карпентером для разработки некоторых биологических вопросов в самом начале прошлого столетия. В 1910 г. Т.Х. Морганом была обнаружена первая мутационно возникшая наследственная раса (мутант) дрозофилы, а именно белоглазая (white). Начиная с этого времени дрозофилу, усиленно начали изучать при проведении генетического и цитологического анализов ближайшими сотрудниками Моргана (Стэртевант, Мёллер и Бриджес).

Ряд теоретических вопросов генетики искусственное получение мутации и природа гена, определение пола и локализация половых факторов в хромосомах, проблемы экспрессии гена, генетика популяции, механизм расо- и видообразования и многие другие проблемы интенсивно изучаются на дрозофиле. Эти и другие исследования имеют важное значение не только в генетике, но и в решении вопросов общей биологии и эволюции видов.

Drosophila melanogaster, иначе плодовая, или уксусная муха, принадлежит к семейству *Drosophilidae* из отряда *Diptera*. Это очень мелкая мушка, величиной около 2-3 мм, с ярко-красными глазами и серым телом.

Родиной *Dr. melanogaster* считается Индо-малайская область. В настоящее время она почти космополит и населяет Северную и Южную Америку, Африку, Австралию, Японию и Южную Европу (до Северной Франции). В пределах России *Dr. melanogaster* обычна на Кавказе. На севере этот вид встречается до 60° северной широты, куда он проникает в летнее время вместе с потоком фруктов и овощей.

Питается дрозофила ферментируемыми фруктами, овощами, древесным соком. В лабораториях мух разводят на питательной среде, составляемой по разным рецептам.

Краткое описание: дрозофила относится к той её расе или форме, которая обитает в природе и поэтому носит название дикой (wild type), или нормальной (Normal).

В лабораторных условиях нормальной температурой для дрозофилы надо считать 24-25 °С. При температуре несколько превышающей 31 °С она становится бесплодной полностью или частично.

При нормальной температуре цикл развития дрозофилы от яйца до взрослой мухи длится приблизительно 10 суток. Развитие яйца составляет 20 часов, а развитие личинки и куколки 8 суток, то есть по 4 суток соответственно. Таким образом, имеется возможность получать в год 40 поколений дрозофил.

С понижением температуры развитие сильно замедляется. Так, при 10 °С личиночный период растягивается до 57 дней, а куколочный - до 13-14 дней: при 20°С сроки соответственно равны 8 и 6,3 дня.

Продолжительность жизни взрослой мухи, то есть с момента вылупления её из куколки, в лабораторных условиях равна 3 - 4 неделям и в значительной мере зависит от условий содержания (температуры, влажности, пищи, плотности населения, наличия в питательной среде бактерий). В специальных опытах дрозофилы жили до 152 дней. Жизнеспособность мутантов в большинстве случаев понижена по сравнению с диким типом, хотя известны

мутационные расы, обладающие повышенной по сравнению с нормальными мухами жизнеспособностью.

Самки и самцы дрозофилы несколько отличаются по величине и по ряду других морфологических признаков.

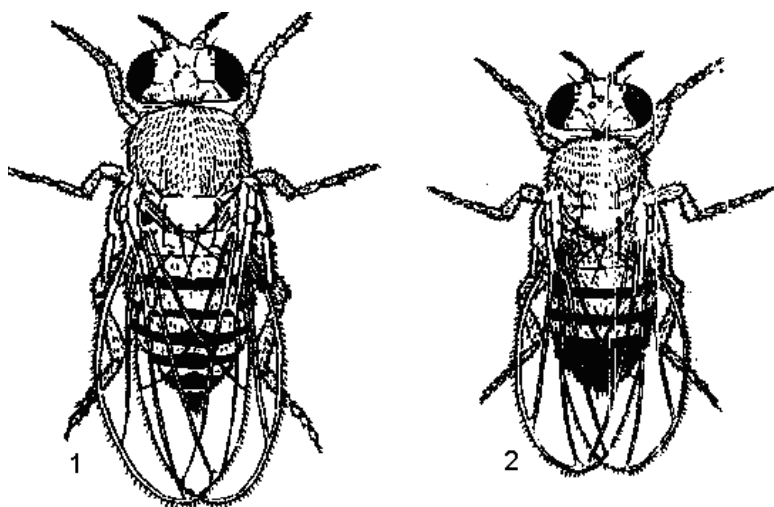


Рис.1. Дрозофила: 1 - самка; 2 - самец.

Самки несколько крупнее самцов (рис. 1). Брюшко у самки более округлое с заостренным концом; у самца оно более цилиндрическое с притупленным концом и сильно пигментированными (черными) несколькими последними тергитами. Тергитами у насекомых называют скелетные хитиновые пластинки брюшка со спинной стороны. У самки имеется 8 хорошо развитых тергитов, у самца - 6, причём шестой и седьмой тергиты слиты, а восьмой вошел в состав полового аппарата. Стернитами называют такие же хитиновые пластинки с брюшной стороны. У самки их 4, у самца - 3.

К числу вторичнополовых признаков относятся половые гребешки самца, представляющие собой ряд крепких хитиновых щетинок на правом членике лапки передних ног. У самки половые гребешки отсутствуют.

Лабораторная работа № 2

Приготовление питательных сред. Инвентарь и инструменты для работы с дрозофилой.

Цель занятия: познакомить студентов с различными по составу питательными средами; приготовление студентами питательной среды для постановки скрещиваний

Материалы и оборудование: 1. ингредиенты для приготовления питательной среды. 2. оборудование для приготовления питательной среды (кастрюля, стакан, весы, разновесы).

Главными составными частями среды, на которой разводят дрозофилу в лабораториях, является сахар и дрожжи. Сахар вносят в среду в виде сахарозы, изюма, патоки или суслу. Он является тем субстратом, на котором развиваются дрожжи, которые, в свою очередь, служат основной пищей дрозофилы. Кроме того, дрожжи предохраняют среду от поражения плесенью.

В качестве составного компонента в питательную среду входит также агар-агар, который придает среде желеобразную консистенцию.

На дрожжевой среде мухи развиваются значительно быстрее, очень крупные, с прекрасным проявлением всех признаков. Однако, благодаря обилию мух и наличию в среде неблагоприятно действующих на дрозофилу бактерий и грибов, развившиеся на

такой среде, мухи живут сравнительно недолго. Поэтому дрожжевую среду рекомендуют применять во всех случаях, за исключением поддержания основных линий.

Приготовленная питательная среда не может сохраняться дольше 3-4 дней, особенно когда она уже разлита в стаканчики, пробирки или флакончики, так как начинает развиваться плесень.

Для предупреждения развития в культурах плесени добавляют пропионовую кислоту или 10% спиртовой раствор нипагина (этилбензойная кислота).

Готовую среду можно хранить в холодильнике, где она может оставаться месяц и больше. При отсутствии прессованных дрожжей для варки среды можно пользоваться сухими дрожжами, произведя перерасчет на прессованные – пекарские дрожжи, содержащие 75% воды.

Рецепты наиболее распространенных питательных сред (в г)

1. Вода - 100 мл	2. Вода - 100 мл	5. Вода - 700 мл
Бананы - 100	Изюм - 50	Агар-агар - 9
Агар-агар - 2	Агар-агар - 2	Дрожжи пекарские - 75
		Сахарный песок – 25
		Манная крупа – 25
3. Вода - 2000мл	4. Вода - 350мл	
Патока - 200	Агар-агар - 4,5	
Кукурузная мука - 150	Дрожжи - 40	
Агар-агар - 15	Манная крупа - 15	
	Сахароза - 13	

Рецепт №3 рекомендуется для поддержания основных линий дрозофилы с интервалом между пересадками до 2 месяцев. На кафедре для приготовления питательной среды используют рецепт №5.

Приготовление питательной среды.

Ниже приводится способ приготовления питательной среды, по рецепту №5 на 100 пробирок.

1. Растворяют 9 г агар-агара в 700 мл холодной воды и доводят до кипения.
2. Добавляют 75 г прессованных дрожжей (или 9 г сухих дрожжей) в кипящий агар-агар и варят на медленном огне 40 мин.
3. Добавляют 25 г манной крупы и 25 г сахарного песка и варят помешивая еще 15 минут.
4. Для предохранения приготовленного корма в дальнейшем от заплесневения необходимо добавить 1 мл пропионовой кислоты в корм, остудив его предварительно до 60° и разлить в пробирки примерно на 1 - 1,5 см их высоты. Пробирки закрывают пробкой из натуральной чистой ваты.

Разливать среду следует так, чтобы она не попадала на стенки пробирки, тонкий слой её скоро подсыхает, и отложенные на нём яйца погибают. Во избежание этого рекомендуется разливать среду при помощи воронки, укрепленной на штативе. На горлышко воронки разливают мягкую резиновую трубку с моровским зажимом.

Через 30-40 минут среда застывает в виде довольно плотного желе. После этого её поверхность засевают дрожжами, добавляют 1-2 капли дрожжевого молочка (2-3г обычных дрожжей разводят в 50 мл воды), и среда готова к потреблению.

Правила работы с дрозофилой. Все манипуляции с мухами выполняют под наркозом. В качестве наркотизирующего вещества употребляют серный эфир pro narcosi. Наркоз мух проводят морилкой (эфиризатором), который представляет собой пробирку с корковой пробкой. Внутри помещается ватный тампончик, смоченный эфиром. Осторожным встряхиванием или постукиванием пальцами о стенки пробирки следует перегнать мух подальше от пробки, затем быстро открыть её (можно накрыть марлей или сеткой) и столь же быстро приставить к отверстию морилки. Как только мухи перестанут двигаться, их

нужно тотчас вытряхнуть на чистый лист бумаги. От большей дозы наркоза мухи погибают через 3-5 мин. Характерный признак погибших от эфира мух растопыренные кверху и в сторону крылья и безжизненно вытянутые лапки.

Знакомство с морфологическими особенностями мух удобнее всего производить под слабым увеличением бинокля, лупы с увеличением х 4, располагая мух на молочном стекле. Мух можно передвигать при помощи препаровальной иглы тонкой кисточки или перышка. Брать усыпленных мух можно глазным пинцетом за крылышки или ножки (если особи бескрылые).

Если во время просмотра мухи начинают просыпаться от наркоза, их следует накрыть часовым стеклом или половинкой чашки Петри, под которые положен кусочек ваты, смоченный эфиром (1-2 капли).

Подготовка мух и постановка опытов. Для скрещивания необходимо брать заведомо девственных самок не старше 10-12 часов после вылупления. Для этой цели из тех культур, из которых надлежит взять девственных самок, за несколько часов до начала массового вылета мух, следует удалить родительских мух. После этого культуру просматривают через 8-10 часовые интервалы. Вылупляющихся девственных самок изолируют от самцов и используют для соответствующих скрещиваний.

В каждый флакончик с емкостью 20 мл с 5-6 мл питательной среды следует сажать 2-3 самки и 2-3 самцов. Превышение указанной нормы может привести к перенаселению в культуре (crowding effect), что влечет за собой значительное измельчение мух и сокращение продолжительности их жизни.

Первые 1,5-2 сутки после вылупления самка дрозофилы не откладывает яиц. В среднем одна самка откладывает 200-300 яиц. Кладка яиц лучше всего происходит на среду, на которой достаточно хорошо проросли дрожжи. Этот оптимум откладки яиц лежит между 24-36 часов, после того как питательная среда была засеяна дрожжами. По мере старения культуры и усиления брожения питательной среды интенсивность откладки яиц падает. Работы с дрозофилой должны фиксироваться в дневнике или книге протоколов опытов (табл. 1).

Таблица 1

Примерная форма дневника практической работы

Дата	Порядковый номер культуры	Краткое описание скрещиваний	Результат
10.х	15	Normal ♀♀ × ♂♂ b (из основных культур)	150 мух Normal (♀♀ и ♂♂)
22.х	24	♀♀ из №15 × ♂♂ b (из основных культур)	89 Normal и 76 black
22.х	25	♀♀ × ♂♂ из №15 и т. д.	195 Normal и 57 black

Лабораторная работа № 3

Ознакомление с правилами работы с объектом *Drosophila melanogaster*. Изучение морфологических особенностей личинок *Drosophila melanogaster*.

ПОДГОТОВКА К ЗАНЯТИЮ (ВЫПОЛНЯЕТСЯ ЛАБОРАНТОМ). В лабораторных условиях плодовую муху содержат в пробирках и колбочках на питательной среде, приготовленной по определенному рецепту. Инкубируют при температуре +25°C и через 17-20 дней пересаживают на свежую питательную среду. Главные составные части питательной среды – дрожжи и сахар. Кроме того, в питательную среду добавляют агар-агар для создания плотности, а также вводят и другие компоненты (картофель, изюм, манную крупу и другие). Важным критерием качества среды является то, что она не должна разжижаться и вытекать при работе с мухами, в то же время она не должна быть слишком твердой и плотной, чтобы личинки в ней могли легко передвигаться.

Таблица 3
Состав питательной среды

Компоненты среды	Кол-во (г или мл) на ...мл воды					
	100	300	400	500	700	800
Сахарный песок	5	15	20	25	35	40
Манная крупа	3,6	11	15	18	26	30
Изюм	4	12	16	20	28	32
Агар агар	0,6	1,8	2,5	3	5	5,5
Дрожжи	6	18	24	30	40	46
Пропионовая кислота	0,2	0,5	0,7	1,5	2,00	2,5

Для приготовления среды в отмеренное количество воды вносят навеску агара, дают агару набухнуть в течение 1-2 часов. Затем добавляют остальные компоненты и ставят на огонь, помешивая среду время от времени, чтобы не пригорела. После закипания среду варят на медленном огне в течение 1 часа, не забывая помешивать; далее добавляют пропионовую кислоту (как консервант) и варят еще 15 минут. Остывшую до 50-60°C питательную среду разливают в стерильные пробирки или колбочки так, чтобы столбик ее был не менее 2-2,5 см высотой, закрывают ватными пробками. Разлитую среду оставляют при комнатной температуре; на другой день она готова к употреблению. В бытовом холодильнике питательная среда может храниться в течение нескольких дней (долго среду хранить нельзя – она подсыхает и портится).

Для пересадки дрозофилы на свежую питательную среду из колбочки или пробирки, где обитают линейные мухи, отбирают по 2-3 самки и по 4-5 самцов. Для этого в пустую пробирку с помощью пластмассовой воронки отсыпают из колбочки небольшое количество мух. Пробирку закрывают ватной пробкой, увлажненной эфиром, и дают мухам заснуть. Через 2-3 минуты заснувших мух встряхивают на лист белой бумаги и быстро с помощью лупы отбирают нужное количество самок и самцов. Тех и других мягкой кисточкой переносят в пробирки с питательной средой, закрывают ватными пробками и маркируют пробирки, указывая полную характеристику линии, количество поколений, дату пересадки. Например: *yellow*, F₃₀, 6.01.14 г.

Для откладки яиц мухи должны находиться в колбочках с питательной средой не менее 4-5 суток, после чего их удаляют. Из отложенных яиц развивается следующее поколение. При содержании мух в комнатных условиях с температурой 18-20°C пересадку на свежую питательную среду можно проводить реже – через 25-30 дней.

При планировании занятий по изучению дрозофилы следует учитывать необходимость значительного увеличения количества мух определенных линий и заранее их готовить. Непосредственно перед занятием (за 2-3-часа) часть мух, которые будут использованы для изучения морфологических особенностей, наркотизируют и распределяют по пробиркам без питательной среды так, чтобы каждый студент имел в штативе пробирку с самцами и самками дикого типа и по пробирке с 2-3 мухами всех мутантных линий. Кроме того, для изучения биологии дрозофилы необходимо поставить пробирку или колбочку со старой лабораторной культурой, в которой представлены все стадии развития плодовой мухи.

Для проведения опытов по скрещиванию дрозофилы необходимо помнить, что для получения достоверных результатов необходимо брать только девственных самок. Для этого поступают следующим образом. За 12-15 дней до занятия мух каждой отобранной в опыт линии пересаживают на свежую питательную среду, как было описано выше. Пробирки с мухами инкубируют при 25°C и через 4-6 дней после кладки яиц и появления личинок всех взрослых особей удаляют. За опытными пробирками устанавливают ежедневный контроль, чтобы не упустить момент начала вылета мух. Вылетевших через 6-8 часов (но не позже) мух подвергают наркотизации эфиром. Заснувших мух сразу же высыплют на лист чистой бумаги, быстро отбирают с помощью кисточки самок и отсаживают в пробирки (или колбочки) с ватными пробками. Если предполагается ставить

опыты через какое-то время, самок отсаживают в пробирки с питательной средой. Самцов помещают в другие пробирки или уничтожают, если они не требуются в опыте.

ВЫПОЛНЕНИЕ РАБОТЫ. Поместите умерщвленных мух дикого типа на лист белой бумаги. Рассмотрите мух обоего пола с помощью лупы, сравните их. Вы увидите, что самки крупнее самцов. Те и другие желтовато-серого цвета, имеют прямые, более длинные, чем тело, крылья, три пары расчлененных ножек, по бокам головы круглые темно-красные глаза, пару коротких разветвленных усиков на голове. На брюшке самки отчетливо видны 5 темных поперечных пигментированных полосок, брюшко утолщено и заострено на конце. На брюшке самца просматриваются только 3 черных полосы: 2 тонкие и 1 слитая, которая занимает весь кончик закругленного брюшка.

Возьмите кисточкой самку и самца и поместите их на предметное стекло в каплю воды, рассмотрите их под малым увеличением (объектив х4, окуляр х10). При установке света создайте темнопольное освещение, переводя откидную линзу в такое положение, когда ее оправа частично перекроет световой пучок.

При микроскопии обратите внимание на глаза дрозофилы, они имеют сложное фасеточное строение: состоят как бы из большого количества маленьких цветных линз, соединенных воедино. Найдите у самца передние ножки и рассмотрите на первом членике половые гребешки; убедитесь, что у самок такие гребешки отсутствуют.

Крылья мух имеют тонкие жилки и по краям окаймлены очень мелкими волосками.

ЗАДАНИЕ. С помощью лупы рассмотрите пробирки с культурами живых мух, в которых имеются все стадии развития дрозофилы. Найдите отложенные яйца, личинок, ползающих в питательной среде и по стенкам пробирок, куколок. Рассмотрите взрослых мух – самок и самцов, их отличительные особенности. Зарисуйте самку и самца.

Надпись над рисунком: *Плодовая муха Drosophila melanogaster. Живой объект. х8.*

Отдельно нарисуйте все стадии развития дрозофилы, должны быть даны названия всех стадий: яйцо, личинка, куколка, взрослая особь.

Надпись над рисунком: *Стадии развития дрозофилы. Живой объект. Х40.*

Лабораторная работа № 4

Моногибридное скрещивание. Наследование доминантного признака.

Моногибридное скрещивание. Наследование рецессивных признаков.

Цель занятия: освоение методики постановки опытов по скрещиванию дрозофил; закрепление знаний по основным закономерностям наследования при моногибридном скрещивании.

Материалы и оборудование: 1. пробирки или стаканчики со средой по 2 на каждого студента для получения F_1 и по 4-6 для получения F_2 . 2. соответствующие мутанты и мухи дикого типа. 3. набор для работы с дрозофилой.

Задание. 1. Отобрать виргинных самок. 2. Поставить скрещивание в соответствии с разработанным заданием. 3. Получить F_1 и проанализировать его. 4. Поставить на скрещивание мух F_1 . 5. Получить F_2 и проанализировать его.

Пояснения к заданию. Отбор виргинных самок. Для постановки опытов по скрещиванию необходимо в качестве материнских форм брать заведомо девственных (виргинных) самок не старше 10 - 12 ч после вылупления. С этой целью в пробирках, где идет размножение соответствующих линий мух, удаляют родительские особи и вылупившихся из куколок мух. Через 6 - 8 ч пробирки или стаканчики просматривают, и если появились молодые мухи, их усыпляют, отделяют самцов от самок, помещают в отдельные пробирки с питательной средой. Там они могут находиться в течение 2 - 4 суток. По мере надобности их используют для скрещивания.

Эту работу удобно организовать следующим образом. За 4 - 8 ч до начала занятий из пробирки удаляют всех мух. Пробирку с куколками ставят в термостат с температурой 24-

26°C на 4 - 8 ч. Мух, вылупившихся из куколок за этот период, используют для скрещивания.

Желательно в каждом случае ставить реципрокные (прямые и обратные) скрещивания. Гибриды F₁, как и обычные линии, размножаются внутри себя без отбора виргинных самок, поэтому после анализа гибридов F₁, самцов и самок помещают в пробирки со свежей средой для получения F₂. На протяжении всего опыта, а он от момента постановки скрещивания и до получения F₂ продолжается 20 - 24 дня, следует внимательно следить за состоянием мух и обеспечить все условия для их нормального развития.

При проведении моногибридного скрещивания учащиеся должны ознакомиться с первым и вторым законами Менделя, усвоить понятия о генотипе, фенотипе, доминантных и рецессивных признаках, о реципрокных, возвратных и анализирующих скрещиваниях. Для постановки опыта в качестве одной из родительских форм следует взять линию дикого типа (Normal), а в качестве второй родительской формы можно взять одного из мутантов, vestigial, cinnabar, ebony, brown, black, curved и др.

Весьма удобно провести следующие прямые и обратные (реципрокные) скрещивания, позволяющие изучить наследование доминантных и рецессивных признаков:

Canton S (Д-32) x black – black x Canton S (Д-32)

Canton S (Д-32) x brown – brown x Canton S (Д-32)

Canton S (Д-32) x ebony – ebony x Canton S (Д-32)

Canton S (Д-32) x vestigial – vestigial x Canton S (Д-32)

Выполнение задания. 1. Вначале следует составить схему и определить теоретически ожидаемое наследование признаков в F₁ и F₂ (табл.2).

2. В соответствии с подобранной комбинацией скрещивания 2 – 3 виргинные самки поместить вместе с 3 - 5 самцами в пробирку со свежей средой.

3. Через 10 - 12 дней после постановки опыта, когда в пробирке будет массовое вылупление мух F₁, их следует усыпить и проанализировать. Все они как в прямом, так и в обратном скрещивании будут одинаковыми по признаку от того из родителей.

4. В каждой комбинации для получения F₂ следует провести скрещивание внутри себя. С этой целью среди анализируемых мух отобрать 2 - 3 самки и 3 - 5 самцов и поместить в пробирки со свежей средой. В каждой комбинации для получения F₂. поставить по 2 - 3 и более пробирки.

Таблица 2

Схема моногибридного скрещивания

black x Canton S (Д-32)

$$PP: \quad \text{♀} \quad \frac{b}{b} \quad \times \quad \text{♂} \quad \frac{+}{+}$$

$$\text{Гаметы PP:} \quad \text{♀} \quad \underline{b} \quad \times \quad \text{♂} \quad \underline{+}$$

$$F_1 \quad \frac{b}{+}$$

Гаметы F₁

♂	b	+
♀	b	+
	b/b	b/+
	b/+	+/+

vestigial x Canton S (Д-32)

$$\begin{array}{l}
 \text{PP: } \text{♀} \frac{vg}{vg} \times \text{♂} \frac{+}{+} \\
 \text{Гаметы PP: } \text{♀} \frac{vg}{+} \times \text{♂} \frac{+}{+}
 \end{array}$$

$$\begin{array}{l}
 \text{F}_1 \frac{vg}{+} \\
 \text{Гаметы F}_1
 \end{array}$$

♂	+	vg
♀	+	+/+
	vg	+/vg
		vg/vg

5. Через 10 - 12 дней в пробирках начнется массовое вылупление мух F₂. Их следует усыпить в эфиризаторе и проанализировать на матово-белом стекле. При внимательном просмотре отделить и подсчитать мух с чёрным телом (black). В соответствии со схемой опыта (табл. 2) их будет примерно 1/4 от общего числа. Затем отделить и подсчитать мух с нормальным цветом тела. Их будет примерно 3/4 от общего числа. Результаты подсчета занести в таблицу (табл.3).

6. Одновременно можно провести опыт по возвратному скрещиванию. Для этого в F₁ брать виргинные самки и поместить их по одной в пробирки вместе с самцами одной из родительских форм (доминантной или рецессивной).

Таблица 3

Результаты гибридологического анализа при моногибридном и возвратном скрещивании дрозофил black x Canton S (Д-32)

Линия или гибрид	Проанализировано особей		Расщепление	
	всего	В том числе		Теоретическое и ожидаемое
		black	Canton S (Д-32)	
♀ Canton S (Д-32) ♂ black F ₁ Canton S (Д-32) x black F ₂ Беккроссы F ₁ x black F ₁ x Canton S (Д-32)				

7. При постановке этого опыта предварительно разработать его схему (по типу табл. 2).

8. Через 10 - 12 дней в пробирках начнется массовое вылупление мух. Их поместить в эфиризатор, усыпить и проанализировать по признаку цвета тела.

Анализ мух от возвратного скрещивания F₁ с доминантной родительской формой показывает, что все они имеют нормальный цвет тела. В скрещивании F₁, с рецессивной родительской формой (анализирующее скрещивание) 1/2 часть мух имеет чёрный цвет тела, а 1/2 нормальный. Такой результат скрещивания свидетельствует о том, что мухи F₁ гетерозиготны.

Таким же образом могут быть проведены скрещивания и проанализированы гибриды Canton S (Д-32) с любым мутантом, у которого соответствующий ген локализован во II, III или IV хромосомах.

Статистическая обработка полученных результатов

Полученное в опыте в F_2 и $F|_b$, соотношение серых и черных мух отличается от теоретически ожидаемого 3:1 или 1:1. Решение вопроса о том, случайно ли это различие или расщепление не соответствует теоретически ожидаемому, возможно только с помощью статистических методов. Очень прост и удобен метод χ^2 (хи-квадрат), Применение этого метода сводится к расчету величины χ^2 и ее оценке. Расчет осуществляется по формуле:

$\chi^2 = \sum d^2/q$, где $\sum$ - знак суммы, q - теоретически ожидаемое число особей с определенным признаком; d - отклонение фактически полученных данных от теоретически ожидаемых для каждого класса ($p - q$).

В процессе расчетов сначала составляют таблицу 4 по классам расщепления на основании опытных числовых данных (p). Затем из суммы частот всех классов, составляющей объем выборки, вычисляют теоретически ожидаемые величины (q) для каждого класса соответственно предполагаемой формуле расщепления (3:1, 1:1 и т.п.). Далее определяют отклонение (d) полученных данных от теоретически ожидаемых для каждого класса.

Каждое отклонение d возводят в квадрат (d^2), делят его на теоретически ожидаемое число (q) для данного класса: d^2/q . Затем все частные суммируют и получают величину χ^2 согласно приведенной формуле.

Оценка величины χ^2 производится по таблице Фишера (табл. 5). В таблице обозначены вероятности (P). Что они означают?

При рассмотрении формулы χ^2 видно, что при полном соответствии опытных и теоретических данных χ^2 равен нулю. Если χ^2 не равен нулю, то всегда при применении этого метода предполагают, что различия сравниваемых величин случайны (эта гипотеза называется нулевой). Вероятность, указанная в таблице, и есть не что иное, как вероятность этой нулевой гипотезы. Вероятность 0,05 говорит о том, что если сравниваемые величины отличаются случайно, то значение χ^2 , указанное в таблице, может появиться только в 5 выборках из 100 подобных. В статистике же принято считать, что события, имеющие вероятность 0,05 и меньше, практически не встречаются. Значит, указанное в таблице значение χ^2 в колонке 0,05 говорит о том, что различия между сравниваемыми величинами нельзя считать случайными, т. е. нулевую гипотезу необходимо отвергнуть. Вероятность 0,01 говорит о том же, только появление значения χ^2 , указанного в таблице, возможно лишь один раз на 100, если различия случайны, т. е. еще более редко. Вот почему при значении χ^2 равном или большем, чем указано в таблице, нулевая гипотеза отвергается, т.е. считают различия сравниваемых величин не случайными, а закономерными. В остальных случаях (когда χ^2 меньше табличного) принимают нулевую гипотезу, т. е. считают различия случайными. И, наконец, что значит число степеней свободы, которое определяет строку в таблице? Число степеней свободы это число независимо рассчитанных теоретически ожидаемых величин. В рассматриваемом примере рассчитаны две теоретически ожидаемые величины (число серых и черных мух). Однако если рассчитать число серых мух, то число черных можно определить уже автоматически, оно зависит от суммы и числа серых мух. Следовательно, число независимо рассчитанных величин здесь равно единице. Это и есть степень свободы. В общем виде число степеней свободы при анализе расщепления всегда равно числу различных классов особей минус 1.

Критерий χ^2 дает надежные результаты, если объем выборки более 50, а теоретически ожидаемые частоты в классах не менее 5.

Таблица 4

Результаты количественного анализа наследования окраски тела у дрозофилы (моногибридное скрещивание).

	Число мух		
	Серых	Черных	Всего
Материнская	0	Все	
линия.....	Все	0	

Отцовская линия.....	Все	0	
F ₁	78	18	96
F ₂	3	1	4
Фактическое расщепление—данные, полученные студентом (p)	72	24	96
Ожидаемое Теоретически ожидаемое расщепление (q).....			
Отклонение (d).....	+ 6	- 6	
d ²	36	36	
$\chi^2 = \sum d^2/q = 0,50 + 1,50 = 2,00$; n'=1; P>0,05			
F ₂ Фактическое расщепление - суммарные данные, полученные всеми студентами группы	1199	385	1584
(p).....	3	1	4
Ожидаемое отношение.....	1188	396	1584
Теоретически ожидаемое расщепление (q).....			
Отклонение (d).....	+11	-11	
d ²	121	121	
$\chi^2 = \sum d^2/q = 0,10 + 0,31 = 0,41$; n'=1; P>0,05			
F _b Данные, полученные студентом.....	66	58	124
Фактическое расщепление - суммарные данные, полученные всеми студентами группы	504	486	990
(p).....	1	1	2
Ожидаемое отношение	495	495	990
..... Теоретически ожидаемое расщепление (q).....			
Отклонение (d)	+ 9	-9	
d ²	81	81	
$\chi^2 = \sum d^2/q = 0,16 + 0,16 = 0,32$; n=1; P » 0,05			

Проведите статистическую обработку результатов расщепления F₂ по собственным данным (самостоятельно) и по суммарным данным, полученным всеми студентами группы, исходя из ожидаемого отношения 3:1, докажите, что полученное расщепление соответствует теоретически ожидаемому отношению. В рассматриваемом примере 1 степень свободы и $\chi^2=2,00$ и 0,41, что меньше, чем указанные в первой строке значения $\chi^2=3,84$ и 6,63 (табл. 5). Это значит, что различия между полученными в опыте и теоретически ожидаемыми величинами случайны. Убедитесь, что расщепление соответствует ожидаемому 3:1 тем точнее, чем большее количество мух проанализировано. Суммарные данные, полученные всеми студентами группы, дают лучшее совпадение с ожидаемым отношением (P>0,05), чем данные одного студента (P>0,05).

Аналогичным образом проведите статистическую обработку расщепления в F₂ по суммарным данным, полученным всеми студентами группы. Докажите, что оно соответствует ожидаемому отношению 1:1.

Таблица 5. Таблица значений χ^2 при разных степенях свободы

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

Лабораторная работа № 5

Дигибридное скрещивание. Наследование рецессивных признаков.

Цель занятия: постановка скрещиваний; закрепление знаний по основным закономерностям наследования при дигибридном скрещивании.

Материалы и оборудование 1. пробирки со свежеприготовленной средой. 2. мутанты ebony и vestigial, cinnabar, black, scarlet, brown. 3. набор для работы с дрозофилой.

Задание. 1. Подобрать мутанты для скрещивания. 2. Отобрать виргинные самки. 3. Произвести скрещивание. 4. Проанализировать гибриды F₁. 5. Поставить на скрещивание гибриды F₁, для получения F₂. 6. Проанализировать F₂.

Пояснение к заданию. Непременное условие свободной рекомбинации генов в F₂ при дигибридном скрещивании локализация их в разных хромосомах. Для этого скрещивания, например, удобно взять рецессивный мутант с зачаточными крыльями vestigial (ген vg локализован во II хромосоме). Окраска тела у этого мутанта серая (Canton S (Д-32)). Вторым компонентом скрещивания можно взять мутант с темной окраской тела и нормальными крыльями - ebony. Ген e, определяющий темную окраску тела, локализован в III паре хромосом. Кроме того, можно для дигибридных скрещиваний рекомендовать и другие комбинации:

ebony x vestigial
cinnabar x ebony
black x scarlet

brown x ebony
scarlet x vestigial

Схему скрещивания мутантов записывают следующим образом:

$$\text{PP: } \begin{array}{c} \text{♀} \\ \frac{+}{+} \end{array} \frac{e}{e} \times \begin{array}{c} \text{♂} \\ \frac{vg}{vg} \end{array} \frac{+}{+}$$

Выполнение задания. 1. Составить схему по типу табл. 2 и определить теоретически ожидаемое расщепление. 2. Отобрать 2 - 3 виргинные самки ebony и поместить в пробирку со свежей средой с 3 - 5 самцами vestigial. 3. Через 10 - 12 суток после постановки скрещивания, когда в пробирке начнется массовое вылупление мух F₁, их следует усыпить и проанализировать. Все они как при прямом, так и при обратном скрещивании будут иметь нормальную серую окраску тела и нормально развитые крылья. Результаты подсчета следует записать в таблицу (табл. 6). 4. В каждой комбинации F₁, следует отобрать по 2 - 3 женские особи и по 5 - 6 мужских и поместить их в чистые

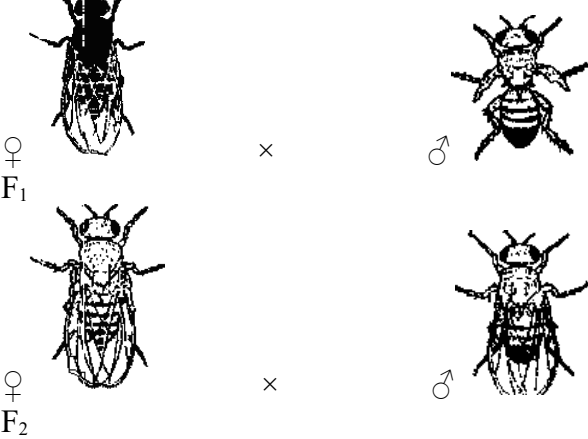
пробирки с питательной средой для получения F₂. Желательно для получения F₂ в каждой комбинации поставить по 3 - 5 пробирок на каждого студента. 5. Через 10 - 12 дней в пробирках начнется массовое вылупление мух F₂. Их следует усыпить в эфиризаторе и анализировать на матово-белом стекле. При внимательном просмотре отделить и подсчитать мух с нормальными крыльями и серым телом, затем мух с нормальными крыльями и чёрным телом, с недоразвитыми крыльями и серым телом и с недоразвитыми крыльями и чёрным телом. Результаты занести в таблицу (табл. 6).

Анализ F₁ по фенотипу показывает, что все мухи имеют серое тело и нормальные крылья. Следовательно, признаки черной окраски тела и недоразвитых крыльев рецессивны. По генотипу они гетерозиготны (рис. 10). В F₂ наблюдается расщепление, которое соответствует теоретически ожидаемому: 9/16 Canton S (Д-32), 3/16 ebony, 3/16 vestigial и 1/16 ebony; vestigial.

Таблица 6. Результаты гибридологического анализа при дигибридном скрещивании ebony x vestigial

Линии и гибриды	Получено мух					Расщепление	
	всего	В том числе				теоретически ожидаемое	фактически полученное
		Canton S (Д-32)	ebony	vestigial	ebony; vestigial		
♀ebony ♂vestigial F ₁ ebony x vestigial F ₂ ebony x vestigial							

Пример статистической обработки при дигибридном скрещивании показан в таблице 7.



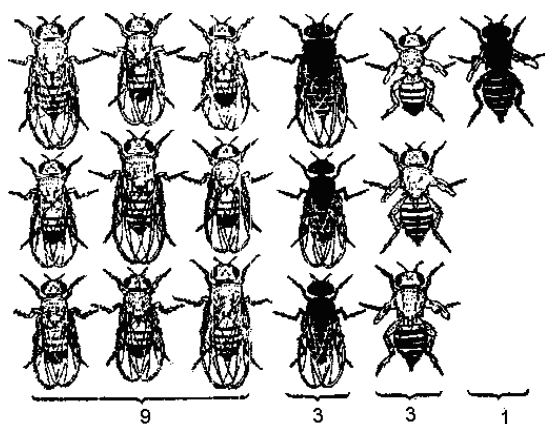


Рис. 10. Дигибридное скрещивание ♀ebony x ♂vestigial

Таблица 7. Пример статистической обработки при дигибридном скрещивании.

F ₂	Серое тело		Черное тело		Всего
	Норм. крылья	Зачат. крылья	Норм. крылья	Зачат. крылья	
Фактическое расщепление - суммарные данные, полученные всеми студентами группы р).....	941	325	323	107	1696
Ожидаемое отношение.....	9	3	3	1	16
Теоретически ожидаемое расщепление (q).....	954	318	318	106	1696
Отклонение (d)	-13	+7	+5	+1	
d ²	169	49	25	1	
$\chi^2 = \sum d^2/q = 169/954 + 49/318 + 25/318 + 1/100 = 0,418$ n'=3; P>0,05					
Вывод: так как значение χ^2 фактически меньше табличного (7,81), то фактическое расщепление соответствует ожидаемому отношению 9:3:3:1.					

Лабораторная работа № 6

Взаимодействие генов и расщепление. Взаимодействие неаллельных генов.

Цель занятия: постановка скрещиваний на взаимодействие генов.

Материалы и оборудование: 1. Пробирки со свежеприготовленной средой. 2. Мутанты ebony, black. 3. набор для работы с дрозофилой.

Задание. 1. Подобрать мутанты дрозофилы для скрещивания. 2. Составить схему скрещивания и определить теоретически ожидаемое расщепление в F₂. 3. Отобрать виргинные самки и провести скрещивание. 4. Проанализировать F₁, и подобрать пары для получения F₂. 5. Проанализировать F₂.

Пояснение к заданию. У дрозофилы в наследовании ряда признаков довольно четко проявляется комплементарный тип взаимодействия генов, когда одновременно наличие двух неаллельных генов в генотипе обуславливает развитие нового признака.

Для изучения этого явления удобнее всего взять для скрещивания 2 мутантов с черной окраской тела. Черная окраска тела у дрозофилы может быть обусловлена различными генами: либо геном ebony, локализованным в III хромосоме, либо геном black, локализованным во II хромосоме. Каждый из этих генов рецессивен по отношению к гену Canton S (Д-32), обуславливающему серую окраску тела. При скрещивании мутантов ebony x black, имеющих черную окраску тела, все особи F₁ имеют серую окраску тела, что может быть обусловлено только одновременным присутствием двух этих генов; в F₂ наблюдается расщепление в отношении 9/16 серых, 7/16 - черных.

Для изучения взаимодействия генов могут быть проведены скрещивания также между мутантами brown x scarlet.

Мутант brown имеет коричневую окраску глаз, scarlet - ярко-красную. В результате скрещивания brown x scarlet в F₁, все мухи будут иметь окраску глаз, свойственную дикому типу, а в F₂ будет 4 фенотипа мух: красноглазые (Canton S (Д-32)), типа brown, типа scarlet и белоглазые (white).

Выполнение задания. 1. Подобрать мутантные линии. 2. Составить схему расщепления и определить теоретически ожидаемое расщепление. 3. В соответствии с подобранной комбинацией подобрать 2 – 3 виргинные самки ebony и поместить в стаканчик со свежей средой с 3 - 5 самцами black. 4. Через 10 - 12 суток после постановки скрещивания, когда в стаканчике будет наблюдаться массовое вылупление мух F₁, их следует усыпить и проанализировать. Все они как в прямом, так и в обратном скрещивании будут иметь нормальную серую окраску тела. Результаты скрещивания следует записать в табл. 5. В каждой комбинации F₁, следует отобрать по 2 - 3 женские особи и 5 - 6 мужских и поместить в чистые пробирки со свежей питательной средой для получения F₂. 5. Через 10 - 12 дней в пробирках начнется массовое вылупление мух F₂. Их усыпить в эфиризаторе и проанализировать на матово-белом стекле. При внимательном просмотре отделить и подсчитать мух с серой и отдельно с черной окраской тела. Результаты занести в табл. 8.

Таблица 8. Результаты гибридологического анализа F₂ от скрещивания ebony x black

Линия или гибриды	Проанализировано особей			Расщепление	
	всего	В том числе		теоретически ожидаемое	фактически полученное
		серых	чёрных		
♀ebony ♂ black F ₁ ebony x black F ₂ ebony x black					

В F₂ в соответствии со схемой расщепления теоретически ожидаемого должно быть: 9Normal: 3 ebony: 3 black: 1 ebony-black. Фенотипически все особи ebony, black, ebony-black, имеющие черную окраску тела, неотличимы, поэтому по фенотипу расщепление будет 9/16 серых: 7/16 черных.

Пример количественного анализа наследования окраски глаз у дрозофилы (комплементарность) приводится в таблице 9, окраски тела – в таблице 10.

Таблица 10. Пример количественного анализа наследования окраски тела у дрозофилы в F₂

Окраска тела в F ₂	серая	черная
Фактическое расщепление - суммарные данные, полученные всеми студентами группы (p).....	283	197
Ожидаемое отношение.....	9	7
Теоретически ожидаемое расщепление (q).....	270	210
Отклонение (d)	13	-13
d ²	169	169
$\chi^2 = \sum d^2/q = 169/270 + 169/210 = 1,42$		

	Скрещивание		
	первое	второе	третье
	♀Красные глаза ×	♀Красные	♀Коричневые глаза × ♂Ярк

	♂Ярко-красные			глаза×♂Коричневые глаза			красные глаза				
	Число мух F ₁ и F ₂										
	с крас ным и глаз ами	с ярко - крас ным и глаз ами	всег о	с красн ыми глаза ми	с кори чнев ыми глаза ми	всего	с красн ыми глаза ми	с кори чнев ыми глаза ми	с ярко- красн ыми глаза ми	с бе лы ми гла за ми	все о
F ₁	все	0		все	0		все	0	0	0	
Данные, полученные студентом	64	20	84	+42	18	60	62	24	21	5	112
Факт. расщепление – данные, полученные всеми студентами группы (p)	174	74	248	148	36	184	199	70	51	16	336
Ожидаемое отношение	3	1	4	3	1	4	9	3	3	1	16
Теоретически ожидаемое расщепление (q)	186	62	248	138	46	184	189	63	63	21	336
Отклонение (d) d ²	-12 144	+12 144		+10 100	-10 100		+10 100	+7 49	-12 144	-5 25	
$\chi^2=\sum d^2/q = 0,77+2,32=3,09$; n=1; P » 0,05			$\chi^2=\sum d^2/$ q=0,72+2,17=2,89; n=1; P » 0,05			$\chi^2=\sum d^2/$ q=0,53+0,78+2,29+1,19=4,79; n= P » 0,05					

Лабораторная работа № 7

Наследование сцепленных с полом признаков. Составление коллекции *Drosophila melanogaster*. Изучение роли возраста дрозофил в половом отборе.

Цель занятия: постановка скрещиваний; закрепление знаний по основным закономерностям наследования признаков, сцепленных с полом: различия реципрокных скрещиваний в F₁ и F₂, крисс-кросс.

Материалы и оборудование: 1. Пробирки со свежеприготовленной средой. 2. Мухи Canton S (Д-32), мутантные линии white или yellow.

Задание. 1. Познакомиться с половыми хромосомами и определением пола у дрозофилы. 2. Провести скрещивание ♀ Canton S (Д-32) x ♂ white, ♀ white x ♂ Canton S (Д-32). 3. Составить схему теоретически ожидаемого расщепления. 4. Проанализировать F₁ и поставить их на скрещивание для получения F₂. 5. Получить мух F₂ и проанализировать их.

Объяснение к заданию. Самки дрозофилы гомогаметны: они содержат 2 одинаковые хромосомы, составляющие первую пару и называемые X-хромосомами. Самцы гетерогаметны, они содержат 2 хорошо различимых по строению хромосом (рис. 11). Одна из них идентична женской половой хромосоме (X-хромосома), а другая Y-хромосома. Y - хромосома доминантна в определении пола. Наследование пола у дрозофилы осуществляется по следующей схеме:

$$\begin{array}{ccc} \text{PP} \text{♀} \text{XX} & & \text{♂XY} \\ \text{Яйца} & \times & \text{Сперматозоиды} \end{array}$$

$\begin{matrix} X \\ F_1 \\ \text{♀♀ XX} \end{matrix}$
 $\begin{matrix} \text{Зиготы} \\ \text{♂♂ XY} \end{matrix}$
 $\begin{matrix} X, Y \end{matrix}$

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

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

Для изучения наследования признаков, сцепленных с полом, рекомендуется взять мух с генотипом Canton S (Д-32) и скрещивать либо с рецессивным мутантом white или yellow, либо с доминантным мутантом Bar и др.

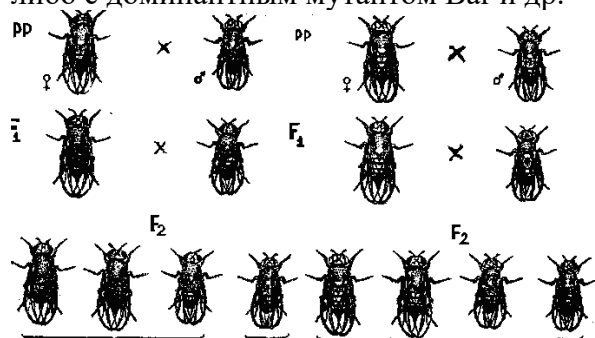


Рис. 11. Наследование сцепленного с полом гена white.

Ниже приводится схема наследования пола и сцепленного с полом признака, как при прямых, так и при обратных скрещиваниях (табл. 6).

Из этой схемы следует, что в F_1 , и в F_2 как при прямом, так и при обратном скрещивании отношение мужских и женских особей будет одинаково - 1:1. Наследование окраски глаз зависит от генотипов материнской и отцовской особей. При прямом скрещивании, когда материнская особь Canton S (Д-32), а отцовская white, все мухи F_1 имеют красные глаза, присущие материнским особям. В F_2 по окраске глаз наблюдается расщепление 3:1. Причем, все самки имеют красные глаза, а у самцов 50% особей красноглазых и 50% - белоглазых.

При обратном скрещивании белоглазых самок с красноглазыми самцами в F_1 все самки имеют красные глаза, а самцы белые (рис. 11). В F_2 по окраске глаз наблюдается расщепление 1:1. Причем, как у самок, так и у самцов 50% особей имеет красные, 50% - белые глаза.

Выполнение задания. Задание выполняется в том же порядке, что и при обычном моногибридном скрещивании. Только при анализе F_1 , и F_2 сначала отделяют самцов от самок, а затем подсчитывают число белоглазых и красноглазых особей в каждой группе. Результаты анализа записывают в таблицу (табл.11).

Таблица 11

Результаты гибридологического анализа при наследовании пола и признаков, сцепленных с полом

Линии и гибриды	Проанализировано мух					Расщепление по окраске глаз	
	всего	В том числе				Теоретически ожидаемое	Фактически полученное
		♀сам ок	♂сам цов	Canton S (Д-32)	white		

Прямое скрещивание							
♀ Canton S (Д-32)							
♂ white							
F ₁ Canton S (Д-32) x white:							
самки							
самцы							
F ₂ Canton S (Д-32) x white:							
самки							
самцы							
Обратное скрещивание							
♀ white							
♂ Canton S (Д-32)							
F ₁ white x Canton S (Д-32):							
самки							
самцы							
F ₂ white x Canton S (Д-32):							
самки							
самцы							

Анализ мух первого и второго поколений показывает, что фактически полученные результаты полностью соответствуют теоретически ожидаемым.

Таблица 12. Пример количественного анализа наследования окраски глаз у дрозофилы (наследование признаков, сцепленных с полом)

	Прямое скрещивание красноглазая × ♂ белоглазый					Обратное скрещивание белоглазая × ♂ красноглазый				
	Число мух в F ₁ и F ₂									
	красно глазых		белоглазых			красно глазых		белоглазых		
	сам ок	самц ов	сам ок	сам цов	все го	сам ок	сам цов	сам ок	сам цов	все о
F ₁										
Данные, полученные студентом	48	44	0	0	92	55	0	0	47	102
Фактическое расщепление - данные, полученные всеми студентами группы (p).....	256	226	0	0	482	215	0	0	183	398
Ожидаемое отношение	1	1	0	0	2	1	0	0	1	2
Теоретически ожидаемое расщепление (q).....	241	241	0	0	482	199	0	0	199	398
Отклонение (d)	+15	-15				+16			-16	
d ²	225	225				256			256	
$\chi^2 = \sum d^2/q = 0,93 + 0,93 = 1,86$ 1,29+1,29=2,58										
n=1; P » 0,05 n=1; P » 0,05										
F ₂										
Данные, полученные студентом	56	28	0	20	104	31	28	29	24	112
Фактическое расщепление - данные, полученные всеми студентами группы (p).....	312	163		129	604	130	151	160	127	568
Ожидаемое отношение	2	1	0	1	4	1	1	1	1	4

Теоретически расщепление (q).....	302	151		151	604	142	142	142	142	568
Отклонение (d)	+10	+12		-22		-12	+9	+18	-15	
d ²	100	144		484		144	81	324	225	
$\chi^2 = \sum d^2/q = 0,33 + 0,95 + 3,21 = 4,49$ $1,05 + 0,57 + 2,28 + 1,58 = 5,54$ $n=2; P \gg 0,05$ $n=3; P \gg 0,05$										

Лабораторная работа № 8

Сцепление генов и перекрест хромосом. Соответствие фактических данных теоретически ожидаемым

Сцепление генов, совместная передача двух или более генов от родителей потомкам. Объясняется тем, что эти гены лежат в одной хромосоме, то есть принадлежат одной группе сцепления и поэтому не могут случайно рекомбинироваться в мейозе, как это бывает при наследовании генов, лежащих в разных хромосомах. С. г. было открыто в 1906 английскими генетиками У. Бэтсоном и Р. Пеннетом, обнаружившими в опытах по скрещиванию растений у некоторых генов тенденцию передаваться совместно и тем самым нарушать закон независимого комбинирования признаков (см. Менделя законы, Менделизм). Правильное объяснение этому дали Т. Морган и сотрудники, обнаружившие аналогичное явление при изучении наследования признаков у дрозофилы. Мерой С. г. служит частота образования гетерозиготой по этим генам кроссоверных гамет или спор, в которых гены находятся не в исходных, а в новых сочетаниях благодаря обмену частями несущих их гомологичных хромосом путём кроссинговера. У некоторых бактерий др. мерой С. г. служит частота совместной передачи по наследству разных генов при конъюгации, генетической трансформации и трансдукции. Сила С. г. может быть различной у разных полов (обычно она больше у гетерогаметного пола, см. Половые хромосомы) или даже С. г. может быть полным (отсутствие кроссинговера) у одного из полов (например, у самцов дрозофилы или у самок тутового шелкопряда). Кроме того, сила С. г. может варьировать в зависимости от возраста родителей, температуры, наличия хромосомных перестроек и др. факторов, а также от присутствия особых мутантных генов, специфически влияющих на силу С. г. См. также Генетические карты хромосом.

Кроссинговер

Кроссинговер (от англ. *crossing-over* – перекрёст) – это обмен гомологичными участками гомологичных хромосом (хроматид).

Само явление перекрёста хромосом открыл Ф. Янссенс (1909, Бельгия), обнаруживший хиазмы в профазе I мейоза у саламандры. Однако теоретическая возможность кроссинговера была предсказана раньше.

Во-первых, американский цитолог У. Сэттон (1903) предположил, что в одной хромосоме может находиться несколько генов. В этом случае должно наблюдаться *сцепленное наследование признаков*, т.е. несколько разных признаков могут наследоваться так, как будто они контролируются одним геном. Тогда совокупность генов в одной хромосоме образует *группу сцепления*.

Во-вторых, в 1906 г. У. Бэтсон и Р. Пеннет обнаружили сцепленное наследование у душистого горошка. Они изучали совместное наследование: окраски цветков (пурпурная или красная) и формы пыльцевых зерен (удлиненная или округлая). При скрещивании дигетерозигот в их потомстве наблюдалось расщепление 11,1:0,9:0,9:3,1 вместо ожидаемого 9:3:3:1.

Таким образом, два признака (окраска цветков и морфология пыльцы) оказываются сцепленными. Соответственно, сцеплены и гены, контролирующие эти признаки («эффект взаимного притяжения»). Однако это сцепление не абсолютно: гены, контролирующие сцепленные признаки, могут приобретать независимость, и тогда появляются новые

комбинации признаков. Вскоре (1911) были получены данные по сцепленному наследованию и нарушению сцепления некоторых признаков у дрозофилы.

Т. Морган (1910) и его ученик К. Бриджес (1916) доказали, что число групп сцепления соответствует гаплоидному числу хромосом. Опираясь на работы Янсенса и результаты гибридологического анализа, они связали явление перекрёста хромосом с феноменом нарушения сцепления генов. При перекрёсте хромосом происходит обмен между ними генетическим материалом (аллелями), и тогда происходит *рекомбинация* – появление новых сочетаний аллелей, например, $AB + ab \rightarrow Ab + aB$.

Таким образом, термин «кроссинговер» употребляется и в цитологическом, и в генетическом значении.

В дальнейшем связь между перекрестом хромосом и появлением новых сочетаний признаков была подтверждена работами К. Дарлингтона, К. Штерна, Б. Мак-Клинток и др.

Цитогенетика кроссинговера

Механизм кроссинговера «разрыв–воссоединение»

Согласно теории Янсенса–Дарлингтона, кроссинговер происходит в профазе мейоза. Гомологичные хромосомы с гаплотипами хроматид ***AB*** и ***ab*** образуют биваленты. В одной из хроматид в первой хромосоме происходит разрыв на участке ***A–B***, тогда в прилежащей хроматиде второй хромосомы происходит разрыв на участке ***a–b***. Клетка стремится исправить повреждение с помощью ферментов репарации–рекомбинации и присоединить фрагменты хроматид. Однако при этом возможно присоединение крест–накрест (кроссинговер), и образуются *рекомбинантные гаплотипы (хроматиды) ***Ab*** и ***aB****. В анафазе первого деления мейоза происходит расхождение двуххроматидных хромосом, а во втором делении – расхождение хроматид (однохроматидных хромосом). Хроматиды, которые не участвовали в кроссинговере, сохраняют исходные сочетания аллелей. Такие хроматиды (однохроматидные хромосомы) называются *некроссоверными*; с их участием разовьются некроссоверные гаметы, зиготы и особи. Рекомбинантные хроматиды, которые образовались в ходе кроссинговера, несут новые сочетания аллелей. Такие хроматиды (однохроматидные хромосомы) называются *кроссоверными*, с их участием разовьются кроссоверные гаметы, зиготы и особи.

Таким образом, вследствие кроссинговера происходит *рекомбинация* – появление новых сочетаний (гаплотипов) наследственных задатков в хромосомах.

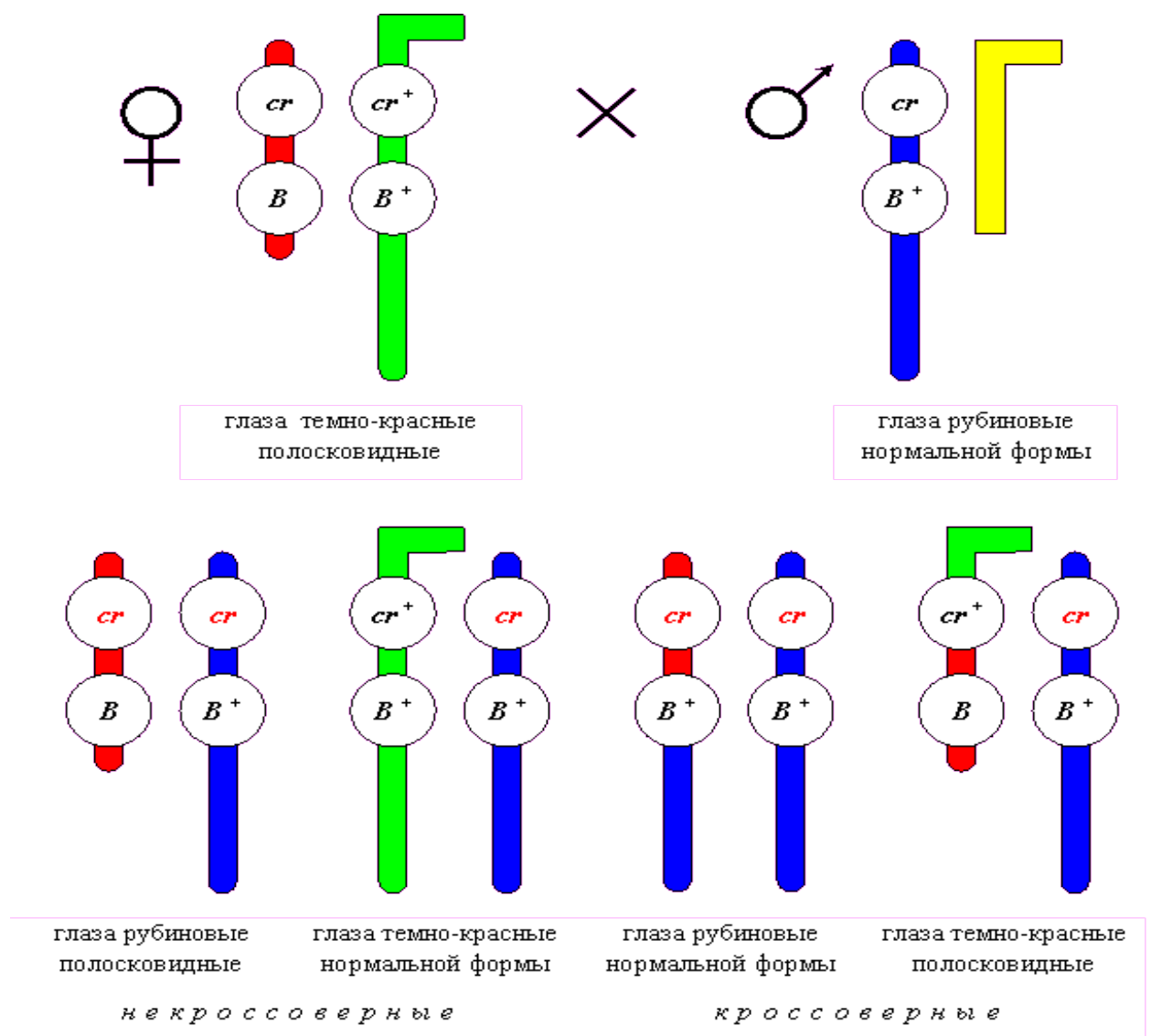


Рис. 2. Цитологическое доказательство кроссинговера (опыт Штерна).

Исходные особи: гетерозиготные самки с aberrантными хромосомами и дважды рецессивные самцы с нормальными хромосомами. В нижнем ряду показаны только кариотипы и фенотипы самок.

Обозначения аллелей и их фенотипическое проявление:

cr^+ – темно-красные глаза – доминантный признак,

cr – темно-рубиновые глаза («глаза цвета гвоздики») – рецессивный признак,

B^+ – глаза нормальной формы – рецессивный признак,

B – полосковидные глаза – доминантный признак.

Примечание. Согласно другим теориям, кроссинговер связан с репликацией ДНК: или в пахитене мейоза, или в интерфазе. В частности, возможна смена матрицы в вилке репликации.

Интерференция – это подавление кроссинговера на участках, непосредственно прилегающих к точке происшедшего обмена. Рассмотрим пример, описанный в одной из ранних работ Моргана. Он исследовал частоту кроссинговера между генами w (*white* – белые глаза), y (*yellow* – желтое тело) и m (*miniature* – маленькие крылья), локализованными в X-хромосоме *D. melanogaster*. Расстояние между генами w и y в процентах кроссинговера составило 1,3, а между генами y и m – 32,6. Если два акта кроссинговера наблюдаются случайно, то ожидаемая частота двойного кроссинговера должна быть равна произведению частот кроссинговера между генами y и w и генами w и m . Другими словами, частота двойных кроссинговеров будет 0,43%. В действительности в опыте был обнаружен лишь один двойной кроссинговер на 2205 мух,

т. е. 0,045%. Ученик Моргана Г. Меллер предложил определять интенсивность интерференции количественно, путем деления фактически наблюдаемой частоты двойного кроссинговера на теоретически ожидаемую (при отсутствии интерференции) частоту. Он назвал этот показатель *коэффициентом коинциденции*, т. е. совпадения. Меллер показал, что в X-хромосоме дрозофилы интерференция особенно велика на небольших расстояниях; с увеличением интервала между генами интенсивность ее уменьшается и на расстоянии около 40 морганид и более коэффициент коинциденции достигает 1 (максимального своего значения).

Двойной и множественный кроссинговер.

Т. Морган предположил, что кроссинговер между двумя генами может происходить не только в одной, но и в двух и даже большем числе точек. Четное число перекрестов между двумя генами, в конечном счете, не приводит к их перемещению из одной гомологичной хромосомы в другую, поэтому число кроссинговеров и, следовательно, расстояние между этими генами, определенное в эксперименте, снижаются. Обычно это относится к достаточно далеко расположенным друг от друга генам. Естественно, что вероятность двойного перекреста всегда меньше вероятности одинарного. В принципе она будет равна произведению вероятности двух единичных актов рекомбинации. Например, если одиночный перекрест будет происходить с частотой 0,2, то двойной – с частотой $0,2 \times 0,2 = 0,04$. В дальнейшем, наряду с двойным кроссинговером, было открыто и явление множественного кроссинговера: гомологичные хроматиды могут обмениваться участками в трех, четырех и более точках.

Цитологическое (цитогенетическое) доказательство кроссинговера.

Прямые цитологические свидетельства обмена частями хромосом во время кроссинговера были получены в начале 30-х годов у дрозофилы и кукурузы. Рассмотрим опыт Штерна, проведенный на *D. melanogaster*. Обычно две гомологичные хромосомы морфологически неразличимы. Штерн исследовал X-хромосомы, которые имели морфологические различия и, следовательно, были гомологичны не полностью. Однако гомология между этими хромосомами сохранялась на большей части их длины, что позволяло им нормально спариваться и сегрегировать в мейозе (то есть нормально распределяться по дочерним клеткам). Одна из X-хромосом самки в результате транслокации, т. е. перемещения фрагмента Y-хромосомы, приобрела Г-образную форму. Вторая X-хромосома была короче нормальной, так как часть ее была перенесена на IV хромосому. Были получены самки, гетерозиготные по указанным двум, морфологически различным, X-хромосомам, а также гетерозиготные по двум генам, локализованным в X-хромосоме: *Bar* (*B*) и *incarnation* (*cr*). Ген *Bar* – это полудоминантный ген, влияющий на количество фасеток и, следовательно, форму глаза (мутанты с аллелем *B* имеют полосковидные глаза). Ген *cr* контролирует окраску глаз (аллель *cr*⁺ обуславливает нормальную окраску глаз, а аллель *cr* – окраску глаз цвета красной гвоздики). Г-образная X-хромосома несла аллели дикого типа *B*⁺ и *cr*⁺, укороченная хромосома – мутантные аллели *B* и *cr*. Самки указанного генотипа скрещивались с самцами, имевшими морфологически нормальную X-хромосому с аллелями *cr* и *B*⁺. В потомстве самок было два класса мух с некрossoверными хромосомами (*crB* / *crB*⁺ и *cr*⁺*B*⁺ / *crB*⁺) и два класса мух, фенотип которых соответствовал кроссоверам (*crB*⁺ / *crB*⁺ и *cr*⁺*B* / *crB*⁺). Цитологическое исследование показало, что у кроссоверных особей произошел обмен участками X-хромосом, и, соответственно, изменилась их форма. Все четыре класса самок имели по одной нормальной, т. е. палочковидной, хромосоме, полученной от отца. Кроссоверные самки содержали в своем кариотипе преобразованные в результате кроссинговера X-хромосомы – длинную палочковидную или двуплечую с короткими плечами. Эти опыты, так же как и одновременно полученные аналогичные результаты на кукурузе, подтвердили гипотезу Моргана и его сотрудников о том, что кроссинговер представляет собой обмен участками гомологичных хромосом и что гены действительно локализованы в хромосомах.

Генетические и цитогенетические карты хромосом

Генетические карты хромосом схемы относительного расположения сцепленных между собой наследственных факторов - *генов*. **Генетические карты хромосом** отображают реально существующий линейный порядок размещения генов в *хромосомах* (см. *Цитологические карты хромосом*) и важны как в теоретических исследованиях, так и при проведении селекционной работы, т.к. позволяют сознательно подбирать пары признаков при скрещиваниях, а также предсказывать особенности наследования и проявления различных признаков у изучаемых организмов. Имея **генетические карты хромосом** можно по наследованию «сигнального» гена, тесно сцепленного с изучаемым, контролировать передачу потомству генов, обуславливающих развитие трудно анализируемых признаков; например, ген, определяющий эндосперм у кукурузы и находящийся в 9-й хромосоме, сцеплен с геном, определяющим пониженную жизнеспособность растения. Многочисленные факты отсутствия (вопреки *Менделя законам*) независимого распределения признаков у гибридов второго поколения были объяснены *хромосомной теорией наследственности*. Гены, расположенные в одной хромосоме, в большинстве случаев наследуются совместно и образуют одну группу сцепления, количество которых, т. о., соответствует у каждого организма гаплоидному числу хромосом (см. *Гаплоид*). Американский генетик Т. Х. Морган показал, однако, что сцепление генов, расположенных в одной хромосоме, у диплоидных организмов (см. *Диплоид*) не абсолютное; в некоторых случаях перед образованием половых клеток между однотипными, или гомологичными, хромосомами происходит обмен соответственными участками; этот процесс носит название перекреста, или *кроссинговера*. Обмен участками хромосом (с находящимися в них генами) происходит с различной вероятностью, зависящей от расстояния между ними (чем дальше друг от друга гены, тем выше вероятность кроссинговера и, следовательно, рекомбинации). Генетический анализ позволяет обнаружить перекрест только при различии гомологичных хромосом по составу генов, что при кроссинговере приводит к появлению новых генных комбинаций. Обычно расстояние между генами на **генетические карты хромосом** выражают как % кроссинговера (отношение числа мутантных особей, отличающихся от родителей иным сочетанием генов, к общему количеству изученных особей); единица этого расстояния - морганида - соответствует частоте кроссинговера в 1%.

Генетические карты хромосом составляют для каждой пары гомологичных хромосом. Группы сцепления нумеруют последовательно, по мере их обнаружения. Кроме номера группы сцепления, указывают полные или сокращённые названия мутантных генов, их расстояния в морганидах от одного из концов хромосомы, принятого за нулевую точку, а также место *центромеры*.

Составить **генетические карты хромосом** можно только для объектов, у которых изучено большое число мутантных генов. Например, у дрозофилы идентифицировано свыше 500 генов, локализованных в её 4 группах сцепления, у кукурузы - около 400 генов, распределённых в 10 группах сцепления. У менее изученных объектов число обнаруженных групп сцепления меньше гаплоидного числа хромосом. Так, у домового мыши выявлено около 200 генов, образующих 15 групп сцепления (на самом деле их 20); у кур изучено пока всего 8 из 39. У человека из ожидаемых 23 групп сцепления (23 пары хромосом) идентифицировано только 10, причём в каждой группе известно небольшое число генов; наиболее подробные карты составлены для половых хромосом. У бактерий, которые являются гаплоидными организмами, имеется одна, чаще всего непрерывная, кольцевая хромосома и все гены образуют одну группу сцепления. При переносе генетического материала из клетки-донора в клетку-реципиент, например, при *конъюгации*, кольцевая хромосома разрывается и образующаяся линейная структура переносится из одной бактериальной клетки в другую (у кишечной палочки в течение 110-120 мин). Искусственно прерывая процесс конъюгации, можно по возникшим типам рекомбинантов установить, какие гены успели перейти в клетку-реципиент. В этом

состоит один из методов построения **генетических карт хромосом** бактерий, детально разработанных у ряда видов. Ещё более детализированы **генетические карты хромосом** некоторых *бактериофагов*.

Цитологические карты хромосом, схематическое изображение *хромосом* с указанием мест фактического размещения отдельных генов, полученное с помощью цитологических методов. **Цитологические карты хромосом** составляют для организмов, для которых обычно уже имеются *генетические карты хромосом*. Каждое место расположения гена (локус) на генетической карте организма, установленное на основе частоты перекреста участков хромосом (*кроссинговера*), на **цитологические карты хромосом** привязано к определённом, реально существующему участку хромосомы, что служит одним из основных доказательств *хромосомной теории наследственности*. Для построения **цитологических карт хромосом** используют данные анализа *хромосомных перестроек* (вставки, делеции и др.) и, сопоставляя изменения морфологических признаков хромосом при этих перестройках с изменениями генетических свойств организма, устанавливают место того или иного гена в хромосоме. Пользуясь методом хромосомных перестроек, амер. генетик К. Бриджес составил в 1935 подробную **цитологические карты хромосом** плодовой мушки дрозофилы, наиболее полно генетически изученного организма. Гигантские хромосомы насекомых отряда двукрылых оказались самыми удобными для построения **цитологических карт хромосом** т.к. наряду с большими размерами обладают чёткой морфологической очерченностью: каждый участок этих хромосом имеет свой определённый и чёткий рисунок, обусловленный характерным чередованием по длине ярко окрашиваемых участков (дисков) и слабо окрашиваемых (междисков). Цитологическими методами легко определить отсутствие участка хромосомы или перенос его в др. место. Сопоставление **цитологических карт хромосом** с генетическими показало, что физическое расстояние между генами в хромосомах не соответствует генетическому (видимо, частота кроссинговера неодинакова в разных участках хромосом), поэтому плотность распределения генов на цитологических и генетических картах хромосом различна. Так было установлено важное генетическое явление - неравномерность частот перекреста по длине хромосомы. Линейное расположение генов и их последовательность, установленные генетическими методами, подтверждаются **цитологическими картами хромосом**. Современные методы цитологии и генетики позволяют построить **цитологические карты хромосом** многих организмов, в том числе человека.

Лабораторная работа № 9

Сравнительный анализ мутантных линий дрозофилы. Экспрессивность и пенетрантность.

Лабораторная работа №10

Множественный аллелизм. Функциональный тест на аллелизм. Изучение показателей структуры популяции *Dr.melanogaster*.

Цель занятия: постановка скрещиваний.

Материал и оборудование. 1. Пробирки или стаканчики со средой по 3-4 на каждого студента для получения F₁ 2. Мутанты w, w^a, sp и мухи дикого типа. 3. Оборудование, необходимое для работы с дрозофилой.

Задание. 1. Подобрать мутанты для скрещивания. 2. Отобрать виргинных самок. 3. Поставить скрещивание в соответствии с разработанным заданием. 4. Получить F₁ и проанализировать его

Пояснение к заданию: Различное состояние одного и того же гена называется аллелями. Переход гена одного аллельного состояния в другое обуславливается мутацией. Ряд состояний одного и того же гена называют серией множественных аллелизмов.

Знакомство с функциональным критерием аллелизма будет осуществляться в связи с решением вопроса о том, являются ли мутации, обуславливающие белую, абрикосовую и киноварного цвета окраску глаз у дрозофилы, серией множественных аллелей. Для решения этого вопроса проводят следующие скрещивания с разными окрасками глаз:

Абрикосовые глаза × *Белые глаза*

Киноварные глаза × *Абрикосовые глаза*

Киноварные глаза × *Белые глаза*

Выполнение задания. 1. В соответствии со схемами скрещиваний подобрать мутанты. 2. Поставить скрещивания, отобрав 2-3 виргинные самки, и поместить в пробирку со свежей средой с 3-5 самцами по каждому типу скрещивания. 3. Через 10 - 12 суток после постановки скрещивания, когда в пробирке начнется массовое вылупление мух F_1 , их следует усыпить и проанализировать. 4. Для знакомства с результатами скрещивания необходимо каждому студенту описать окраску глаз у исходных и гибридных мух в каждом типе скрещивания.

Результаты записать в виде схем.

$P \quad \text{♀ абрикосовые глаза} \times \text{♂ белые глаза}$

↓

$F_1 \quad \text{абрикосовые глаза}$

$P \quad \text{♀ киноварные глаза} \times \text{♂ абрикосовые глаза}$

↓

$F_1 \quad \text{красные глаза (дикий тип)}$

$P \quad \text{♀ киноварные глаза} \times \text{♂ белые глаза}$

↓

$F_1 \quad \text{красные глаза (дикий тип)}$

Исходя из полученных результатов, можно заключить, что мутации, определяющие белую и абрикосовую окраски глаз, аллельны, т. е. произошли в одном гене, так как при скрещивании не появилась окраска дикого типа, а появилась окраска одной из скрещиваемых форм. Киноварные глаза определяются мутацией другого гена, неаллельного гену, определяющему белую и абрикосовую окраски, так как при скрещивании появляется новый признак — красная окраска — дикого типа, т. е. имеет место взаимодействие доминантных, неаллельных генов. Те же схемы скрещивания теперь можно переписать, используя символы генов и хромосом (рис. 16).

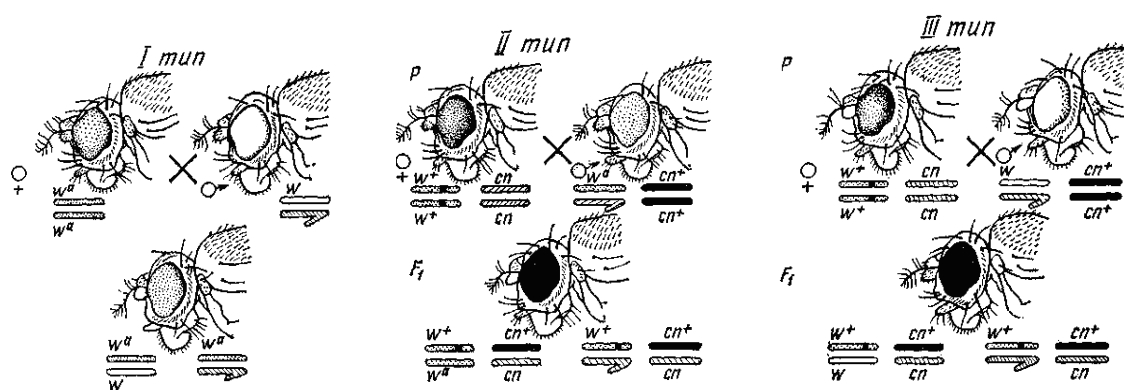


Рис. 16. Схемы скрещиваний, приведенных для определения аллельности мутаций. Обозначения генов окраски глаз: w - белая, w^a - абрикосовая, cn - киноварная, cn^+ - красная.

В первом типе скрещивания аллели гена w (*white*) локализованы в X-хромосоме, обозначаются они w для белой окраски и w^a — для абрикосовой. Это признаки, сцепленные с полом, поэтому самки имеют две аллели, самцы — одну. Мухи F_1 имеют абрикосовую окраску глаз, т. е. такую же, как скрещиваемая самка, значит, эти мутации — аллельны. Во втором типе скрещивания киноварные глаза определяет ген cn во II

хромосоме. У мухи с киноварной окраской глаз этот ген в гомозиготном состоянии. В X-хромосоме они имеют аллель дикого типа гена w , она обозначается w^+ ; мухи же с абрикосовыми глазами (ген w^a в X-хромосоме) во II хромосоме обязательно имеют аллель дикого типа гена sn , которая обозначается sn^+ .

Это же имело место и в первом типе скрещивания. У мух с белыми и абрикосовыми глазами (гены w и w^a в X-хромосоме) во II хромосоме также были аллели sn^+ . Эти аллели, одинаковые у двух скрещиваемых форм, не отражались на результатах скрещивания. Поэтому не были обозначены. Во втором типе скрещивания обозначение их необходимо. Появление мух с красными глазами, т.е. признака дикого типа, в F_1 говорит о неаллельности мутаций, определяющих абрикосовую и киноварную окраску глаз у мух. Само появление признака дикого типа можно объяснить так: аллель w^+ и sn^+ взаимодействуют между собой по типу комплементарности и определяют красную окраску глаз (дикого типа).

Если мутации w^a и sn неаллельны, а w^a и w аллельны, то в третьем типе скрещивания можно ожидать появление мух с красными глазами, что действительно и имело место.

Функциональный тест на аллелизм (тест на комплементарность, транс тест) заключается в получении гибридов (гетерокарионов), у которых две исследуемые мутации находятся на разных гомологичных хромосомах (транс-положение), и анализе их фенотипа. Если обе мутации действуют на разные независимые функции (затрагивают два разных гена), то такой гибрид имеет дикий фенотип, так как образуется дигетерозигота, в которой нормальные аллели доминируют над мутантными. Если исследуемые мутации действуют на одну и ту же функцию (повреждают один и тот же ген), то гибрид должен иметь мутантный фенотип. Этот простой функциональный критерий аллелизма, предложенный в 20-х годах XX века Т. Морганом, усложняется в случаях межгенной некомплементарности и межаллельной комплементации. Цис-тест заключается в получении гибридов (гетерокарионов), у которых обе исследуемые мутации привнесены одним из родителей, тогда как в хромосомах других содержатся нормальные аллели. Очевидно, что гибриды с цис-положением мутаций должны иметь фенотип дикого типа независимо от того, относятся ли исследуемые мутации к одному или разным генам. Это одна из причин редкого использования цис-теста. Другая причина — трудность получения цис-положения мутаций в случае их тесного сцепления. Однако этот тест совершенно необходим для выявления цис-доминантных мутаций в оперонах. С. Бензер в 1957 году предложил назвать генетическую единицу функции, выявляемую с помощью цис-транс-теста, цистроном. Термин «цистрон», являющийся синонимом термина «ген», используют в литературе редко.

Лабораторная работа № 11

Анализ и оценка влияния факторов окружающей среды на популяцию *Dr.melanogaster*.

Лабораторная работа №12

Молекулярные механизмы мутагенеза. Мутагенное действие ионизирующих лучей, УФ лучей, химических соединений.

Цель работы: изучить механизм действия мутагенов.

Задачи работы: 1. Классификация мутагенов. 2. Особенности действия физических мутагенов. 3. Химические мутагены.

Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе: "Мутагенные агенты".

Особенности действия физических мутагенов. В настоящее время известно множество самых разнообразных мутагенов. Рассмотрим механизм действия некоторых из них. К физическим мутагенам относятся: все виды ионизирующее излучение (альфа-, бета-, гамма-, нейтронное и

рентгеновское излучение, протоны, нейтроны и др.), коротковолновое ультрафиолетовое излучение, СВЧ-излучение, действие экстремальных температур. Действие ионизирующего излучения основано на ионизации компонентов цитоплазмы и ядерного матрикса. При ионизации возникают высокоактивные химические вещества (например, свободные радикалы), которые различным образом действуют на клеточные структуры. Рассмотрим наиболее изученные механизмы мутагенного воздействия ионизирующего излучения.

1. Непосредственное воздействие частиц с высокой энергией на ДНК, которое приводит к ее разрывам: одиночным (под воздействием гамма-квантов, рентгеновских лучей) или множественным (под воздействием альфа-частиц, нейтронного излучения). Это универсальный механизм возникновения хромосомных перестроек на всех стадиях клеточного цикла, но он действует очень грубо – обычно клетки теряют способность к нормальному делению и погибают. К разрывам ДНК приводит и ультрафиолетовое облучение.
2. Опосредованное воздействие ионизирующих факторов связано с нарушением структуры ферментов, контролирующих репликацию, репарацию и рекомбинацию ДНК. Этот механизм наиболее эффективно действует на синтетической стадии интерфазы. При больших дозах мутагенов клетки погибают. (Поскольку раковые клетки делятся непрерывно, то облучение является универсальным средством подавления развития метастазов при онкологических заболеваниях – непрерывно делящиеся раковые клетки более уязвимы, чем медленно пролиферирующие или неproлиферирующие нормальные клетки.)
3. Особенности мутагенного действия ультрафиолетовых лучей. ДНК интенсивно поглощает жесткий ультрафиолет с длиной волны ≈ 254 нм. Основным продуктом является образование нуклеотидных димеров: два нуклеотида, расположенных рядом в одной цепи ДНК, «замыкаются» сами на себя, образуя пары «тимин–тимин» и «тимин–цитозин». При репликации ДНК напротив такой пары в достраивающейся цепи могут стать два любых нуклеотида, то есть принцип комплементарности не выполняется. Ультрафиолетовый свет – это сравнительно мягкий мутаген, поэтому его широко используют в селекции растений, облучая проростки.
4. Особенности мутагенного действия экстремальных температур. Собственный мутагенный эффект экстремальных температур не доказан. Однако очень низкие или очень высокие температуры нарушают деление клетки (возникают геномные мутации). Экстремальные температуры усиливают действие других мутагенов, поскольку снижают ферментативную активность репарационных систем. Особенности действия химических мутагенов. К химическим мутагенам относятся самые разнообразные вещества. К химическим мутагенам принадлежат многие алкилирующие соединения (например, иприт, диметилсульфат, нитрозометилмочевина), аналоги азотистых оснований нуклеиновых кислот (например, 5-бромурацил, 2-аминопурин), акридиновые красители,

азотистая кислота, некоторые алкалоиды, формальдегид, перекись водорода и некоторые органические перекиси, некоторые биополимеры (чужеродная ДНК, а также, по-видимому, чужеродная РНК) и многие другие вещества, число которых возрастает по мере обнаружения мутагенного действия соединений, ранее в этом отношении не изученных. Наиболее сильные химические мутагены, увеличивающие частоту мутаций в сотни раз, называются супермутагенами. 74 Алкилирующие агенты. Вызывают алкилирование ДНК (например, метилирование, этилирование и т.д.). В результате при репликации ДНК нарушается принцип комплементарности, и происходит замена нуклеотидных пар: ГЦ → АТ; ГЦ → ЦГ; ГЦ → ТА. Некоторые из алкилирующих агентов в природе не встречаются, их не распознают ферменты защитных систем. Такие вещества называются супермутагенами (например, N-метил-N-нитрозомочевина). Супермутагены применяются в селекции растений для получения индуцированных мутаций; их используют также как стимуляторы роста (в сверхмалых концентрациях). Гидроксиламин. Избирательно аминирует цитозин, что также нарушает принцип комплементарности при репликации ДНК. В результате происходит замена ГЦ → АТ. Нитриты. Осуществляют окислительное дезаминирование гуанина, аденина, цитозина. Также нарушается принцип комплементарности при репликации ДНК. В результате происходит замена АТ → ГЦ. Аналоги оснований. Это вещества, сходные с «обычными» азотистыми основаниями. Однако они способны образовывать комплементарные пары с разными «нормальными» основаниями. Например, при репликации ДНК напротив гуанина вместо цитозина достраивается 5-бром урацил (аналог тимина). В дальнейшем напротив 5-бром урацила достраивается аденин, а напротив аденина – обычный тимин. Этот же процесс может идти и в противоположную сторону. В результате происходят замены: ГЦ → АТ или АТ → ГЦ. К химическим мутагенам условно можно отнести и ряд вирусов (мутагенным фактором вирусов являются, видимо, их нуклеиновые кислоты – ДНК или РНК). По-видимому, мутагены универсальны, то есть могут вызывать мутации у любых форм жизни – от вирусов и бактерий до высших растений, животных и человека, но чувствительность организмов разных видов к действию мутагенов – их мутабельность – различна. Для всех известных мутагенов не существует нижнего предела их мутагенного действия, но с уменьшением дозы любого мутагена падает частота вызываемых ими мутаций (она сравнивается с частотой естественно возникающих мутаций в отсутствии данного мутагена). Существует множество иных химических факторов, обладающих мутагенным, канцерогенным и тератогенным действием. Например, ионы тяжелых металлов, связываясь с ферментами репликации, репарации и рекомбинации, снижают их ферментативную активность. Таким образом, не являясь собственно мутагенами, ионы тяжелых металлов способствуют появлению мутаций. Физические и

химические мутагены широко используются в селекции сельскохозяйственных растений и полезных микроорганизмов с целью получения мутаций, служащих материалом для искусственного отбора. Факторы, вызывающие мутации на генном уровне. В естественных условиях мутация появляется под влиянием факторов внешней и внутренней среды и обозначается термином «естественные (или спонтанные) мутации». Причиной генных, или так называемых точечных, мутаций является замена одного азотистого основания в молекуле ДНК на другое, потеря, вставка, или перестановка азотистых оснований в молекуле ДНК. Отсюда следует – ген, мутирующий у человека могут развиваться патологические состояния, патогенез которого различен. На факторы вызывающие мутации на генном уровне оказало соответствующее влияние окружающей среды (подагру, некоторые формы сахарного диабета). Подобные заболевания чаще проявляются при постоянном воздействии неблагоприятных или вредных факторов окружающей среды (нарушение режима питания и др.). Мутация гена может повлечь за собой нарушение синтеза белков, выполняющих пластические функции. Генные мутации могут быть причиной нарушения транспорта различных соединений через клеточные мембраны. Ультрафиолетовые лучи и ионизирующее излучение. УФ свет, рентгеновские лучи и другие виды ионизирующего излучения оказывают на микроорганизмы как подавляющее жизнедеятельность (летальное), так и мутагенное воздействие. Их специфическое действие еще мало изучено. Исходя из совпадения кривой поглощения нуклеиновых кислот и кривой подавления жизнедеятельности клеток при облучении в зависимости от длины волны, а также частоты мутаций в популяции, можно сделать вывод о том, что УФ-лучи действуют в основном на нуклеиновые кислоты. Наиболее эффективны лучи ближней УФ-области с длиной волны около 260 нм. Побочные повреждения при этом незначительны. Поражаются главным образом пиримидиновые основания. Например, два соседних тиминовых основания в ДНК могут оказаться ковалентно связанными. Наличие таких димеров тимина служит затем источником ошибок при репликации

Лабораторная работа №13.

Спонтанный мутационный процесс.

Цель работы: изучить спонтанный мутационный процесс

Спонтанный мутационный процесс. Факторы, влияющие на спонтанный мутационный процесс. Общие закономерности спонтанного мутационного процесса.

Спонтанными мутациями называют мутации, которые возникают в естественных условиях без специального воздействия мутагенами. Причинами такого мутирования являются как внешние факторы, так и внутренние факторы организма.

1) Внешние факторы спонтанного мутагенеза.

По мнению Н. П. Дубинина, это прежде всего естественный радиационный фон. Он складывается из ионизирующего излучения космических лучей, гамма-излучения Земли и газообразного радиоактивного элемента родона; они облучают организмы снаружи. Изнутри облучение дополняется за счет изотопов калий 40, углерод 14 и др.

С пищей человек получает невероятное количество натуральных веществ, способных вызвать существенные генетические нарушения: содержат мутагены черный перец, сельдерей, пастернак, петрушка, цитрусовые масла. Обладают мутагенным эффектом поврежденные клубни картофеля, заплесневевшие хлеб и фрукты, овощи, орехи; приобретают мутагенный эффект в процессе приготовления при интенсивном нагревании

жир, грибки, мясо, рыба. Мутагены - многие алкогольные напитки. Их генотоксичность зависит как от спирта, так и других компонентов, остающихся после выпаривания. Концентраторами большого числа мутагенов являются грибы.

2) Внутренние факторы спонтанного мутагенеза.

Ряд авторов, в том числе и Н. П. Дубинин, в 1950-х годах при изучении химического мутагенеза предложили *метаболическую* теорию, согласно которой причиной мутирования могут являться продукты обмена веществ в организме - метаболиты, изменяющие физиологическое и биохимическое состояние клетки. М.С. Навашин и Т. Штруббе показали, что в процессе старения семян злаковых при хранении в течение нескольких лет частота мутаций, особенно хромосомных, значительно увеличивается.

Одной из возможных причин этого может быть накопление в генотипе мутаций, блокирующих биосинтез разных веществ, вследствие чего происходит чрезмерное накопление предшественников таких компонентов, которые могут обладать мутагенными свойствами. Среди внутренних факторов естественного мутационного процесса большое значение имеют гены-мутаторы, которые способны резко изменять мутабельность организма. Это мигрирующие генетические элементы. Спонтанный мутационный процесс обуславливается свойством мутабельности генов, системой генотипа, физиологическим состоянием организма и факторами внешней среды.

Общие закономерности мутагенеза

Мутации возникают не мгновенно. Вначале под воздействием мутагенов возникает предмутационное состояние клетки. Различные репарационные системы стремятся устранить это состояние, и тогда мутация не реализуется. Основу репарационных систем составляют различные ферменты, закодированные в генотипе клетки (организма). Таким образом, мутагенез находится под генетическим контролем клетки; это – не физико-химический, а биологический процесс.

Например, ферментные системы репарации вырезают поврежденный участок ДНК, если повреждена только одна нить (эту операцию выполняют ферменты эндонуклеазы), затем вновь достраивается участок ДНК, комплементарный по отношению к сохранившейся нити (эту операцию выполняют ДНК-полимеразы), затем восстановленный участок сшивается с концами нити, оставшимися после вырезания поврежденного участка (эту операцию выполняют лигазы). Существуют и более тонкие механизмы репарации. Например, при утрате азотистого основания в нуклеотиде происходит его прямое встраивание (это касается аденина и гуанина); метильная группа может просто отщепляться; однонитевые разрывы сшиваются. В некоторых случаях действуют более сложные, малоизученные системы репарации, например, при повреждении обеих нитей ДНК. Однако при большом числе повреждений ДНК они могут стать необратимыми. Это связано с тем, что: во-первых, репарационные системы могут просто не успевать исправлять повреждения, а во-вторых, могут повреждаться сами ферменты систем репарации, необратимые повреждения ДНК приводят к появлению мутаций – стойких изменений наследственной информации.

Лабораторная работа №14

Ингибиторы мутагенеза. Выявление мутагенов. Стратегия тестирования на мутагенность. Тест-системы.

Для тестирования всех веществ, с которыми на протяжении жизни человек может контактировать, потребовался бы непомерно большой объем работы, поэтому была признана необходимость первоочередной проверки на мутагенность лекарств, пищевых добавок, пестицидов, гербицидов, инсектицидов, косметических средств, наиболее широко распространенных загрязнителей воды и воздуха, а также производственных вредностей. Второй методологический принцип заключается в выборочности тестирования. Это означает, что вещество анализируется на мутагенность при наличии двух обязательных условий: распространенности в среде обитания человека и наличии

структурного сходства с известными мутагенами или канцерогенами. Отсутствие универсального теста, позволяющего одновременно регистрировать индукцию изучаемым веществом (и его возможными метаболитами) различных категорий мутаций в половых и соматических клетках, служит основанием третьего принципа - комплексного использования специализированных тест-систем. Наконец, четвертый методологический принцип подразумевает ступенчатость тестирования веществ на мутагенную активность. Этот принцип берет начало от одной из первых и наиболее известных схем, предложенной в 1973 г. Б. Бриджесом и предусматривавшей три последовательных этапа исследования.

1. На первом этапе мутагенные свойства вещества изучали простыми и быстро выполнимыми методами (с использованием микроорганизмов и дрозофилы в качестве тест-объектов) для определения его способности индуцировать генные мутации. Выявление такой способности предполагало запрет на применение данного вещества.
2. В случае особой медицинской или экономической значимости мутагена его тестировали на млекопитающих *in vivo*. Аналогичное исследование проводилось также для веществ, не продемонстрировавших мутагенных свойств в тестах первого этапа. Если исследуемый агент не проявлял мутагенных свойств, постулировалась безопасность применения его человеком. Вещества, проявившие мутагенность, либо запрещали для использования, либо, если они относились к категории особо значимых, или незаменимых, исследовали дополнительно.
3. На заключительном этапе проводили тестирование для установления количественных закономерностей мутагенного действия таких специфических веществ и оценку риска применения их человеком. Данная схема послужила прототипом целого ряда методик комплексного тестирования на мутагенность. Принципиально новым шагом на пути развития этого направления следует считать программу, предложенную в 1996 г. Дж. Эшби с соавторами. Исключительно важной особенностью этой программы является ее направленность не только на оценку мутагенности тестируемого вещества, но и на прогноз канцерогенности данного химического соединения и возможного механизма канцерогенеза. Современная система доказательств взаимосвязи между процессами мутагенеза и канцерогенеза включает целый ряд экспериментальных подтверждений обсуждаемой проблемы. Среди них: 1) наличие хорошо изученных наследственных заболеваний, при которых одновременно с повышенной чувствительностью к действию мутагенов наблюдается многократное превышение средней частоты возникновения злокачественных новообразований; 2) четко установленная сопряженность мутагенного и канцерогенного действия противоопухолевых цитостатиков, индуцирующих мутации в соматических клетках и за счет этого оказывающих терапевтическое воздействие, но способных вызывать у леченных онкологических больных развитие вторичных опухолей; 3) накопленные сведения о возможной активации протоонкогенов за счет индукции генных и хромосомных мутаций; 4) описание случаев спорадических моногенных доминантных мутаций, обуславливающих развитие опухолей различных органов. В программе Дж. Эшби постулируется, что вещество не является канцерогеном, если оно не проявляет мутагенного и генотоксического действия *in vivo*. Те же вещества, которым названные эффекты свойственны, являются потенциальными генотоксическими канцерогенами.

Лабораторная работа №15

Генетика и онтогенез. Этапы онтогенеза. Гомеозисные гены.

Онтогенез – это индивидуальное развитие организма. Это совокупность последовательных морфологических, физиологических и биохимических преобразований, которые претерпевает организм от момента его появления до конца жизни.

Неличиночный (яйцекладный) - у ряда беспозвоночных, а также у рыб, пресмыкающихся, птиц и некоторых млекопитающих, яйца которых богаты желтком. Зародыш длительное время развивается внутри яйца.

Внутриутробный тип развития характерен для человека и высших млекопитающих, яйцеклетки которых почти лишены желтка. В материнском организме образуется временный орган - плацента, через который организм матери обеспечивает все потребности растущего эмбриона. Завершается этот тип развития процессом деторождения

Гомеозисные гены (или **гомеотические гены**) - гены, определяющие процессы роста и дифференцировки в организме. Гомеозисные гены кодируют транскрипционные факторы, контролирующие программы формирования органов и тканей

Мутации в гомеозисных генах могут вызвать превращение одной части тела в другую. Гомеозисными мутантами называются такие организмы, у которых на месте органа развивается орган другого типа. Например, у дрозофилы при мутации *antennapedia* формируется конечность на месте антенны.

Гомеозисные гены контролируют работу других генов и определяют превращение внешне неразличимых участков зародыша или определённого органа (ткани, участка тела). В частности, гомеозисные гены контролируют появление различий сегментов многоклеточных животных в раннем эмбриональном развитии. У насекомых гомеозисные гены играют ключевую роль в определении особенностей строения эмбриональных сегментов и структур на них (ноги, антенны, крылья, глаза).

Гомеозисные гены животных относятся к семейству Нох-генов. Однако не все гены этого семейства являются гомеозисными. Так, у дрозофилы к Нох-генам комплекса *Antennapedia* относятся гены *zerknüllt*, *zerknüllt2*, *bicoid* и *fushi tarazu*, которые не являются гомеозисными.

Есть ещё семейство генов ParaHox. В геноме человека есть шесть генов ParaHox (*GSX1*, *GSX2*, *PDX1*, *CDX1*, *CDX2*, *CDX4*), из которых три гена (*GSX1*, *PDX1* (=IPF1), *CDX2*) образуют кластер на хромосоме

1) Определите происхождение систем органов из зародышевых листков.

1.эктодерма

2.мезодерма

3.энтодерма

Варианты ответов

- дыхательная система
- мышцы
- пищеварительная система
- половая система
- кожа
- нервная система
- скелет
- органы чувств
- выделительная система

2) что из перечисленного относится к эмбриогенезу?

Варианты ответов

- гастрюляция
- метаморфозы
- сперматогенез
- дробление
- оплодотворение
- дифференциация тканей

4) В процессе эволюции у животных зародышевые листки развивались в следующей последовательности:

Варианты ответов

- мезодерма, эктодерма, энтодерма
- эктодерма, мезодерма, энтодерма
- эктодерма, энтодерма, мезодерма
- энтодерма, мезодерма, эктодерма

5) Однослойный зародыш, образующийся после завершения процесса дробления яйцеклетки, называется:

Варианты ответов

- бластула
- гастрюла
- нейрула

6) Гастрюляция - это:

Варианты ответов

- образование кишечной полости
- митотическое деление зиготы
- образование двух- или трехслойного зародыша
- развитие отдельных органов

7) Развитие комнатной мухи идёт по этапам:

Варианты ответов

- яйцо – личинка – куколка – муха
- взрослая муха – яйцо – личинка – куколка
- яйцо – личинка – муха
- взрослая муха – яйцо – куколка

8) Личиночный онтогенез встречается у

Варианты ответов

- млекопитающих
- рыб
- птиц
- рептилий
- земноводных
- насекомых

10) Как называется период от рождения до конца жизни?

Варианты ответов

- эмбриональное развитие
- индивидуальное развитие
- постэмбриональное развитие
- оплодотворение

Лабораторная работа № 16

Гены, контролирующие эмбриональную индукцию. Индукция и органогенез.

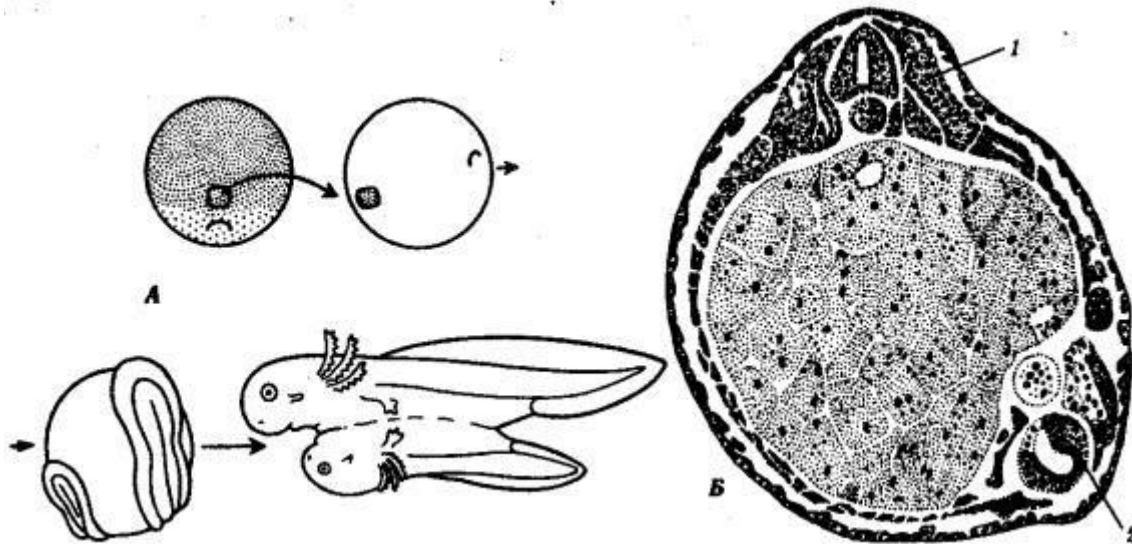
Генетические факторы морфогенеза дрозофилы.

Эмбриональная индукция — это взаимодействие частей развивающегося зародыша, при котором один участок зародыша влияет на судьбу другого участка. Явление эмбриональной индукции с начала XX в. изучает экспериментальная эмбриология.

Классическими считают опыты немецкого ученого Г. Шпемана и его сотрудников (1924) на зародышах амфибий. Для того чтобы иметь возможность проследить за судьбой клеток определенного участка зародыша, Шпеман использовал два вида тритонов: тритона

гребенчатого, яйца которого лишены пигмента и потому имеют белый цвет, и тритона полосатого, яйца которого благодаря пигменту имеют желто-серый цвет.

Один из опытов заключается в следующем: кусочек зародыша из области дорсальной губы бластопора на стадии гастролы тритона гребенчатого пересаживают на боковую или вентральную сторону гастролы тритона полосатого. В месте пересадки происходит развитие нервной трубки, хорды и других органов. Развитие может достичь довольно продвинутых стадий с образованием дополнительного зародыша на боковой или вентральной стороне зародыша реципиента. Дополнительный зародыш содержит в основном клетки зародыша реципиента, но светлые клетки зародыша-донора тоже обнаруживаются в составе различных органов.



Пересадка спинной губы от зародыша-донора на брюшную сторону зародыша-реципиента. А-схема опыта; Б-поперечный срез на стадии закладки двух комплексов осевых органов: 1-первичный зародыш, 2-вторичный, индуцированный зародыш

Из этого и подобных опытов следует несколько выводов. Во-первых, участок, взятый из спинной губы бластопора, способен направлять или даже переключать развитие того материала, который находится вокруг него, на определенный путь развития. Он как бы организует, или индуцирует, развитие зародыша как в обычном, так и в нетипичном месте. Во-вторых, боковая и брюшная стороны гастролы обладают более широкими потенциями к развитию, нежели их презумптивное (предполагаемое) перспективное направление, так как вместо обычной поверхности тела в условиях эксперимента там образуется целый зародыш. В-третьих, достаточно точное строение новообразованных органов в месте пересадки указывает на эмбриональную регуляцию. Это означает, что фактор целостности организма приводит к достижению хорошего конечного результата из нетипичных клеток в нетипичном месте, как бы управляя процессом, регулируя его в целях достижения этого результата.

Использование дрозофил в генетике

Опыты с дрозофилой начал в 1909 году Т.Г. Морган, в 1910 году он обнаружил первую спонтанную мутацию у дрозофилы, после чего создал первую мутационную линию под названием *white*, *w*, несущую белую окраску глаз. В лаборатории Моргана совместно с К. Бриджесом, Дж. Мёллером и А.Г. Стертевантом были получены другие мутационные линии дрозофилы. Помимо генетического, они занимались и цитологическим анализом хромосом дрозофил. С тех пор по настоящее время дрозофила является модельным объектом в большинстве генетических лабораторий мира.

Тип питания дрозофил

В дикой среде плодовые мушки питаются соком растений, гниющими растительными остатками.

Жизненный цикл дрозофилы. *Drosophila melanogaster* относится к насекомым с полным превращением. Внутри яичевой оболочки образуется зигота и протекает эмбриональное развитие. Личинка появляется из яйца, которая питается, растёт и переходит в стадию куколки. После окукливания развивается взрослая особь дрозофилы. Протяженность жизненного цикла во многом зависима от температуры, при которой протекает развитие.

Задания:

1) Иногда у человека возникают такие пороки, как гипертрихоз (повышенное оволосение), полителия (увеличенное количество сосков), полимастия (увеличенное количество млечных желез). С чем это связано?

Ответ: Данные пороки называются атавизмами - появление у особей признаков свойственных предкам, но отсутствующих у ближайших родственников. Причинами этих пороков является наличие генов данных признаков в геноме, которые могут проявляться у каждого новорожденного.

2) Что такое акросома? Какова ее роль в процессе оплодотворения?

Ответ: Акросома представляет собой продукт комплекса Гольджи и лизосомы, расположенный на головке сперматозоида. Его основная функция синтез фермента гиалуронидазы, расщепляющая оболочку яйцеклетки для проникновения сперматозоида в яйцеклетку.

Лабораторная работа №17

Генотип и фенотип. Вариация проявления наследственных признаков в индивидуальном развитии организма. Модификации и норма реакции.

Цель: изучить правильный ход решения задач.

Задача 1:

Нормальный слух у человека обусловлен доминантным геном **A**, а наследственная глухонмота определяется рецессивным геном **a**. От брака глухонемой женщины с нормальным мужчиной родился глухонемой ребёнок. Определите генотипы родителей.

Ход решения задачи:

1. Делаем краткую запись условия задачи:

Дано:

A- нормальный слух

a- глухонмота

Генотип Р - ?

2. Определяем генотипы родителей.

По условию задачи женщина глухонемая, у неё фенотипически проявляется рецессивный признак, поэтому её генотип однозначен - **aa**. Мужчина - с нормальным слухом, у него фенотипически проявляется доминантный признак. Организм, у которого проявляется доминантный признак, может иметь два варианта генотипа - **AA** или **Aa**. Так как по условию задачи точно определить генотип отцовского организма невозможно, но зная, что он содержит доминантный ген, запишем его генотип как **A -**.

3. Записываем схему скрещивания:

Решение:

Р ♀ **aa** × ♂ **A -**

4. Под генотипом подписываем фенотип:

Р ♀ **aa** × ♂ **A -**

глухонемая норм. слух

5. Записываем генотип и фенотип потомства F1:

В потомстве появился глухонемой ребёнок. У него фенотипически проявляется рецессивный признак, поэтому его генотип однозначен - **aa**.

P ♀ **aa** × ♂ **A** -

глухонемая норм. слух

F1 **aa**

глухонемой

6. Анализируем генотипы родителей и потомства.

Зная, что каждая особь F1 получает один ген от материнского организма и один ген от отцовского, видно, что от отцовского организма она получила рецессивный ген.

Следовательно, генотип ♂ - **Aa**.

7. Переписываем схему скрещивания, используя установленные генотипы родителей:

P ♀ **aa** × ♂ **Aa**

глухонемая норм. слух

8. Записываем типы гамет родителей:

P ♀ **aa** × ♂ **Aa**

глухонемая норм. слух



Г

9. Получаем потомков F1:

F1 **aa Aa**

глухонемой норм. слух

50%

10. Проводим анализ скрещивания:

В F1 произошло расщепление 1:1. Такое расщепление получается при скрещивании гетерозиготной особи с особью, гомозиготной по рецессивному признаку. Следовательно, установленные нами генотипы родителей верны.

Краткая запись решения задачи:

P ♀ **aa** × ♂ **Aa** -

глухонемая норм. слух

F1 **aa**

глухонемой

Зная, что каждая особь F1 получает один ген от материнского организма и один ген от отцовского, видно, что от отцовского организма она получила рецессивный ген.

Следовательно, генотип ♂ - **Aa**.

P ♀ **aa** × ♂ **Aa**

глухонемая норм. слух



Г

F1 **aa Aa**

глухонемой норм. слух

50%

По генотипу: 1(**Aa**) : 1(**aa**)

Aa - гетерозиготный организм

aa - гомозиготный организм по рецессивному гену.

По фенотипу: 1 : 1 (50% или 1/2 глухонемых : 50% или 1/2 с нормальным слухом).

Ответ: генотип ♀ - aa, ♂ - Aa.

Модификационная изменчивость - это изменения признаков организмов, не обусловленные изменениями генотипа и возникающие под влиянием факторов внешней среды.

Норма реакции - степень варьирования признака, или пределы модификационной изменчивости.

Модификационная изменчивость - это изменения признаков организмов, не обусловленные изменениями генотипа и возникающие под влиянием факторов внешней среды. Среда обитания играет большую роль в формировании признаков организмов. Каждый организм развивается и обитает в определенной среде, испытывая на себе действие ее факторов, способных изменять морфологические и физиологические свойства организмов, т.е. их фенотип.

Примером изменчивости признаков под действием факторов внешней среды является разная форма листьев у стрелолиста: погруженные в воду листья имеют лентовидную форму, листья, плавающие на поверхности воды, - округлую, а находящиеся в воздушной среде - стреловидную. Под действием ультрафиолетовых лучей у людей (если они не альбиносы) появляется загар в результате накопления в коже меланина, причем у разных людей интенсивность окраски кожи различна.

Модификационная изменчивость характеризуется следующими основными свойствами:

- 1) ненаследуемость;
- 2) групповой характер изменений (особи одного вида, помещенные в одинаковые условия, приобретают сходные признаки);
- 3) соответствие изменений действию фактора среды;
- 4) зависимость пределов изменчивости от генотипа.

Тест 1. Изменчивость, не связанная с изменением генотипа:

1. Определенная.
2. Неопределенная.
3. Фенотипическая.
4. Модификационная.

Тест 2. Управлять доминированием признаков:

1. Можно, воздействуя факторами среды.
2. Нельзя, доминирование заложено в генотипе организма.

Тест 3. Использовать модификационную изменчивость для создания новых пород животных:

1. Можно.
2. Нельзя.

Тест 4. Для эволюции модификационная изменчивость:

1. Не имеет значения.
2. Позволяет приспособиться к различным условиям среды в пределах нормы реакции признаков.
3. Приводит к изменению генотипа, выживут наиболее приспособленные организмы.
4. Приводит к рекомбинации генетической информации.

Тест 5. Верное суждение:

1. Модификационная изменчивость приводит к изменению генотипа.
2. Изменения, появившиеся в результате модификационной изменчивости, наследуются.
3. Модификационная изменчивость используется для создания новых сортов растений.
4. У каждого признака своя норма реакции.

Лабораторная работа №18

Популяционная генетика. Гены в популяциях. Понятие о популяции. Частоты генотипов и аллелей в популяции. Закон Харди-Вайнберга и условия его выполнения.

Цель: ознакомиться с теорией и решить задачу

Что такое популяция

Популяция - это термин, который происходит от латинского — *populatio*, т.е. население. Он обозначает совокупность организмов относящихся к одному виду, которые длительное время обитают на определённой территории (имеют общий ареал обитания) и полностью либо частично изолированы от особей других аналогичных групп того же вида.

Безусловно для понимания данного термина следует привести пример. И, как говорится, будем «тренироваться, на кошках». Поэтому в качестве примера популяции рассмотрим бездомных кошек в городе. Они все принадлежат к одному виду и имеют общий ареал обитания (город), и попасть в другой город для них достаточно проблематично, так как для этого необходимо покрыть огромное расстояние, что обуславливает их относительную изоляцию.

Для чего нужна популяционная генетика

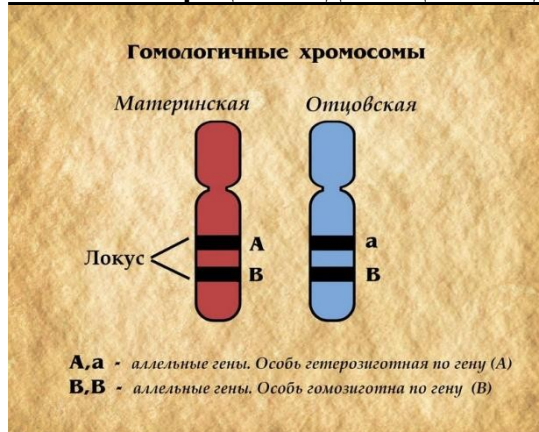
Интерес изучения генетики на популяционном уровне заключается в том, что через популяционный уровень осуществляется генетическая преемственность поколений, а также регуляция таких биологически важных свойств, как численность, плодовитость, устойчивость к заболеваниям и пр.

Таким образом, популяционная генетика — это раздел генетической науки, который изучает распределение частот аллелей (различных форм одного и того же гена, расположенных в одинаковых участках хромосом), а также их изменение под влиянием движущих сил эволюции, определяющих генетическую структуру популяции.

Она является одним из главных элементов синтетической теории эволюции. Механизмы, которые определяют генетическую структуру популяций, можно разделить на две группы:

- поддерживающие равновесие,
- те, которые его нарушают.

К первым относятся естественный отбор и дрейф генов, а ко вторым мутагенез и поток генов. При этом естественный отбор и мутагенез оказывают систематическое воздействие, а дрейф и поток генов — случайное. Тем самым, популяционная генетика объясняет процессы адаптации и видообразования.



В общем исследования в области генетики популяций можно условно разделить на два направления:

1. описание генетического состава популяций
2. анализ причин изменения генофонда популяции.

Закон Харди-Вайнберга

Рассмотрение каждого из механизмов определяющих генетическую структуру популяции, заслуживает отдельной статьи, но понимание их невозможно без рассмотрения ключевого

закона популяционной генетики – закона Харди-Вайнберга или закона равновесного состояния. На нем и остановим своё внимание.

Итак, механизмы этого закона были открыты в 1908 г. английским математиком Харди (Hardy) и немецким врачом (Weinberg) независимо друг от друга.

Для его понимания рассмотрим такое понятие как случайное скрещивание.

Случайное скрещивание – это скрещивание при котором генетическая структура особей не влияет на вероятность формирования брачных пар между ними. Таким образом, в случайно скрещивающихся популяциях частота спариваний носителей различных генотипов пропорциональна доле, частотности данных генотипов в популяции.

Итак, согласно закону Харди-Вайнберга при отсутствии элементарных эволюционных процессов (естественного отбора, мутаций, дрейфа генов и миграции) частоты генов из поколения в поколение остаются неизменными. Соответственно если скрещивания случайны, частота генотипа связана простым квадратичным соотношением с частотой генов (аллелей). Если речь идет об аутосомном локусе, то равновесие генов достигается за одно поколение, и если дополнительные вмешательства, нарушающие структуру популяции, отсутствуют, сохраняется во всех последующих поколениях. Если же мы говорим о сцепленных с полом локусах, равновесные частоты генотипов устанавливаются постепенно.

Таким образом равновесные частоты генотипов определяются произведениями частот соответствующих аллелей. В случае наличия только двух аллелей A (с частотой встречаемости p) и a (с частотой q), частоты каждого из трех возможных генотипов будут выражены уравнением:

$$\begin{matrix} (p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1. \\ A \quad a \quad AA \quad Aa \quad aa \end{matrix}$$

Если мы говорим о трех аллелях A , a , A' с частотами p , q , r , формула будет иметь вид:

$$\begin{matrix} (p + q + r)^2 = p^2 + q^2 + r^2 + 2pq + 2pr + 2qr = 1. \\ A \quad a \quad A' \quad AA \quad aa \quad A'A' \quad Aa \quad AA' \quad aA' \end{matrix}$$

Этот прием возведения в квадрат многочлена может быть использован для определения равновесных частот генотипов при любом числе аллелей. При этом сумма частот генотипов (как и аллелей) всегда должна равняться единице.

Задача: У человека альбинизм – аутосомный рецессивный признак. Заболевание встречается с частотой $1 / 20\,000$. Определите частоту гетерозиготных носителей заболевания в районе.

Лабораторная работа № 19

Факторы динамики генетической структуры популяций. Отсутствие панмиксии. Дрейф генов. Мутационный процесс. Миграции. Отбор.

Цель: ознакомиться с теорией

Сущность динамики генетической структуры популяции выражается в том, что в популяциях происходит непрерывная замена одних генотипов другими. Равновесие генотипов в такой популяции, основанное на сохранении относительных частот генов, зависит от численности популяций и изменяется под влиянием постоянно действующих факторов: мутационного процесса, отбора, миграций.

Мутационный процесс

Мутации составляют первичный источник наследственной изменчивости в популяциях. Хотя отдельные гены мутируют, как правило, редко, общее число различных мутаций может быть очень большим, поскольку число генов у каждого организма велико. В каждом поколении генофонд может пополняться значительным числом новых мутаций. Этот процесс называют *мутационным давлением*. Как показал С. С. Четвериков, для всех природных популяций характерна огромная насыщенность мутантными генами, которые чаще всего находятся в гетерозиготном состоянии: «вид, как губка, впитывает в себя гетерозиготные вариации, сам оставаясь фенотипически однородным». Гетерозиготы, как

правило, имеют более высокую жизнеспособность, чем гомозиготы. У них шире норма реакции генотипа, т. е. больший диапазон приспособительных возможностей, чем у гомозигот, что и обеспечивает им преимущество в выживании.

Нередко мутации, вредные в гомозиготном состоянии, оказываются полезными в гетерозиготе. Примером является ген серповидноклеточной анемии у человека (эритроциты человека имеют не дисковидную форму, а серповидную). Гомозиготы ss по этому гену погибают в возрасте от 3 мес. до 2 лет. В районах распространения малярии ген s широко представлен среди населения в гетерозиготном состоянии (Ss), так как у гетерозигот несколько изменена форма эритроцитов и в них не может существовать малярийный плазмодий. Для него необходимы эритроциты только нормальной формы. Частота встречаемости гена s в малярийно опасных районах удерживается в популяции на довольно высоком уровне: около 20 % коренного населения Африки составляют лица с генотипом Ss. Концентрация гена s в популяции уменьшается в районах, где нет опасности заболевания малярией (среди негров США носители гена составляют лишь 8—9 %).

Чем больше устраняются отбором из популяции гомозиготы, тем больше возрастает роль гетерозигот как поставщиков рецессивных аллелей для последующих поколений. Даже при постоянном вымирании рецессивных гомозигот, рецессивные аллели очень долго сохраняются в популяции в гетерозиготном состоянии.

Дрейф генов или **генетикоавтоматические процессы** — явление ненаправленного изменения частот аллельных вариантов генов в популяции, обусловленное случайными статистическими причинами.

Один из механизмов дрейфа генов заключается в следующем. В процессе размножения в популяции образуется большое число половых клеток — гамет. Большая часть этих гамет не формирует зигот. Тогда новое поколение в популяции формируется из выборки гамет, которым удалось образовать зиготы. При этом возможно смещение частот аллелей относительно предыдущего поколения.

Первые работы по изучению случайных процессов в популяциях были проведены в начале 1930х годов Сьюэлом Райтом в США, Роналдом Фишером в Англии, а также В. В. Лисовским, М. А. Кузнецовым, Н. П. Дубининым и Д. Д. Ромашовым в СССР. Понятие «дрейф генов»

(англ. *genetic drift*) было введено в оборот Райтом (1931), а синонимичное понятие «генетико-автоматические процессы в популяциях» — Дубининым и Ромашовым (1932). Впоследствии в мировой литературе (в том числе и в русскоязычной) закрепился термин С. Райта.

Лабораторная работа № 20

Генетика определения пола. Основные типы детерминации пола. Типы хромосомной детерминации пола. Хромосомные и молекулярно-генетические основы детерминации пола у дрозофилы. Балансовая теория К. Бриджеса. Гены, изменяющие пол.

Цель: ознакомиться с теорией и решением задач

Ген SRY и пол плода

SRY (от англ. sex-determining region Y — определяющая пол область Y-хромосомы) — это ген, который в норме располагается на Y-хромосоме и определяет половое развитие организма по мужскому типу.

Что такое хромосомы? Хромосомы — это особые структуры в ядрах клеток, носители генетической информации (ДНК).

Как хромосомы связаны с полом? В норме каждая клетка человеческого организма содержит 46 хромосом: 44 аутосомы (одинаковы по строению как для мужского, так и для женского организма) и 2 половые хромосомы — XX или XY. Клетки женского организма содержат пару хромосом XX, клетки мужского — XY.

На 4-й неделе внутриутробного развития человека начинают формироваться половые железы. В этот период под действием гена SRY формируется плод мужского пола.

Как по анализу крови матери определить пол плода

Обычно генетическая информация, которую содержит клетка, — ДНК — содержится внутри клеточного ядра. Однако есть небольшие фрагменты ДНК, находящиеся вне клеток и свободно циркулирующие в крови. Их называют внеклеточной ДНК.

Как полагают некоторые учёные, внеклеточная ДНК попадает в кровоток вместе с другим содержимым разрушенных клеток, жизненный цикл которых завершился.

В крови беременной можно обнаружить ДНК плода. Это позволяет провести безопасное генетическое исследование: из крови женщины выделяют ДНК плода и анализируют.

Если по результатам исследования обнаружен ген SRY, то с высокой вероятностью плод мужского пола. Если ген SRY не обнаружен, скорее всего, плод женского пола.

Диагностическая точность определения пола плода по крови матери превышает 99%. Тем не менее гарантировать стопроцентно точный результат исследование не может.

Задача1

У человека доминантный ген А определяет стойкий рахит, который наследует сцепленно с полом. Какова вероятность рождения больных детей, если мать гетерозиготна по гену рахита, а отец здоров?

Детерминация пола – исходное направление развития организма в сторону мужского или женского пола вследствие определенных факторов. У *дрозофилы* контролирующим сигналом является соотношение числа X-хромосом и гаплоидных наборов аутосом. Соотношение 1 дает самок, а 0,5 – самцов. Анеуплоидия по половым хромосомам, сдвигающая это соотношение, дает либо интерсексов, либо бесплодных особей с гипертрофированными половыми признаками (сверхсамка и сверхсамец). Это открытие, сделанное американским генетиком К. Бриджесом в 1921 г., легло в основу балансовой теории детерминации пола. Ключевым геном, «улавливающим» баланс хромосом кариотипа дрозофилы (по соотношению белковых продуктов определенных генов), является ген *Sxl* (*Sex lethal*). В зависимости от баланса хромосом ген *Sxl* экспрессируется по-разному, и сложные каскады других регуляторных генов расходятся в направлении мужского или женского пола.

Хромосомная детерминация пола у *Drosophila*

И у млекопитающих, и у насекомых, таких, как *Drosophila*, пол определяется системой XX/XY. Однако механизмы определения пола у этих групп очень различны. У млекопитающих Y-хромосома играет кардинальную роль в определении мужского пола. Поэтому особи с генотипом X0 – стерильные *самки*, имеющие яичники, матки и яйцеводы (однако, если у них и образуются яйца, то количество их очень невелико). У *Drosophila* детерминация пола

Соотношение X-хромосомы и аутосом у различных половых фенотипов <i>Drosophila melanogaster</i> ¹⁾			
Х-хромосомы	Набор аутосом (A)	Отношение X:A	Пол
3	2	1.50	Метасамка
4	3	1.33	Метасамка
4	4	1.00	Нормальная
3	3	1.00	самка
2	2	1,00	Нормальная
2	3	0.66	самка
1	2	0.50	Нормальная
1	3	0.33	самка
			Интерсекс

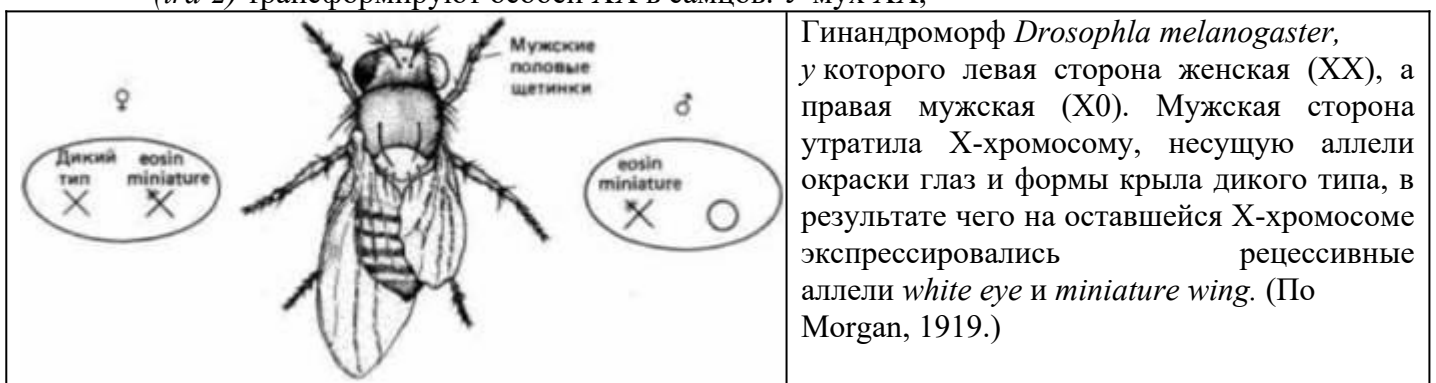
			Нормальный самец Метасамец
1) По Strickberger, 1968.			

обусловлена равновесием между женскими детерминантами на X-хромосоме и мужскими детерминантами на аутосомах (не половых хромосомах). Если в диплоидной клетке находится всего лишь одна X-хромосома (1X:2A), то возникает самец. Если в диплоидной клетке содержатся две X-хромосомы (2X:2A), то развивается самка. Таким образом, дрозофилы с генотипом X0 – стерильные *самцы*. В табл. 21.1 представлены различные соотношения X-хромосом и аутосом и возникающий в результате пол.

У *Drosophila* и насекомых вообще встречаются гинандроморфы – особи, у которых одни части тела мужские, другие – женские (рис. 21.14; цветной рисунок на внутренней стороне обложки). Такие особи возникают в том случае, когда одно из эмбриональных ядер утрачивает X-хромосому. Клетки, содержащие потомки такого ядра, будут не женскими (XX), а мужскими (X0). Поскольку у насекомых нет половых гормонов, модулирующих подобные явления, каждая клетка «выбирает» свой собственный пол. Клетки X0 проявляют мужские признаки, а клетки XX – женские. Эта ситуация служит прекрасным примером связи пола с X-хромосомой. Отсюда можно вывести и другое заключение – в определении пола у дрозофилы Y-хромосома не играет роли. Скорее всего она необходима лишь для обеспечения фертильности самцов. Их Y-хромосома активируется на поздних этапах развития при формировании спермиев.

Любая теория детерминации пола у дрозофилы должна объяснить, каким образом читается отношение X:A и как эта информация передается к генам, контролирующим мужской или женский фенотипы. Пока еще неизвестны внутренние механизмы, позволяющие клеткам узнавать отношение X:A, однако исследования последних 5 лет произвели настоящую революцию в наших представлениях о детерминации пола у дрозофилы. Большая часть этих исследований касается идентификации и анализа генов, необходимых для половой дифференцировки, и приуроченности функции этих генов к последовательным этапам развития.

Как и гомеозисные гены (гл. 18) и гены-переключатели (гл. 11), гены детерминации пола обуславливают выбор между двумя альтернативными путями развития. Мутации большинства из этих генов – *Sex-lethal (Sxl)*, *transformer (tra)* и *transformer-2 (tra-2)* трансформируют особей XX в самцов. У мух XX,



Балансовая теория определения пола

К. Бриджес в 1925 г., изучая уникальные линии дрозофилы с разным числом наборов аутосом (A) и разным количеством X – хромосом, выдвинул предположение о том, что у дрозофилы женский пол определяется не присутствием двух X – хромосом, а мужской – наличием хромосом X и Y, а **соотношением числа половых хромосом и наборов аутосом**. В таблице 2 показано, как определяется пол у дрозофилы согласно балансовой теории.

Гены *женской тенденции* сосредоточены главным образом в X – хромосомах, гены *мужской* – в аутосомах. Это видно из того, что все особи с **балансом**

хромосом (или **половым индексом**) $X : A=1$ представляют собой самок; отношение $X : 2A=0,5$ дает самцов; баланс хромосом с отношением от 1 до 0,5 определяет **интерсексуальность**.

От гинандроморфов интерсексы отличаются тем, что у них отсутствуют различно детерминированные по полу сектора. У интерсексов до определенного момента развития сохраняется генетически детерминированный пол, но затем развитие продолжается в направлении противоположного пола. В результате интерсексы отличаются от нормальных особей тем, что у них первичные и вторичные половые признаки носят промежуточный характер, образуя *непрерывный ряд переходов* от нормального самца к нормальной самке.

Определение пола у дрозофилы согласно балансовой теории

Пол	Число X-хромосом	Число наборов аутосом (A)	Половой индекс $X : A$
Сверхсамки	3	2	1,50
{ Нормальные самки: 4n	4	4	1,00
	3n	3	1,00
2n	2	2	1,00
n*	1	1	1,00
Интерсексы	2	3	0,67
Нормальные самцы	1	2	0,50
Сверхсамцы	1	3	0,33
Примечание - Звездочкой отмечены несуществующие гаплоидные особи, однако участки тканей такой структуры удавалось наблюдать в диплоидных особях. Эти участки имели женские признаки.			

Отношение трех X-хромосом к двум наборам аутосом $3X : 2A = 1,5$ ведет к развитию **сверхсамок**. Напротив, увеличение количества наборов аутосом на одну X-хромосому $X : 3A = 0,33$ определяет развитие **сверхсамцов**. Эти формы называются **суперсексами**.

У сверхсамок и сверхсамцов признаки пола гипертрофированы, однако они бесплодны. Особи с генотипом $2A + XO$ выглядят как самцы, но они также бесплодны, т. к. в Y-хромосоме имеются гены, необходимые для нормального сперматогенеза.

Универсальность балансовой теории определения пола

Многочисленные факты подтверждают предложенную К. Корренсом **балансовую теорию определения пола**. В современной интерпретации она гласит: пол особи определяется **балансом генов**, детерминирующих мужской и женский пол и локализованных в **любых хромосомах**.

Так, у *человека*, в отличие от дрозофилы, Y-хромосома играет большую роль в определении пола. При отсутствии Y-хромосомы и любом числе X-хромосом особь фенотипически определяется как женская. Наличие Y-хромосомы определяет развитие мужского пола. У *тутового шелкопряда* Y-хромосома сдвигает баланс, определяя женский пол, независимо от числа X-хромосом в кариотипе и степени пloidности.

Балансовая теория определения пола оказалась приложимой и к высшим растениям. У *дремы (Melandrium)* пол определяется прежде всего балансом X- и Y-хромосом. Изменение количества аутосом эффекта не дает.

В то же время известны случаи, когда пол особей определяется не балансом хромосом, а взаимодействием определенных генов. Например, у одного из видов наездника *Habrobracon*, родственного пчелам, мужской пол может развиваться в результате комплементарного межallelельного взаимодействия двух генов.

Балансовая теория определения пола сейчас является **общепринятой**. Она показывает генетически обусловленную потенциальную **бисексуальность** всех раздельнополых

организмов и их гамет. При этом механизмы, поддерживающие баланс генов, могут быть разными

Лабораторная работа №21

Хромосомные и молекулярно-генетические основы первичной детерминации пола у человека. Роль Y-хромосомы в детерминации пола. Роль аутосомных генов в детерминации пола. Зависимые от пола и ограниченные полом признаки.

Цель: ознакомиться с теорией

В формировании признаков пола выделяют четыре уровня:

- хромосомное определение пола;
- определение пола на уровне гонад;
- фенотипическое определение пола (половых признаков);
- психологическое определение пола.

Хромосомное определение пола у животных и человека происходит в момент оплодотворения. Для человека это формирование кариотипа 46 XX или 46 XY, что **определяется гаметой гетерогаметного пола**. У человека женский пол гомогаметный, а мужской пол гетерогаметный. У птиц и бабочек, наоборот, самцы гомогаметные, а самки - гетерогаметные. У прямокрылых насекомых самки гомогаметны, с кариотип XX, а самцы гетерогаметны - XO, у последних отсутствует у-хромосома.

Определение пола на уровне гонад у человека начинается с того, что на 3 - й неделе эмбрионального развития в энтодерме желточного мешка появляются первичные зародышевые клетки, которые под действием хемотаксических сигналов мигрируют в область закладки гонад (половых желез). Дальнейшее развитие признаков пола определяется наличием или отсутствием в кариотипе у-хромосомы.

Семенники развиваются, если имеется Y-хромосома. Под контролем у-хромосомы в первичных зародышевых клетках начинает синтезироваться H-Y-антиген, который кодируется структурным аутосомным геном, контролируемым Y-хромосомой. Для превращения зачатка гонады в семенник достаточно уже малой концентрации H-Y-антигена. На развитие семенников также оказывает влияние, по меньшей мере, ещё 19 генов: аутосомных и сцепленных с X-хромосомой. А под действием хориогонического гонадотропина, секретируемого плацентой матери, в семенниках начинают вырабатываться мужские половые гормоны (андрогены) - это тестостерон и 5-дигидротестостерон.

Фенотипическое определение пола в виде развития внутренних и наружных половых органов и развития всего фенотипа по мужскому типу происходит следующим образом. Сцепленный с X-хромосомой ген (Tfm^+) кодирует белок-рецептор, который, связываясь с тестостероном, доставляет его в ядра клеток, где тестостерон активизирует гены, обеспечивающие дифференцировку развивающегося организма по мужскому типу, в том числе и развитие семявыносящих путей. У зародыша человека из протока первичной почки формируются два протока: мюллеров и вольфов. У мужчин редуцируются мюллеровы протоки, а вольфовы преобразуются в семенные протоки и семенные пузырьки. При мутации гена Tfm^+ и дефекте, рецепторов тестостерона может развиваться синдром **тестикулярной феминизации**. В таких случаях у лиц с мужским кариотипом наружные половые органы развиваются по женскому типу. При этом влагалище бывает укорочено и заканчивается слепым мешком, а матка и маточных трубы отсутствуют. По пропорциям тела такие женщины приближаются к типу манекенщиц. Отмечается аменорея (отсутствие менструаций). В то же время молочные железы развиты нормально. Психологическое развитие у них осуществляется по женскому типу, хотя имеет место мужской кариотип и вместо яичников у них присутствуют семенники, которые располагаются либо в больших половых губах, либо в паховом канале, либо в брюшной полости. Сперматогенез отсутствует.

Рецепторы к гормонам имеют не только клетки-мишени тех или иных половых органов, но и нейроны головного мозга. Влияние гормонов на головной мозг начинается уже в эмбриональном периоде, что сказывается в дальнейшем и на особенностях сексуального поведения.

Если в кариотипе зиготы отсутствует У - хромосома, формируется женский фенотип без участия специальных регуляторных факторов. При этом из двух протоков, формирующихся из протока первичной почки, вольфов проток редуцируется, а мюллеровы преобразуются в матку и маточные трубы.

Вторичная детерминация пола — это развитие женского или мужского фенотипов, обусловленное гормонами, которые вырабатывают яичники или семенники. И женская, и мужская детерминация пола включает два главных временных компонента. Первый из этих компонентов реализуется в период органогенеза, второй — в юношеский период.

Размножение организмов

1. Определите тип яйцеклетки: «Яйцеклетка содержит большое количество желтка сосредоточенного в центре клетки, активная зона цитоплазмы и ядро расположены по поверхности. Такая яйцеклетка есть у насекомых.

Ответ: Тип яйцеклетки центролецитальный

2. У девятипоясного броненосца тату всегда рождается четное количество одинаковых детенышей. Как вы считаете, что происходит у этого животного при оплодотворении?

Ответ: У этого животного происходит оплодотворение нескольких яйцеклеток и в норме на стадии тотипотентных бластомеров происходит развитие монозиготных близнецов.

3. Объясните, в чем заключается сходство способов размножения у одноклеточных организмов - дрожжевых грибов и многоклеточных организмов – кишечнополостных? Какие преимущества дает этот способ размножения?

Ответ: Для этих групп организмов характерно бесполое размножение путем почкования. Это решает вопрос быстрого размножения и увеличения количества особей в популяции.

4. Сперматозоиды в семенной жидкости развивают скорость, равную 5см/ч, что применительно к их размерам, примерно в 1,5 раза быстрее, чем скорость пловца-олимпийца. Объясните, какие особенности их организации обуславливают такую скорость передвижения?

Ответ: В шейке сперматозоида расположена митохондрия спирального строения, в ней вырабатывается энергия необходимая на активное передвижение, большую часть энергии сперматозоид получает в виде фруктозы, которой много в эякуляте. Жгутик, состоящий из 9 пар микротрубочек и дуплет – в центре, является органоидом активного передвижения.

Лабораторная работа №22

Регуляция генной активности. Регуляция генной активности на уровне транскрипции. Этапы транскрипции.

Цель: ознакомиться с регуляцией генной активности

Разработка теории оперона Ф. Жакобом и Ж.Моно (1961 г.) дала представление о регуляции генной активности в клетке.

Энергетических ресурсов клетки не хватает для одновременного осуществления транскрипции и трансляции всех структурных генов. Поэтому постоянно экспрессируются только те гены, которые кодируют белки, поддерживающие основные клеточные функции, а транскрипция остальных структурных генов регулируется. Когда у клетки возникает потребность в каком-то белке (белках), то инициируется транскрипция соответствующего структурного гена (генов), а когда такая потребность исчезает, транскрипция выключается.

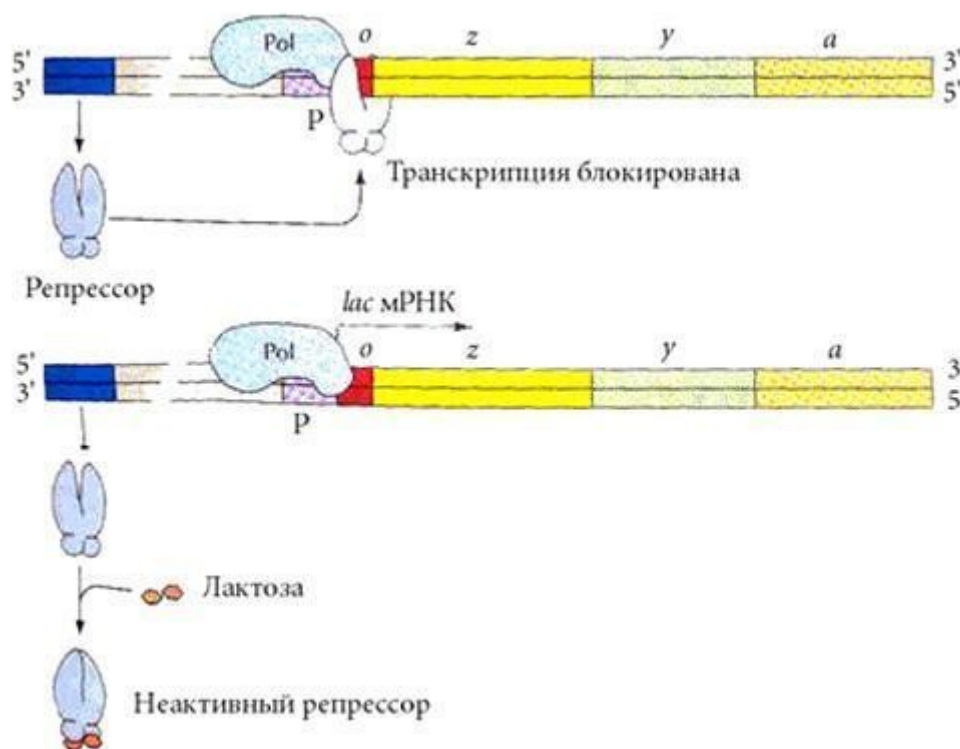
Оперон – единица генетической экспрессии, состоящая из одного или нескольких связанных друг с другом структурных генов, а также промотора и оператора.

Интенсивность транскрипции определяется **промотором**, который распознается ферментом РНК-полимеразой и указывает место, где должна начинаться транскрипция. Перед группой структурных генов находятся общий для них промотор и общий **оператор**. Интенсивность транскрипции регулируется в результате взаимодействия оператора **белком-репрессором**, который, присоединяясь к оператору, блокирует транскрипцию. В зависимости от ситуации в клетке репрессор закрывает или открывает оператор и начинается транскрипция гена.

Например, Лас-оперон *E. coli* содержит 3 гена, отвечающие за образование белков, участвующих в переносе в клетку дисахарида лактозы и в ее расщеплении:

- 1) Z- β - галактозидаза (расщепляет лактозу на глюкозу и галактозу).
- 2) Y- β - галактозидпермеаза (переносит лактозу через мембрану клетки).
- 3) A - тиогалактозидтрансацилаза (ацетирует галактозу).

В отсутствие в клетке лактозы лас-оперон выключен. Активный белок - репрессор, кодируемый в моноцистронном опероне (*LacI*), не имеющем оператора, связан с оператором лас-оперона. Поскольку оператор перекрывается с промотором, даже посадка РНК-полимеразы на промотор невозможна. Как только некоторое количество лактозы попадает в клетку, две молекулы субстрата (лактозы) взаимодействуют с белком - репрессором, изменяют его конформацию - и он теряет сродство к оператору. Тут же начинается транскрипция лас-оперона и трансляция образующейся мРНК; три синтезируемых белка участвуют в утилизации лактозы. Когда вся лактоза переработана, очередная порция репрессора, свободного от лактозы, выключает лас-оперон



Регуляция транскрипции у эукариот осуществляется с помощью специфических белков – факторов транскрипции. В отличие от прокариот у эукариот опероны в большинстве своем отсутствуют, т.е. каждый эукариотический структурный ген имеет свой собственный набор регуляторных элементов.

СТАДИИ ТРАНСКРИПЦИИ

Выделяют три стадии транскрипции: инициация, элонгация и терминация.

ИНИЦИАЦИЯ

Промотор содержит стартовый сигнал транскрипции – ТАТА-бокс – определенную последовательность нуклеотидов ДНК, связывающую первый фактор инициации ТАТА-фактор. Этот ТАТА-фактор обеспечивает присоединение РНК-полимеразы к той нити ДНК, которая будет использоваться в качестве шаблона для транскрипции (матричная нить ДНК). Так как промотор ассиметричен ("ТАТА"), то он связывает РНК-полимеразу только в одной ориентации, что определяет направление транскрипции от 5'-конца к 3'-концу (5'→3'). Для связывания РНК-полимеразы с промотором необходим еще один фактор инициации – σ -фактор (греч. σ – "сигма"), но сразу после синтеза затравочного фрагмента РНК (длиной 8-10 рибонуклеотидов) σ -фактор отрывается от фермента.

Другие факторы инициации раскручивают спираль ДНК перед РНК-полимеразой.

ЭЛОНГАЦИЯ

Белковые факторы элонгации обеспечивают продвижение РНК-полимеразы вдоль ДНК и расплетают молекулу ДНК на протяжении примерно 17 нуклеотидных пар. РНК-полимераза продвигается со скоростью 40-50 нуклеотидов в секунду в направлении 5'→3'. Фермент использует АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ одновременно в качестве субстрата и в качестве источника энергии.

Лабораторная работа №23

Негативная и позитивная регуляция генной активности. Регуляция экспрессии генов. Неспецифическая регуляция генной активности.

Цель: изучите теорию и ответьте на вопросы

Негативная и позитивная регуляция генной активности. В зависимости от характера взаимодействия оператора и регуляторного белка у прокариот различают два типа регуляции активности генов в опероне: негативную и позитивную. При негативной, или отрицательной, регуляции связывание регуляторного белка с оператором репрессирует работу оперона, а при позитивной -наоборот, активирует его . В свою очередь негативной и позитивной могут быть как индукция, так и репрессия. В случае негативной индукции индуктор делает регуляторный белок неспособным связываться с оператором, и при этом структурные гены транскрибируются как, например, в лактозном опероне. При негативной же репрессии регуляторный белок приобретает свойства репрессора после взаимодействия с корепрессором. Таким корепрессором в триптофановом опероне служит накопленный в клетке триптофан, взаимодействие его с регуляторный белком приводит к подавлению транскрипции. При позитивной, или положительной, индукции под влиянием индуктора регуляторный белок (апоиндуктор) связывается с оператором и помогает РНК-полимеразе начать транскрипцию. В случае же позитивной репрессии корепрессор инактивирует апоиндуктор и тем самым способствует прекращению транскрипции. Поскольку при транскрипции оперона, состоящего из нескольких структурных генов, образуется один общий транскрипт в виде молекулы полицистронной мРНК, все эти гены экспрессируются координированно. Лактозный оперон. Наиболее хорошо изученный способ регуляции транскрипции у бактерий - негативная регуляция с использованием белков-репрессоров, которая обычно рассматривается на примере *lac*-оперона. Протяженность лактозного оперона вместе с регуляторным геном составляет 6000 п.н. Между регуляторным геном *lac* 1 и первым структурным геном *lac* Z расположены координирующие элементы, каждый из которых состоит из нескольких десятков пар нуклеотидов. Промотор состоит из 85 п.н., оператор - из 26 п.н. Левая часть промотора

связывается с белком-активатором (БАК, или CAP), а правая часть с РНК-полимеразой. Все три гена Z, Y, A транскрибируются на одну полицистронную мРНК, с которой последовательно транслируются соответствующие белки (галактозидаза, галактозид-пермеаза и трансацетилаза). Регуляторный ген *lacI*, расположенный на некотором расстоянии от регуляторной части оперона, имеет свой промотор и терминатор. Белок, транслируемый с мРНК этого гена, называется репрессором, поскольку он, присоединяясь к оператору, преграждает путь РНК-полимеразе к структурным генам, препятствуя транскрипции. Если единственным источником энергии служит лактоза, репрессор инактивируется в результате присоединения к нему ее молекул. При этом промотор остается открытым для продвижения РНК-полимеразы и инициации транскрипции структурных генов оперона. Мутации в гене белка-репрессора приводят к конститутивному синтезу белков лактозного оперона, поскольку при этом репрессор «не мешает» РНК-полимеразе транскрибировать структурные гены. Рассмотренный механизм регуляции *lac*-оперона показывает, каким образом активируется синтез белков лактозного оперона при появлении в среде лактозы. Однако активации не происходит, если поставщиком углерода и энергии в среде служит только глюкоза. Существует механизм репрессии лактозного оперона, основанный на использовании белка-активатора CAP. Этот белок играет роль регулятора для нескольких генетических систем, ответственных за использование лактозы, галактозы и арабинозы, как альтернативных источников энергии и углерода. Белок-активатор существенно увеличивает сродство РНК-полимеразы к соответствующим промоторам после присоединения к нему молекулы сАМР (циклического аденозинмонофосфата). В присутствии глюкозы уровень сАМР остается низким, и активации оперонов, ответственных за использование лактозы, галактозы и арабинозы, не происходит. Уровень сАМР в клетке возрастает при исчезновении глюкозы (сигнал «голода»), и белок CAP вместе с молекулой сАМР присоединяется к ДНК в районе промоторов трех оперонов, создавая одно из необходимых условий для начала транскрипции.

1. Определите правильность суждений:

А. Рибосома имеет 2 центра: пептидилный (П) и аминокислотный (А)	ДА НЕТ
Б. Элонгация - окончание синтеза белка	ДА НЕТ
В. Регуляция экспрессии генома у эукариот осуществляется только на уровне транскрипции	ДА НЕТ
Г. Сайленсеры – ослабляют транскрипцию	ДА НЕТ

2. Процесс спонтанного сворачивания полипептидной цепи в уникальную нативную пространственную структуру (так называемая третичная структура):

- А) Сплайсинг
- Б) Фолдинг
- В) Репликация
- Г) Элонгация

3. Верно ли утверждение: Во всех клетках содержатся одинаковые гены, но экспрессируются они не одинаково.

- А) Да
- Б) Нет

4. Верно ли утверждение: Молекулы РНК, синтезированные в ходе транскрипции, у эукариот подвергаются существенным модификациям.

- А) Да
- Б) Нет

5. Структура, состоящая из молекул РНК и белков, и осуществляющая удаление интронов из предшественников мРНК называется

- А) Энхансер
- Б) Сайленсер
- В) Сплайсосома
- Г) Транскриптон

6. Процесс увеличения копий соответствующих генов – это ...

- А) Метилирование
- Б) Амплификация
- В) Фосфорилирование
- Г) Ацетилирование

7. Выберите несколько правильных ответов:

- А) Некодирующие – экзоны, кодирующие – интроны
- Б) Шапероны - белки, главная функция которых состоит в увеличении копий генов
- В) Экспрессия генов эукариот отличается от прокариот
- Г) У эукариот имеются несколько типов РНК-полимераз
- Д) Трансляция происходит в ядре
- Е) У эукариот любой ген представляет чередующиеся кодирующими и не кодирующими последовательностями

8. Установите соответствие:

1. Прокариоты	А. Один тип РНК-полимераз
2. Эукариоты	Б. Трансляция происходит отдельно от транскрипции
	В. Сплайсинг пре-РНК
	Г. Трансляция и транскрипция не разделены ни в пространстве, ни во времени
	Д. Отсутствуют интроны
	Е. Ген состоит из экзонов и интронов

Неспецифическая регуляция генной активности может проявиться на разных уровнях организации генетического материала (генном, хромосомном, геномном). Примером неспецифической регуляции на генном уровне может служить потеря активности любого гена, попавшего в гетерохроматин, при этом наблюдается так называемый «эффект положения генов». Так, у гетерозиготных самок w^+/w проявляется аллель $white$ из-за потери активности нормального аллеля вследствие переноса его в прицентромерный гетерохроматин с помощью инверсии. Примером регуляции активности генов на хромосомном уровне является потеря активности генов в половом хроматине, т.е. в гетерохроматизированных половых хромосомах. Факультативная гетерохроматизация достигается в этих хромосомах за счет плотной упаковки хроматина. Вследствие такой конденсации гены, локализованные в этих половых хромосомах, не транскрибируются. В ходе развития может быть инактивирован и весь геном. У диплоидных самцов мучнистого червеца *Planosoccus citri* теряют активность все «отцовские» хромосомы, которые также, как и половые хромосомы у млекопитающих, способны к факультативной гетерохроматизации. Самцы этого вида имеют эухроматиновый материнский набор хромосом и гетерохроматиновый гаплоидный набор, полученный от отца, в то время как у самок активны оба набора хромосом, поэтому самцы мучнистого червеца, несмотря на наличие диплоидного набора хромосом, функционально гаплоидны.

У дрозофилы единственная X-хромосома самца направляет синтез такого же количества генных продуктов, как и обе функционально активные X-хромосомы самки. На цитологических препаратах пол итенных хромосом она выглядит значительно более рыхлой, чем X-хромосомы самки или аутосомы. Повышенная разрыхленность структуры хромосом, как известно, тесно коррелирует с более высоким уровнем транскрипции.

Кроме того, в X-хромосоме самца обнаружено повышенное содержание негистоновых (регуляторных) белков, составляющее порядка 80% от такового в двух X-хромосомах самки.

Лабораторная работа № 24.

Компенсация дозы генов (у дрозофилы). Регуляция генной активности на уровне репликации.

Цель: ознакомьтесь с теорией

Основные открытия в области дозовой компенсации у дрозофилы были сделаны в результате анализа политенных хромосом слюнных желез личинок. У самцов (XY) единственная политенная X-хромосома должна бы быть наполовину тоньше, чем две спаренные аутосомы или две спаренные X-хромосомы у самки. Однако на цитологических препаратах она тоньше только на 25% и выглядит значительно более разрыхленной, чем остальные хромосомы и X-хромосомы у самки. Вообще известно, что разрыхленность структуры хромосом связана с более активной транскрипцией в них. Компактный материал транскрипционно неактивен, декомпактизованный разрыхленный материал обнаруживает высокую активность в синтезе РНК

Уже первые эксперименты показали, что в единственной политенной X-хромосоме самца количество негистоновых белков примерно в 1,5 раза больше, чем было бы в одной X-хромосоме самки. Разрыхленность структуры и обогащенность негистоновыми белками является структурной основой для дозовой компенсации. Действительно, интенсивность транскрипции в одной X-хромосоме самца в два раза выше, чем в одной X-хромосоме самки

Оказалось, что существует целый механизм, контролирующий формирование разрыхленной структуры единственной X-хромосомы самца. Выделены продукты 4-х генов: *msl-1*, *msl-2*, *msl-3* и *mle* (MSL-белки), участвующих в этом процессе. Все четыре MSL белка образуют комплекс и связываются с сотнями участков X-хромосомы самца, обеспечивая диффузность ее структуры. Присутствие в комплексе каждого из MSL белков необходимо для нормального функционирования всего комплекса

В белке **MSL-2** был обнаружен особый участок, имеющий способность интенсивно связываться с ДНК и называемый ринг-фингером, **MSL-3** белок по-видимому имеет другой активный участок - "хромо-домен" - особенность, характерную для белков, связывающихся с хроматином. Кроме MSL белков в этом процессе участвуют молекулы других белков - гистонов H4. Гистоны обычно выполняют обратную функцию - в комплексе с молекулой ДНК они образуют нуклеосомы, в составе которых ДНК упаковывается более плотно и становится более компактной. Гистоны H4, декомпактизирующие X-хромосому, отличаются от гистонов H4, компактизирующих ДНК тем, что они модифицированы: аминокислота лизин, находящаяся в 16 положении в молекуле H4, у них ацетилирована, т.е. содержит ацетильный остаток. Оказалось, что такие модифицированные, или *H4Ac16*, гистоны в хромосомах локализуются в тех же самых районах, что и MSL белки

Предполагают, что белки MSL взаимодействуют с регуляторными элементами хромосом, контролирующими транскрипцию и структуру хроматина. Молекулярный анализ гена *mle* показал, что он имеет гомологию с известными ранее генами, участвующими в расплетании двух цепей ДНК - процесса, необходимого для транскрипции (фермент хеликаза)

Дозовая компенсация у дрозофилы контролируется тем же геном *Sxl*, который осуществляет и общий контроль за развитием пола. Нормальный белок гена *Sxl* предотвращает дозовую компенсацию у самок, не позволяя белкам MSL

расположиться на их X-хромосомах. В случае мутации гена *Sxl*, белки MSL появляются в X-хромосомах самок, нарушая тем самым весь процесс дозовой компенсации. Полагают, что белок гена *Sxl* взаимодействует в первую очередь с геном *msl-2* (Рисунок 1).

У самок ген *Sxl* находится во “включенном” состоянии и он подавляет трансляцию мРНК гена *msl-2*. Небольшой интрон в 5'-нетранскрибируемом районе (UTR на Рисунке 1) удаляется в транскрипте гена *msl-2* у самца, но сохраняется в транскрипте самки. Таким образом, белок гена *Sxl* непосредственно контролирует альтернативный сплайсинг этого интрона. В гене *msl-2* есть ещё, один сайт связывания с белком SXL - на 3'-конце (3'UTR на Рисунке 1). Непонятно каким образом всё, это влияет на трансляцию гена *msl-2* у самки, тем не менее, продукт гена *msl-2* не поступает в ядро. В его отсутствие, другие белки не способны ассоциировать с X-хромосомами, ацетилированные формы гистонов H4Ac16 не накапливаются, и X-хромосома самки не становится сверхактивной в транскрипции (Рисунок 1)

У самцов ген *Sxl* выключен. В отсутствие белка *Sxl* ген *msl-2* экспрессируется полностью, и весь набор белков ассоциируется с X-хромосомой самца. В результате происходит и ацетилирование гистонов H4, и как следствие, изменение структуры хроматина с последующей гиперактивацией транскрипции

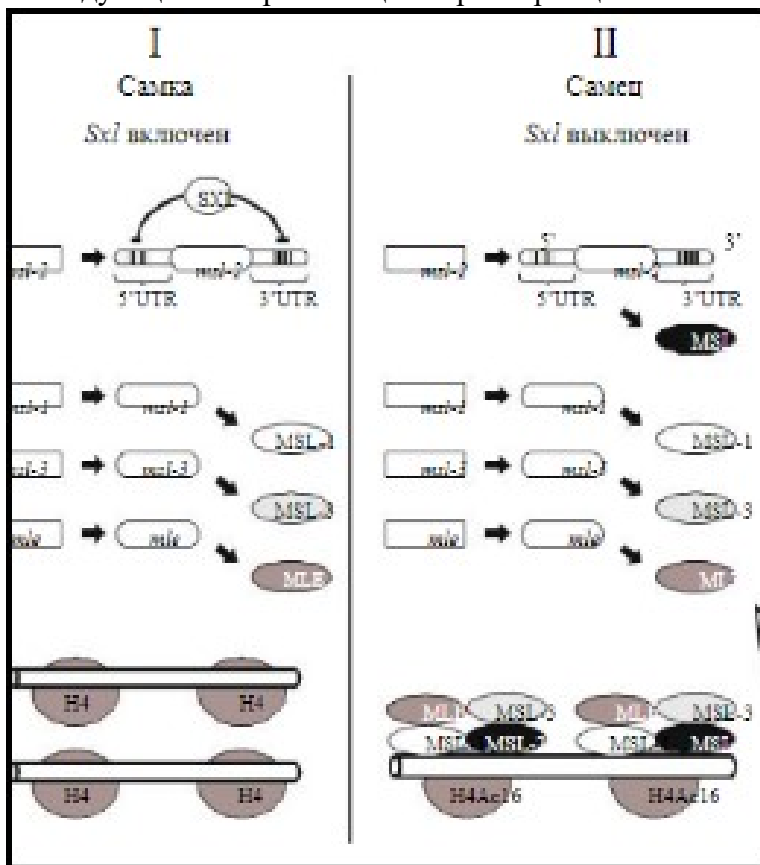


Рисунок 1 – Схема регуляции дозовой компенсации у дрозофилы

Лабораторная работа №25

Трансляционная и посттрансляционная регуляция генной экспрессии

Трансляционная регуляция экспрессии генов эукариот Трансляционная регуляция включает в себя механизмы, предотвращающие синтез белка. Как правило, речь идет о белковых факторах необходимых для трансляции, в том числе факторы инициации трансляции, или о белках, предотвращающих сборку рибосомы на мРНК. Посттрансляционная регуляция экспрессии генов у эукариот Посттрансляционная регуляция включает в себя механизмы, действующие на белок после его синтеза. Выделяют три основных направления в посттрансляционной регуляции экспрессии генов:

- Активация белков. Известно, что многие белки становятся функционально активны только после прохождения посттрансляционных модификаций, которые очень разнообразны. Наиболее широко распространенной модификацией является фосфорилирование. Фосфорилируют в клетке ферменты киназы.
- Feedback Control. Некоторые ферменты в метаболических путях могут быть негативно ингибированы продуктами этого же пути.
- Деградация белков

Тесно связанная последовательность структурных генов, определяющих синтез белков, которые участвуют в одной цепи биохимических преобразований:

Варианты ответов

- Оператор
- Активатор
- Оперон
- Репрессор

Вопрос 2

Общая теория регуляции экспрессии генов метаболизма лактозы у кишечной палочки была разработана в 1961 году учеными:

Варианты ответов

- С. Коэн и Г. Бойер
- Ф. Жакоб и Ж. Моно
- Ф. Крику и Дж. Уотсону
- А. Флеминг и Д. Бидл

Вопрос 3

Эффекторы, запускающие транскрипцию:

Варианты ответов

- Модуляторы
- Репрессоры
- Активаторы
- Индукторы

Вопрос 4

Последовательность нуклеотидов ДНК, узнаваемая РНК-полимеразой при транскрипции:

Варианты ответов

- Промотор
- Стартовый кодон
- Трейлер
- Структурная часть

Вопрос 5

Лактозный оперон прокариотической клетки включает в себя:

Варианты ответов

- Структурные гены
- Промотор
- Промотор, оператор, структурные гены
- Оператор, структурные гены

Лабораторная работа №26

Геномика и геномные технологии. Методы получения и обработки ДНК

Цель :ознакомится с геномикой и геномными технологиями

Самым первым был прочтен ген белка оболочки РНК-вируса, бактериофага MS2, изученный в лаборатории Валтера Файерса в 1972 г. [2]. В 1976 г. была расшифрована первичная и вторичная структура гена его репликазы – фермента, отвечающего за

размножение вирусных частиц [3]. Короткие молекулы РНК тогда уже читались сравнительно легко, но крупные молекулы ДНК читать толком еще не умели. К примеру, полученная в 1973 г. Вальтером Гилбертом и Алленом Максамом [4] последовательность участка гена лактозного оперона, длиной в 24 нуклеотида, рассматривалась как существенный прорыв в науке. Вот эта последовательность:

5'—TGGAATTGTGAGCGGATAACAATT

3'

3'—ACCTTAACACTCGCCTATTGTTAA 5'

Первые техники чтения ДНК были очень неэффективными и использовали радиоактивные метки для ДНК и химические методы различения нуклеотидов. Например, можно было взять ферменты, которые разрезают нуклеотидную последовательность с разной вероятностью после разных «букв». Молекула ДНК состоит из 4-х букв-нуклеотидов А, Т, G и С (аденин, тимин, гуанин и цитозин), которые входят в состав двойной антипараллельной (две цепи направлены в противоположные стороны) спирали. Внутри этой спирали нуклеотиды находятся друг напротив друга в соответствии с правилом комплементарности: напротив А в другой цепи стоит Т, напротив G – С и наоборот.

Гилберт и Максам использовали 4 типа ферментов. Один разрезал после А или G, но лучше после А (A>G), второй разрезал лучше после G (G>A), третий после С, а четвертый после С или Т (C+T). Реакция проводилась в 4 пробирках с каждым типом ферментов, а затем продукты помещали на гель. ДНК – заряженная молекула, и при включении тока бежит от минуса к плюсу. Маленькие молекулы бегут быстрее, поэтому разрезанные молекулы ДНК выстраиваются по длине. Глядя на 4 дорожки геля, можно сказать, в какой последовательности расположены нуклеотиды.

Прорыв в области секвенирования ДНК случился, когда английский биохимик Фредерик Сенгер в 1975 г. предложил так называемый метод терминирования цепи для чтения последовательностей ДНК. Но прежде чем рассказать об этом методе, необходимо разобраться в процессах, происходящих при синтезе новых молекул ДНК. Для синтеза ДНК необходим фермент – ДНК-зависимая ДНК-полимераза, которая способна достраивать одноцепочечную молекулу ДНК до двухцепочечной. Для этого ферменту необходима «затравка» – праймер, короткая последовательность ДНК, способная связаться с длинной одноцепочечной молекулой, которую мы хотим достроить до двухцепочечной. Также необходимы сами нуклеотиды в форме нуклеотидтрифосфатов и некоторые условия, такие как определенное содержание ионов магния в среде и определенная температура. Синтез всегда идет в одном направлении, от конца, называемого 5', к концу, называемому 3'. Разумеется, для чтения ДНК необходимо большое количество матрицы – то есть копий той ДНК, которую собираются читать.

В 1975 г. Сенгер придумал следующее. Он брал специальные (терминирующие) нуклеотиды, которые, присоединившись к растущей цепи молекулы ДНК, мешали присоединению последующих нуклеотидов, то есть «обрывали» цепь. Далее он брал 4 пробирки, в каждую из которых добавлял все 4 типа нуклеотидов и один тип терминирующих нуклеотидов в небольшом количестве. Таким образом, в пробирке, где находился терминирующий нуклеотид аденин, синтез каждой новой молекулы ДНК мог оборваться в любом месте, где должна была встать «А», в пробирке с терминирующим гуанином – в любом месте, где должна встать «G» и так далее. На гель наносились 4 дорожки из 4-х пробирок и снова самые короткие молекулы «убегали» вперед, а самые длинные оставались в начале, а по отличиям в полосах можно было сказать, какой нуклеотид следует за каким. Чтобы увидеть полосы, один из четырех нуклеотидов (А, Т, G или С) метился, без изменения химических свойств, с использованием радиоактивных изотопов.

Методы выделения ДНК обычно включают следующие этапы:

- 1) лизис клеток (или разрушение физическим, механическим способом);
- 2) ферментативное разрушение белков протеиназами и/или депротеинизацию клеточного

лизата с помощью фенола и хлороформа; 3) центрифугирование для удаления денатурированных белков и фрагментов клеточных органелл.

Задачи исследования:

1. Используя различные литературные источники, выяснить строение ДНК.
2. Выделить ДНК из различных биологических объектов.
3. Сравнить результаты выделения ДНК по различным методикам.
4. Определить лучший детергент для выделения ДНК.
5. Окрасить молекулы ДНК.

Объект исследования: ДНК растительного и животного происхождения.

Предмет исследования: методы получения ДНК.

Лабораторная работа №27.

Выявление точковых мутаций. Секвенирование.

Выявление мутаций, представляющих собой замену одного или нескольких нуклеотидов, с помощью ПЦР-анализа невозможно: длина мутантного фрагмента ДНК остается прежней; нарушается лишь конформационная структура, а вместе с ней и некоторые физико-химические свойства молекулы ДНК. Для обнаружения мутаций в виде замен используют анализ конформационного полиморфизма одноцепочечной ДНК (SSCP) и метод денатурирующего градиентного гель-электрофореза (DGGE). Еще два метода выявления точковых мутаций - гетеродуплексный анализ (НА) и химическое расщепление некомплементарных сайтов (СМС) - основаны на возникновении структурных нарушений в месте негомологичного спаривания при гибридизации нормальной и мутантной цепей ДНК. Все эти методы анализа амплифицированных продуктов (кроме СМС-метода) для точной идентификации точковых замен в обязательном порядке предполагают секвенирование. Схематическое изображение принципов и методов идентификации точковых мутаций представлено на рисунке. Анализ конформационного полиморфизма одноцепочечной ДНК (SSCP - от англ. single strand conformation polymorphism). SSCP-анализ — наиболее часто используемый метод для выявления точковых замен внутри фрагмента ДНК (как правило, размером от 50 до 300 п.н.), полученного в результате ПЦР. Этот метод, предложенный в 1989 году, чрезвычайно эффективен, так как основан на регистрации различий электрофоретической подвижности одноцепочечной ДНК исследуемого и контрольного образцов одинаковых по длине, но различающихся по нуклеотидному составу. Различие в нуклеотидной последовательности обуславливает разницу вторичной конформации одноцепочечных фрагментов, образующихся при денатурации (химической или температурной). Именно от вторичной конформации зависит электрофоретическая подвижность молекул ДНК в полиакриламидном геле. На процесс конформации также влияют различные внешние факторы: температура, концентрация акриламида и глицерина в геле, ионная сила буферных растворов. Эффективность выявления мутаций этим методом существенно зависит от размера анализируемого фрагмента: при его длине менее 200 п.н. она составляет 80-95%, а при размере более 400 п.н. - около 50%. После обнаружения фрагмента с измененной электрофоретической подвижностью, как правило, проводится секвенирование первичной последовательности ДНК мутантного фрагмента для определения конкретной нуклеотидной замены.

секвенирование - представляет собой определение нуклеотидной последовательности фрагмента ДНК путем получения серии комплементарных молекул ДНК, различающихся по длине на одно основание. Является последним этапом молекулярного анализа предварительно отобранного, клонированного и протестированного более простыми методами фрагмента ДНК.

Существует два основных метода **секвенирования**; метод Максама-Гилберта (основан на химическом расщеплении ДНК по одному основанию) и метод Сэнгера (дидезокси-

метод). Метод Сэнгера более надежен и прост в исполнении, и на практике его используют чаще.

Метод Сэнгера или **дидезоксисеквенирование** основан на синтезе изучаемой цепи ДНК *in vitro* с остановкой синтеза на заданном основании путем присоединения дидезоксинуклеотида. Дидезоксинуклеотид лишен гидроксильных групп при атомах сахарного кольца не только в 2'-, но и в 3'-положении, что делает его неспособным формировать фосфодиэфирную связь со следующим нуклеотидом.

Для проведения **секвенирования** необходимы:

- 1) секвенирующий праймер (искусственно синтезированная олигонуклеотидная последовательность, комплементарная определенному участку исходной молекулы ДНК),
- 2) набором из четырех дезоксинуклеотидов dATP, dCTP, dGTP и dTTP, один из которых изотопно меченный
- 3) один из четырех дидезоксинуклеотидов (ddATP, ddCTP, ddGTP и ddTTP)
- 4) ДНК-полимераза.

Сам метод включает следующие этапы:

- 1) гибридизация изучаемого фрагмента ДНК с праймером
- 2) ферментативный синтез ДНК
- 3) денатурация полученных продуктов формамидом (в результате образуются уникальные различающиеся по длине олигонуклеотидные последовательности, содержащие праймер)
- 4) электрофорез в полиакриламидном геле на четырех дорожках (по числу типов нуклеотидов) и
- 5) анализ результатов на радиоавтографе. На большинстве радиоавтографов можно четко различить 250—350 полос, т.е. прочесть последовательность в 250-350 п.н. Нуклеотидная последовательность на радиоавтографе считывается снизу вверх.

Таким образом, по размеру **синтезированных фрагментов** может быть определена локализация дидезоксинуклеотидов и порядок соответствующих им нуклеотидов в исходной молекуле ДНК.

Для прочитывания более длинных последовательностей существует ряд методов, представляющих собой разные модификации метода Сэнгера. Эти методы основаны на предварительном клонировании ДНК в векторах, сконструированных на основе фага M13 E.coli для получения протяженных одноцепочечных участков ДНК, которые могут быть непосредственно секвенированы без денатурации и праймирования. Особенность фага M13 E.coli состоит в возможности его существования в двух формах: двухцепочечной репликативной, функционирующей как плазида, и одноцепочечной фаговой, использующейся в качестве матрицы для секвенирования. Выделив после клонирования одноцепочечные фаговые ДНК со вставкой (размер около 500 п.н.), праймер гибридизуют с последовательностью вблизи вставки, и проводят дидезоксисеквенирование.

Для секвенирования крупных фрагментов ДНК (около 2000 п.н.) используют более сложные (комбинированные) подходы. Один из них заключается в предварительном клонировании данного фрагмента в плазмидном векторе и построении его подробной рестрикционной карты, идентификации перекрывающихся рестрикционных фрагментов длиной 100-500 п.н. Далее, субклонировав каждый из этих фрагментов в ДНК M13 E.coli, их секвенируют и определяют последовательность исходного участка ДНК. Так как субклонированные фрагменты могут быть встроены в противоположных направлениях, то праймер в одном случае будет инициировать синтез первой цепи, а в другом - комплементарной ей, а значит возможно одновременное секвенирование обеих цепей.

Для секвенирования фрагментов ДНК более 5000 п.н. используют методы секвенирования двухцепочечных плазмидных ДНК, не требующие субклонирования. Один из них носит название «праймер-опосредованной прогулки» («блуждающей затравки»). Суть метода заключается в последовательном дидезоксисеквенировании по 250-350 п.н. Этапы метода представляют собой цепочку циклов, включающих синтез

праймера, дидезоксисеквенирование и идентификацию нуклеотидной последовательности:

- 1) отжиг плазмидной ДНК, содержащей вставку, с праймером, комплементарным последовательности одной из цепей векторной ДНК;
- 2) дидезоксисеквенирование и идентификация первых 250-350 п.н. вставки;
- 3) синтез второго праймера, комплементарного сегменту вставки, который отстоит от места связывания первого праймера примерно на 300 п.н., и секвенирование следующих 250-350 п.н., и так далее, пока не секвенируют весь фрагмент.

Обязательное условие при **секвенировании** очень длинных фрагментов иметь праймер длиной не менее 24 нуклеотидов. Это необходимо для того, чтобы избежать спаривания праймера внутри вставки более одного раза.

В настоящее время широкое распространение получила методология **автоматического ДНК-секвенирования** с использованием меченных различными флуорохромами дидезоксинуклеотидов - электрофорез в этом случае проводят на одной дорожке и на электрофореграмме каждому из нуклеотидов соответствует свой цвет полосы, которую сканируют в луче лазера, занося данные в компьютер, который сопоставляет их и идентифицирует, выводя на экран нуклеотидную последовательность. Этот метод широко применялся в ходе реализации программы «Геном человека». Использование автоматических секвенаторов снизило стоимость секвенирования одного звена с 1 \$ до 0,1 \$.

Однако существуют еще более быстрые методы **автоматического секвенирования**. Один из них - секвенирование путем гибридизации исследуемой последовательности ДНК с набором олигонуклеотидов (олигонуклеотидной матрицей), включающим все возможные варианты перестановок из 4 стандартных нуклеотидов (А, G, C, T) определенной длины. Наиболее удобными считаются наборы матриц (чипы) из октануклеотидов., при этом количество возможных вариантов нуклеотидов составляет 65536. Секвенируемый фрагмент ДНК, меченный радиоактивным фосфором, гибридизуется только с комплементарными его участкам октануклеотидами.

В результате определяется **спектр октануклеотидов**, составляющих исследуемый фрагмент ДНК. Локализация октамеров в изучаемом фрагменте ДНК устанавливается при помощи специальной компьютерной программы.

Лабораторная работа №28

Картирование и скрининг генома. Карты генома и методы их построения

Цель популяционного скрининга — изучить всех участников определенной популяции, независимо от семейного анамнеза.

Генетическое картирование – это определение группы сцепления и положения картируемого гена относительно других генов данной хромосомы. Позволяет определить частоту рекомбинации генов и используется для построения генетических карт, где единицей измерения служат проценты рекомбинации, или сантиморганиды (сМ).

Генетический скрининг - основной метод обследования популяции для определения лиц с повышенной предрасположенностью или риском генетической патологии. Скрининг на уровне популяции нельзя путать с обследованием больных или поиском носителей в семьях, уже идентифицированных по семейному анамнезу.

Создание генетической карты генома

Точную генетическую карту можно было создать при выполнении *двух условий*: обнаружении в геноме большого количества полиморфных генетических маркеров и наличия достаточного количества семей для анализа сцепления между этими маркерами и установления их взаимного расположения. Проблема генетических маркеров

была разрешена после обнаружения различных типов ДНК-полиморфизмов. В порядке их введения в генетический анализ первым был обнаружен полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ), затем полиморфизм, обусловленный варьирующим числом tandemных повторов (VNTR-полиморфизм), следующим - полиморфизм минисателлитов, после него полиморфизм микросателлитов, в последнее время особенное распространение получил однонуклеотидный полиморфизм. Все перечисленные виды полиморфных маркеров обнаруживают менделевское кодоминантное наследование. Каждый из этих видов имеет свои преимущества и недостатки, но все вместе они позволяют маркировать геном человека с очень высокой плотностью.

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
по выполнению самостоятельных работ по дисциплине
«Большой практикум по генетике»

Направление подготовки	06.03.01 Биология
Направленность (профиль)	Генетика, селекция и биоинформатика

Ставрополь, 2026

Вопросы для самостоятельной подготовки.

1. Особенности изучения морфологических особенностей *Drosophila melanogaster*
2. Принципы определения самок и самцов вида *Drosophila melanogaster*.
3. Приготовление питательных сред. Инвентарь и инструменты для работы с дрозофилой.
4. Основные правила работы с объектом *Drosophila melanogaster*.
5. Изучение морфологических особенностей личинок *Drosophila melanogaster*.
6. Моногибридное скрещивание. Наследование доминантного признака.
7. Моногибридное скрещивание. Наследование рецессивных признаков.
8. Дигибридное скрещивание. Наследование рецессивных признаков.
9. Взаимодействие генов и расщепление. Взаимодействие неаллельных генов.
10. Наследование сцепленных с полом признаков.
11. Составление коллекции *Drosophila melanogaster*.
12. Изучение роли возраста дрозофил в половом отборе.
13. Сцепление генов и перекрест хромосом.
14. Соответствие фактических данных теоретически ожидаемым
15. Сравнительный анализ мутантных линий дрозофилы.
16. Экспрессивность и пенетрантность.
17. Множественный аллелизм. Функциональный тест на аллелизм.
18. Изучение показателей структуры популяции *Drosophila melanogaster*.
19. Анализ и оценка влияния факторов окружающей среды на популяцию *Drosophila melanogaster*.
20. Молекулярные механизмы мутагенеза.
21. Мутагенное действие ионизирующих лучей, УФ лучей, химических соединений.
22. Спонтанный мутационный процесс.
23. Ингибиторы мутагенеза.
24. Выявление мутагенов.
25. Стратегия тестирования на мутагенность. Тест-системы.
26. Генетика и онтогенез.
27. Этапы онтогенеза.
28. Гомеозисные гены.
29. Гены, контролирующие эмбриональную индукцию.
30. Индукция и органогенез.
31. Генетические факторы морфогенеза дрозофилы.
32. Негативная и позитивная регуляция генной активности.
33. Регуляция экспрессии генов.
34. Неспецифическая регуляция генной активности.
35. Компенсация дозы генов (у дрозофилы).
36. Регуляция генной активности на уровне репликации.
37. Трансляционная и посттрансляционная регуляция генной экспрессии
38. Геномика и геномные технологии.
39. Методы получения и обработки ДНК
40. Выявление точковых мутаций.
41. Секвенирование.
42. Картирование и скрининг генома.
43. Карты генома и методы их построения

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
по выполнению и защите курсовой работы по дисциплине
«Большой практикум по генетике»

Направление подготовки
Направленность (профиль)
Форма обучения

06.03.01 Биология
Генетика, селекция и биоинформатика
очная, 2026

Ставрополь, 2026 г.

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Федеральный государственный образовательный стандарт по направлению 06.03.01 – Биология, профиль «Генетика, селекция и биоинформатика» – предусматривает выполнение каждым студентом курсовой работы.

Курсовая работа представляет собой выполненную в письменном виде самостоятельную учебную работу, раскрывающую теоретические и практические проблемы избранной темы. Курсовая работа является важнейшей формой самостоятельной работы студентов. Это одно из первых исследований, в котором студенты в полной мере проявляют и развивают свои творческие способности, аналитические умения, изучая определенную тему за рамками учебного материала. Выполнение курсовой работы предполагает углубление и систематизацию полученных знаний как по общепрофессиональным, так и по специальным дисциплинам.

Курсовая работа содержит все основные элементы и свойства эвристического поиска – от постановки проблемы и обоснования её актуальности до получения научно подтвержденного обобщения и литературного оформления информации. В ходе выполнения работы студент овладевает основными методами и техникой научного исследования, вырабатывает потребность постоянного поиска новой информации, что является необходимым условием профессионального роста.

Настоящие методические указания содержат общие положения по организации и выполнению данного вида исследования, требования к структурным, содержательным, инструментальным аспектам курсовых работ, рекомендации по их оформлению и защите.

ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ О ВЫПОЛНЕНИИ КУРСОВЫХ РАБОТ

Цели и задачи курсовой работы. Значительное развитие навыков самостоятельной учебной, исследовательской и научной работы студентов происходит в процессе выполнения курсовых работ.

Выполнение курсовой работы имеет целью обогащение знаний студентов, обучение методам теоретического анализа явлений и закономерностей науки, выработку навыков применения теоретических знаний к комплексному решению профессиональных задач, использования справочной литературы, методы математической обработки экспериментальных данных, компьютерных технологий. Системой курсовых работ студент подготавливается к выполнению выпускной квалификационной работы.

В процессе выполнения курсовой работы (творческого проекта) студентом должны решаться следующие задачи:

1. Приобретение новых теоретических знаний в соответствии с темой работы и заданием руководителя.
2. Развитие умений систематизировать, обобщать и логично излагать концепции, альтернативные точки зрения исследуемых проблем.
3. Развитие учебно-исследовательских и методических умений, необходимых для построения системы научного анализа изучаемого аспекта.
4. Совершенствование профессиональной подготовки. Тематика курсовых работ. Одним из важнейших компонентов в системе постановки курсовой работы является правильное определение тематики.

Тематика курсовых работ должна быть актуальной, отвечать учебным задачам данного предмета, а также потребностям науки и практики. Актуальность тематики курсовых работ – это, прежде всего, научность, современность и направленность к получению студентами навыков самостоятельной творческой работы.

Темы курсовых работ должны быть комплексными, т.е. содержать ряд взаимосвязанных между собой проблем и строиться на фактическом материале профильных предприятий и учреждений, а также на итогах учебной производственной практики студентов, на научных работах членов кафедры, студенческих научных кружков и проблемных групп, с использованием новейших достижений отечественной и

зарубежной науки, актуальных прикладных аспектов. Темы курсовых работ определяются и утверждаются кафедрами, ведущими дисциплины, по которым учебными планами предусмотрены курсовые работы, и деканом факультета.

Руководителем курсовой работы является, как правило, преподаватель, ведущий данную дисциплину или практические занятия, или иной преподаватель кафедры, обладающий методическим опытом и научной квалификацией.

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К КУРСОВЫМ РАБОТАМ

1. Выбор темы, регистрация и сдача курсовой работы на кафедру

Тематика курсовых работ ежегодно разрабатывается профессорско-преподавательским составом базовой кафедры генетики и селекции отдельно для каждого курса с указанием предполагаемых научных руководителей по каждой теме. Студентам предоставляется право свободного выбора темы из предложенного списка курсовых работ. Изменение темы курсовой работы допускается по согласованию с научным руководителем и заведующим кафедрой. Студенты могут также предложить свою тему с обоснованием целесообразности её исследования. Не допускается выбор одной и той же темы двумя студентами.

После выбора темы студент должен написать заявление на имя заведующего кафедрой об утверждении темы и назначении научного руководителя (см. приложение 1). Темы курсовых работ и научные руководители утверждаются на заседании кафедры до 15 сентября. Решение оформляется распоряжением директора института по предложению кафедры. Сроки сдачи на кафедру окончательного варианта курсовой работы 1-го апреля. Защита курсовых работ, предусмотренных учебным планом, проводится до 15 апреля.

Студент, не представивший в установленный срок курсовую работу или не защитивший ее по уважительной причине, считается имеющим академическую задолженность. Курсовые работы, представляющие теоретический и практический интерес, могут представляться на конкурс в студенческие и научные общества, конференции, отмечаться приказом по университету. Выполненные работы после их защиты должны храниться на кафедре в течение 2 лет, затем работы, не представляющие для кафедры интерес, уничтожаются.

2. Выполнение курсовой работы студентом

Тему курсовой работы студентам дневного отделения рекомендуется выбирать исходя из того, в какой области практической деятельности в дальнейшем они планируют работать. Студентам заочного отделения целесообразно выбирать тему, непосредственно связанную с их практической деятельностью по специальности.

Подбор литературы по теме курсовой работы осуществляется студентом самостоятельно.

Научный руководитель:

- помогает определить основные направления работы;
- выдаёт студенту общее и частные задания и контролирует их выполнение;
- оказывает помощь студенту в составлении плана работы, уточняя его по мере необходимости;
- оказывает помощь в разработке методологического и методического аппарата исследования;
- оказывает редакторскую помощь в оформлении текста работы;
- указывает наиболее важные научные источники, которые следует использовать при ее написании.

Содержание курсовой работы должно соответствовать ее теме и плану. За достоверность информации и обоснованность принятых в курсовой работе решений, содержание, оформление, за своевременную сдачу работы на кафедру ответственность несет студент.

3. Структура и объем курсовой работы:

Титульный лист. Оформляется по образцу.

- **Содержание.** Включает порядок расположения отдельных частей курсовой работы с указанием страниц, на которых соответствующий раздел начинается (см. приложение 3).

- **Введение.** В нем автор обосновывает актуальность, объект, предмет, информационные источники, хронологические рамки, методы, практическую значимость, а также указывает цель и задачи проводимого исследования.

- **Основная часть.** Структура основной части может меняться в зависимости от специфики и направления выполняемой работы. Структура основной части устанавливается научным руководителем и кафедрой самостоятельно.

- **Заключение (или выводы).** В заключении подводится итог проведенному исследованию, формулируются предложения и выводы автора, вытекающие из всей работы.

- **Список литературы.** В список литературы включаются только те работы, на которые сделаны ссылки в тексте курсовой работы. Список оформляется в соответствии с ГОСТ Р 7.05-2008.

- **Приложения.** Приводятся используемые в работе копии анализируемых журналистских материалов, документы, таблицы, графики, схемы и др. (аналитические табличные и графические материалы могут быть приведены также в основной части).

Общий объем курсовой работы без приложений должен составлять около 1.5 авторских листа. Один авторский лист равен приблизительно 32 листам стандартного набора (40000 знаков – общий объем работы и 1800 знаков на странице, включая между словные интервалы и знаки препинания).

4. Защита курсовой работы

Защита курсовой работы является обязательной формой проверки выполнения работы. Защита проводится на заседании кафедры, научно-методического семинара кафедры, научной проблемной группы, в специальной комиссии из 2-3 человек, выделенной кафедрой, при непосредственном участии руководителя, в присутствии студентов. Результаты наиболее интересных курсовых работ могут быть доложены на научных конференциях.

Защита состоит в коротком докладе студента по выполненной работе и в ответах на вопросы. Вопросы задаются присутствующими на защите преподавателями и студентами. Результаты защиты курсовой работы оцениваются дифференцированной отметкой по пятибалльной системе. Оценка курсовой работы записывается в ведомость, составляемую в 2-х экземплярах, один из которых хранится в делах кафедры, другой представляется в директорат института.

5. Оценка курсовой работы

При оценке курсовой работы учитываются такие признаки, как:

- обоснование выбора темы и проблемы исследования, степень её актуальности;
- самостоятельность и глубина исследовательского поиска;
- многообразие привлеченных источников, адекватность использованной литературы изучаемой проблеме;
- критическое использование научной литературы в зависимости от её методологической принадлежности и соответствия критерию современности;
- раскрытие различных точек зрения, их сопоставление, высказывание собственного отношения к ним;
- адекватность подобранных методов исследования сформулированной проблеме и целям исследования;
- умелое применение оригинальных методов исследования;
- умение анализировать, интерпретировать журналистские материалы и средства массовой информации;
- наличие после каждой логической части исследования четких,

отражающих суть изучаемого явления выводов;

- степень практической значимости полученных результатов;
- наличие в работе конкретных рекомендаций, оценка возможности их реализации в практике деятельности журналистов;
- правильность оформления каждой части работы и сопроводительного материала (список использованной литературы, схемы, таблицы и т.д.);
- адекватность языковых средств для детализации различных компонентов предмета исследования;
- уровень профессиональных знаний, умений и навыков, продемонстрированных во время публичной защиты курсовой работы.

По результатам защиты курсовая работа оценивается: «отлично», «хорошо», «удовлетворительно», «неудовлетворительно».

Оценка «отлично» ставится в том случае, если:

- тема раскрыта глубоко, всесторонне, в соответствии с поставленными задачами; • методологически верно обоснована её проблематика;
- в работе содержится обстоятельная обобщенная характеристика достижений науки в рассматриваемой области, вскрыты существующие проблемы и противоречия, показаны возможные пути их разрешения;
- представлен грамотный и обоснованный анализ журналистских материалов и средств массовой информации;
- в выводах и рекомендациях полно и правильно определены теоретические позиции и результаты личного исследования;
- соблюдены требования логики и ясности изложения;
- с помощью приложений конкретизируется содержание, раскрывается личный опыт деятельности автора;
- внешнее оформление соответствует нормативным требованиям;
- во время защиты студент в выступлении в рамках отведенного для этого времени емко и четко формулирует основные положения своей работы, излагает сущность проведенного исследования, а также демонстрирует глубокие знания и понимание представленной в исследовании научной проблемы в ходе дискуссии.

Оценка «хорошо» ставится, если при осуществлении вышеназванных требований имеются отдельные погрешности.

Оценка «удовлетворительно» ставится, если курсовая работа раскрывает тему, но в освещении отдельных вопросов и выполнении требований автором допущены ошибки и неточности (нарушение логики, неполнота анализа и выводов, неточность в обзоре источников, нарушение требований оформления, отсутствие приложений и др.).

Оценка «неудовлетворительно» ставится при отсутствии в работе одного из основных разделов (введения, одной из глав, выводов и др.); при нарушении логики в изложении материала, несоразмерности частей; если имеются существенные неточности и несогласования в разработке проблемы; если работа выполнена не самостоятельно, а просто механически, бездумно (компилятивно) переписана из источников; если студент на защите не владеет материалом, не в состоянии ответить на большинство заданных по существу работы вопросов.

6. Требования к структурным элементам курсовой работы

6.1. Содержание

В содержание должны быть введены все разделы курсовой работы, начиная с введения, с указанием страницы, с которой они начинаются. Главы и параграфы (подпункты) должны иметь и нумерацию, и название.

6.2. Введение Во введении обосновывается актуальность темы (социальная, научная, практическая значимость исследуемого вопроса); формулируется проблема и круг вопросов, необходимых для её решения; определяются цель работы, объект, предмет исследования (при необходимости формулируется гипотеза) и комплекс задач,

подлежащих решению для раскрытия темы или проверки гипотезы; указываются методы исследования, источниковая база, хронологические рамки, практическая значимость. Во введении по возможности обосновываются предполагаемая научная новизна работы, а также указывается, где были апробированы материалы курсовой работы. Объем введения 3-5 страниц.

Проблема исследования – это область неизвестного, но востребованного в научном знании. Это «знание о незнании», т.е. выражение потребности в изучении какой-то области реальной действительности с тем, чтобы иметь возможность активно влиять на разрешение тех противоречий, природа и особенности которых еще не вполне ясны и потому не поддаются эффективному изменению и регулированию.

Таким образом, грамотно сформулированная проблема – это указание на противоречие, образовавшееся (выявленное) в изучаемой области, на знание, которого еще нет, но которое обязательно необходимо получить, чтобы разрешить обозначенное противоречие. Степень изученности показывает ваше знакомство с историей вопроса, здесь перечисляются основные труды ученых и специалистов, ближайшие по тематике к вашей работе, выясняются предметы этих исследований. Исходя из степени изученности – формулируется новизна работы: что исследовалось до вас, но «этот аспект», либо «в этом ключе» научных изысканий до вас не проводилось.

Гипотеза исследования – это предположение, при котором на основе ряда фактов делается вывод о существовании объекта, связи или причины явления, причем этот вывод нельзя считать вполне доказанным. В процессе разработки гипотеза разворачивается в систему или иерархию определенных высказываний, в которых каждый последующий элемент вытекает из предыдущего. Наиболее грамотными, а потому предпочтительными гипотезами являются объяснительные по своей сути гипотезы. В них не просто описываются свойства и связи явления, а делаются предположения о причинно-следственных зависимостях в изучаемых процессах и явлениях. Именно такие гипотезы в состоянии показать перспективу и процедуры их экспериментальной проверки.

Цель исследования – ориентирует на анализ и решение проблемы в двух основных направлениях: теоретическом и прикладном. В курсовой работе обычно формулируется одна основная цель, отраженная и в заголовке. Связь заголовка с целью – одна из ключевых при формулировке цели. Научные работы нацелены на приобретение некоего нового знания о предмете. Поэтому целями не могут быть исследовательские операции. Формулировки, начинающиеся со слов «проанализировать», «исследовать», могут считаться ошибочными, если не подкрепляются дополняющим – «с целью». Формулировку цели правильно начинать со слов: «определить», «охарактеризовать», «выявить», «найти», «сформировать/создать» или близких по значению синонимов. Цель не должна подменяться гипотезой. Поэтому неверно начинать формулировку цели со слов «доказать». При такой цели вас можно упрекнуть в фальсификации результатов, которые подогнаны под необходимую гипотезу.

Объект исследования – это указание на то, на что направлен процесс познания. Определяя объект исследования, следует дать ответ на вопрос: что рассматривается? Связь объекта и предмета легко запоминаются по формуле: «исследуем такой-то объект на предмет чего то». Всегда в объекте содержится предмет, а не наоборот.

Предмет исследования – это указание на наиболее значимые с теоретической или практической точки зрения свойства, стороны, проявления, особенности объекта, которые подлежат непосредственному изучению в рамках намечающегося исследования. Это угол зрения на объект, аспект его рассмотрения, дающий представление о том, что конкретно будет изучаться в объекте, как он будет рассматриваться, какие новые отношения, свойства, функции будут выявляться. Предмет исследования совпадает с названием работы и содержится в цели сразу после сказуемого («выявить... что?», «определить... что?», «сформировать... что?»). Задачи исследования – это алгоритм достижения цели исследования. Это ступеньки, на каждой из которых производится та или иная

исследовательская операция, решается конкретная исследовательская проблема. Первое место в списке занимают теоретические задачи, осмысляющие или обобщающие, выявляющие типологические характеристики некоего явления, раскрывающие тенденцию в журналистике. Задачи, которые соответствуют теоретической главе в курсовой работе.

Следующие – практические задачи. Формулировка начинается со слов «проанализировать», «исследовать с позиций» и др. Эта группа задач направлена на объект вашего исследования. Какие операции вы должны провести над объектом, чтобы раскрыть свойства предмета.

Третья группа задач – осмысляющая полученные результаты, задача по сбору, сопоставлению, систематизации данных, анализу полученных результатов, соотнесению с гипотезами и формулировке научного заключения по цели.

Задачи исследования коррелируют с параграфами вашего исследования. Источниковая база исследования – конкретизация вашего объекта, указание выбранных для анализа средств массовой информации или журналистских текстов и объяснение выбора. Хронологические рамки – это обоснование временного периода, за который исследуются журналистские материалы или средства массовой информации.

Теоретико-методологическая база. Здесь перечисляются виды теоретического знания, методы, используемые в вашей работе, а также собственно методология. Показывается обоснованность применения именно этих методов. Практическая значимость исследования предполагает возможность использования результатов работы в практической, учебно-педагогической, научной деятельности журналистов. Структура работы. Здесь перечисляются основные части работы, начиная с введения, заканчивая списком литературы. Обычно эта формулировка приобретает следующий вид, например: «Работа состоит из введения, 2-х глав (указывается количество глав), заключения, списка литературы (столько-то наименований, указывается цифрой количество) и (если есть, указывается цифрой количество) приложений».

6.3. Основная часть

Основная часть курсовой работы состоит из 2-3-х соразмерных глав, которые в свою очередь разбиты на соразмерные параграфы (подпункты).

Структура основной части должна продемонстрировать последовательность, логичность, стройность развития исследования. Каждая глава и параграфы должны заканчиваться выводами.

6.4. Заключение

В заключении приводится краткий обзор проведенной в исследовании работы, излагаются теоретические и практические выводы, к которым пришел студент в результате исследования. Выводы должны быть краткими и четкими, дающими полное представление о содержании, значимости, обоснованности и эффективности предлагаемых разработок. Объем заключения - 2-4 страницы.

6.5. Список литературы

Включает не менее 30 различных источников, использованных при написании работы. Отдельно выделяется раздел «Источники», если кроме научной литературы используются документы, архивные материалы, тексты передач и др. В список литературы могут быть также включены online-материалы с указанием их электронного адреса и даты захода на сайт.

6.6. Приложения

В приложение следует помещать вспомогательный материал, который при включении в основную часть работы загромождает текст.

К вспомогательному материалу относятся промежуточные расчёты, таблицы вспомогательных цифровых данных, инструкции, методики, распечатки, иллюстрации вспомогательного характера, заполненные формы отчетности и других документов, схемы, карты, диаграммы. Если приложений больше 10, их целесообразно объединить по видам.

ОФОРМЛЕНИЕ КУРСОВОЙ РАБОТЫ

Общие правила оформления

1.	Объем работы	~ 30 с. формата А 4
2.	Текст работы	Набирают в формате doc (docx), в текстовом редакторе Microsoft Word
3.	Гарнитура шрифта	Times New Roman
4.	Кегль шрифта	14 pt (корректно по всему основному тексту); 12 pt (в подстрочных ссылках, подрисуночных подписях и источниках к инфографическим материалам)
5.	Межстрочный интервал	1,5 интервала (в основном тексте); 1 интервал (в подстрочных ссылках, подрисуночных подписях и источниках к инфографическим материалам); 2 интервала между заголовками глав (параграфов) и текстом.
6.	Формат листа	А 4 (210 x 297 мм)
7.	На странице	~ Около 2000 знаков (30 строк, 60–70 знаков в строке)
8.	Ориентация страницы	Книжная
9.	Выравнивание текста	По ширине; запрет висячих строк
10.	Абзацный отступ	Стандартный – 1,25 см
11.	Переносы	Автоматические; в заголовках переносы не допускаются
12.	Поля страницы	верхнее – 2 см; нижнее – 2 см; левое – 3 см; правое – 1 см
13.	Нумерация страниц	Сквозная, автоматическая, проставление страниц начинают после оглавления со с. 3. Титульный лист и оглавление не нумеруют, но учитывают. Нумерация распространяется на библиографический список и приложения. Номер страницы указывают в правом нижнем углу листа.
14.	Титульный лист	Оформляют по установленному образцу (см. Приложение)
15.	Оглавление	Оформляют по установленному образцу
16.	Структурные части работы	Введение (3-5 с.), 2-3 главы (по 10-12 с. каждая, которые могут делиться на параграфы), заключение (2-3 с.), список литературы, приложения. Каждый структурный элемент (Введение, Глава, Заключение, Список литературы) содержания работы начинают с новой страницы. Наименования структурных элементов следует располагать по центру строки без точки в конце, без подчеркивания.
17.	Главы и параграфы	Нумеруют арабскими цифрами (1.). Номер параграфа включает номер главы и порядковый номер параграфа, разделенные точкой (1.1). Названия глав, параграфов следует печатать с абзацного отступа, с прописной буквы, без точки в конце, не подчеркивая. Расстояние между заголовком и текстом параграфа должно быть равно 1 интервалу.
18.	Заголовки	Печатаются жирным шрифтом. Заголовки глав и

		параграфов располагаются по центру. Заголовки глав и параграфов не отделяются интервалом. Заголовки глав печатают прописными буквами (14 pt), заголовки параграфов – строчными, кроме первой буквы заголовка (14 pt). Заголовки всех уровней не берут в кавычки, точки в конце заголовков не ставят. Слово «глава» пишется. Слово «параграф» не пишется.
19	Список литературы	Нумеруют и составляют в алфавитном порядке фамилий авторов и заглавий (для описания под заглавием) по правилам краткого библиографического описания. В списке следуют сначала источники на русском языке, затем – на иностранных языках.
20.	Ссылки на источники информации	Ссылки должны быть только подстрочными или внутри- текстовыми. Ссылки на электронные ресурсы должны быть активными.
21.	Приложения	Обозначают арабскими цифрами после заголовка «Приложение», который набирают курсивом с прописной Буквы. После арабской цифры ставится точка, за ней с прописной буквы следует тематический заголовок приложения (кроме материалов инфографики). Приложения располагают в порядке ссылок на них в основном тексте Инфографика. Фотографии, рисунки, схемы, диаграммы, графики, чертежи должны быть пронумерованы, иметь тематический заголовок/подписи, сведения об источнике, если они заимствованы, и входить в состав приложений. Слова «Фотография», «Рисунок», «Схема», «Диаграмма», «График», «Чертеж» и тематический заголовок помещают непосредственно под инфографическим материалом и располагают по центру. Точка в конце заголовка не ставится. Сведения об источнике указываются на следующей строке и форматируются также по центру.
22.	Таблицы	Оформляют по общепринятым стандартам (по левому краю перед таблицей ставится нумерационный заголовок с точкой, затем следует набранный с прописной буквы тематический заголовок без точки в конце; головка таблицы, прографка, боковик и т. д.). Располагают непосредственно после текста, в котором она упоминается впервые, если таблица не переносится на следующую страницу. Таблицы, превышающие размер страницы, выносятся в приложения и сопровождаются ссылками в тексте работы.
23.	Печать и переплет	Осуществляют на лазерном или струйном принтере, на обычной (80 г/м2) белой мелованной бумаге, на одной стороне листа. Весь текст печатают черным тоном. Материалы инфографики могут быть черно-белыми или многоцветными. Переплет – мягким (пружинным) или жестким (клееным картонно-дерматинным). Тиснение на обложке не обязательно.
24.	Подготовленная к защите работа	Представляет собой распечатанный, переплетенный и подписанный у научного руководителя и заведующего

		кафедрой вариант (в одном экземпляре). После защиты бумажная версия ВКР подлежит обязательному хранению на кафедре в течение пяти лет. На выпускающую кафедру в обязательном порядке сдается и электронный файл ВКР, идентичный переплетенному варианту (можно указать сканы), собранный в один pdf-файл.
--	--	---

Сноски – обязательный элемент курсовой работы.

В курсовой работе сноски могут быть оформлены следующими способами:

1) Наиболее распространенный (и наиболее удобный для читателя) вариант – подстрочные сноски, размещаемые внизу страницы. В сноске помимо библиографических данных книги указывается и страница, на которой размещен цитируемый текст.

Все сделанные в работе подстрочные сноски нумеруются отдельно на каждой странице – 1, 2, 3 и т.д.

Например: ...Экстразональными видами мы называем встречающиеся в нескольких зонах. 1. Чернов Ю. И. Природная зональность и животный мир суши. - М., 1999. – С. 115. Используя возможности Word расставляем сноски: на панели инструментов выбираем окно «Вставка», а в нем – функцию «ссылка – сноска».

Устанавливая формат сноски, выбираем нумерацию сноски «на каждой странице». В этом случае подстрочные сноски будут располагаться именно на той странице, где расположены цитата или фраза.

2) Внутрстрочные сноски: обычно оформляются в квадратных скобках, где указан номер источника по порядку (в списке литературы) и номер страницы, с которой взята цитата или фраза, например: Т.А. ван Дейк, известный исследователь экологии животных, подчеркивает, что «понимание особенного предполагает также и знание общего» [5, с. 12]. или ...заповедники в России, по справедливому утверждению исследователей, «должны были играть важную роль в сохранении биоразнообразия» [10, с. 509].

3) Внутрстрочные сноски на периодические издания принято оформлять в круглых скобках, с указанием названия издания без кавычек, года выхода издания, номера, страницы, с которой используется цитата. Например: В 1877 году зоогеограф А.П. Богданов назвал характерными признаками ряда видов животных высокий «репродуктивный потенциал»: «Это особенно важно для высокогорных видов, обитающих в суровых условиях» (Известия Кавказского Музея, 1877, №9, с.2). В приведенных примерах подстрочных и внутрстрочных сноска отражено только прямое цитирование. В случае если текст-источник излагается в свободном варианте (т.е. своими словами), то сноски будут оформляться иначе.

Например, сравните: Известный исследователь А. И. Толмачёв, характеризуя современное состояние ботанико-географических исследований, пишет: «Мы должны, прежде всего, обратить внимание на наличие двух научных дисциплин – географии растений и географии растительности»¹.

¹Толмачев А. И.: Введение в географию растений. – Л.: Изд.-во ЛГУ, 1974. – С. 49. Соответственно внутрстрочная сноска будет иметь следующий вид [10, с., где 10 – это порядковый номер в списке литературы.

Пример перифразы: Известный исследователь А. И Толмачев, характеризуя современное состояние ботанико-географических исследований, пишет о наличии двух научных дисциплин – географии растений и географии растительности. 1См.: Толмачев А. И.: Введение в географию растений. – Л.: Изд.-во ЛГУ, 1974. – С. 49. Вариант: 1См. об этом: Толмачев А. И.: Введение в географию растений. – Л.: Изд.-во ЛГУ, 1974. – С. 49. Соответственно внутрстрочная сноска будет иметь следующий вид [См.: 10, с. 49] или [См. об этом: 10, с. 49]

Мы перефразировали слова ученого и привели не прямую, а косвенную речь.

Смысл фразы не искажился, но изменилась ее форма. Следовательно, в сноске мы должны отразить то, что А. И. Толмачев говорит о состоянии современных исследований, но приведенные нами слова являются свободным изложением авторской мысли. Опечатки, описки и графические неточности, обнаруженные при оформлении работы, должны быть исправлены.

Примеры оформления сносок на:

- книжное издание

Иванов А.Л. Флора Предкавказья и её генезис. – Ставрополь: Изд-во СГУ, 1998. – С.54. - статью из коллективного сборника Верещагин Н.И. Заметки о фауне млекопитающих неогена // История отечественной териологии (1917 –1945): Хрестоматия. Учебное пособие /Сост-ли: И.В. Кузнецов, Р.П. Овсепян, Р.А. Иванова. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1999. – С. 35.

- публикацию из собрания сочинений газетную публикацию Тимирязев К. А. Жизнь растения // Собр. соч.: В 4-х тт. – Т.3. – М.: Наука, 1985. – С. 67. - Песков А. А. Сохраним редкие виды растений и животных для потомков // Комсомольская правда. – 2000. – 14 марта. - С. 11.

- журнальную публикацию

Менецкий Ю. Л. Проект «Конспект флоры Кавказа» // Ботанический журнал. 2000. – №2. – С. 45. При следующих одна за другой ссылаках на одну и ту же работу во второй и последующих сносках пишется Там же. Например: Башенина Н. Б. Экология обыкновенной полевки. - М.: Изд-во Моск. ун-та, 1997. – С. 18. Там же. – С. 45.

Если сноски на одну и ту же работу не следуют одна за другой, то в этом случае в последующих сносках пишутся фамилия и инициалы автора и слова Указ. соч. Например: Кучерук В. В. Медицинская зоология. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1999. – С. 198. Юрцев Б.А., Камелин Р.В. Основные понятия и термины флористики. Пермь: Издательство Пермского университета, 1991. – С. 57. Кучерук В. В. Указ. соч. – С. 98.

Ссылки, воспроизводимые из других источников, оформляются со ссылкой на этот источник. В этом случае после номера сноски пишется Цит. по:

Нумерация страниц и глав

Страницы работы следует нумеровать арабскими цифрами, соблюдая сквозную нумерацию по всему тексту. Номер страницы проставляется сверху или внизу страницы. Титульный лист включается в общую нумерацию страницы. Номер страницы на титульном листе не проставляется.

Иллюстрации, таблицы, расположенные на отдельных листах, включаются в общую нумерацию страниц. Главы, пункты и подпункты (кроме введения, заключения, списка литературы и приложений) нумеруются арабскими цифрами, например: глава 1, а вместо слова «параграф» - нумерация 2.1.

Графический материал

Иллюстрации (чертежи, графики, схемы, диаграммы, фотоснимки, рисунки) следует располагать в работе непосредственно после текста, в котором они упоминаются впервые, или на следующей странице, если в указанном месте они не помещаются. На все иллюстрации должны быть даны ссылки в работе. Каждая иллюстрация должна иметь название, которое помещают под ней. При необходимости перед названием рисунка помещают поясняющие данные. Иллюстрации следует нумеровать арабскими цифрами порядковой нумерацией в пределах всей работы. Если в работе только одна иллюстрация, её нумеровать не следует и слово «Рисунок» под ней не пишут.

Таблицы

Цифровой материал следует помещать в работе в виде таблиц или диаграмм. На все таблицы и диаграммы должны быть ссылки в тексте. Таблицы и диаграммы следует нумеровать арабскими цифрами порядковой нумерацией в пределах всей работы. Номер следует размещать в левом верхнем углу над заголовком таблицы после слова «Таблица».

Допускается нумерация таблиц в пределах раздела. Если в работе одна таблица, её не нумеруют и слово «Таблица» не пишут. Каждая таблица должна иметь заголовок, который помещается ниже слова «Таблица». Слово «Таблица» и заголовок начинаются с прописной буквы, точка в конце заголовка не ставится. Заголовки граф указываются в единственном числе. Таблицу следует размещать так, чтобы читать её без поворота работы. Если такое размещение невозможно, таблицу располагают так, чтобы её можно было читать, поворачивая работу по часовой стрелке.

Оформление списка литературы

Список литературы составляют по алфавиту авторов и названий коллективных работ. Если авторы являются однофамильцами, алфавитный принцип действует в отношении инициалов. Произведения одного автора тоже располагаются в алфавитном порядке. Если список литературы включает в себя работы на иностранных языках, они размещаются после литературы на русском языке. Если в список литературы включаются сайты Интернета, они даются в разделе иностранной литературы в соответствии со своим написанием.

Примеры оформления списка литературы (ГОСТ Р 7.05-2008):

Статьи из журналов и сборников

Коренберг Э.И. К экологии таежного клеща // Вопр. паразитологии. – 1992. – № 10. – С. 76 – 86. Некляев С.Э. Особенности биогеографической оценки горной территории // Вестник Моск. ун-та. - Сер. 10 «Биология». - 2008. - №5. - С.35-51. Дарская О.И. К методике изучения годовых циклов насекомых //Энтомологические исследования. - Ставрополь, 2006. - Выпуск 2. - С. 152 - 161. Газиев М. Д. Начальный этап развития териологии в России // Научно-публицистический альманах. - М, 2006. - Выпуск 2. - С. 199 - 213.

Статья с двумя авторами

Southwood, P. J. Principles of insect morphology/ P. J. Crawford, T. P. Barrett // Ref. Zool. - 1997. –Vol. 3, № 58. –P. 75 – 85. Crowcroft P. J., Barrett T. P. The life of a shrew// Ref. Zool. 1997. Vol. 3. № 58. P. 75 – 85. Ковалевский О.И., Горелкина А.М. Опыт зоологического обследования восточной части Ямала //Научные исследования на Севере. – СПб., 2006. - Выпуск 2. - С. 4053.

Из газеты

Петровская И. Они должны жить // Известия. – 2010. – 16 окт. Швырева А. К. «Новые находки древних животных...» // Ставропольская правда. – 2010. – 18 окт.

Монографии

Книга с одним автором Бей-Биенко М.И. Общая энтомология. - М.: Изд-во Моск. ун-та, 2003. - 192 с. Допускается предписанный знак точку и тире, разделяющий области библиографического описания, заменять точкой. Шапошникова Л.В. История герпетологических исследований на Кавказе (1944 – 2004). М.: РИЦ ИСПИ РАН, 2006. 440 с.

Книга с двумя авторами

Сунцов В. А., Сунцова Н. А. Природные очаги болезней человека: Учебное пособие. - СПб., 1999. Дэннис Э., Мэррилл Д. Зоология беспозвоночных: Пер. с англ. - М., 1997.

Книга с тремя авторами

Киселев, В.В. Анализ научного потенциала / В.В. Киселев, Т.Е. Кузнецова, З.З. Кузнецов. – М.: Наука, 1991. – 126 с. Сборник Природные ресурсы Кавказа: состояние и перспективы использования: сб. под ред. В.С. Ажаева. – М.: ИНИОН, 1991. – 147 с.

Из собрания сочинения

ст. Павлов И. П. Условные рефлексы // Собр. соч.: в 30 т. – М., 1998. – Т. 14. – С. 315 – 316.

Глава или раздел из книги

Беклемишев В. Н. В. Транспортные системы // Сравнительная анатомия. – М.: [Б.и.], 1990. – Ч. 1, гл. 3. – С. 59 – 86. Жуков А.В. Биоценология и биогеография. / А.В. Жуков, А.М. Сахаров // Очерки истории биологии.: кн. для учителя. – М.: Изд-во МГУ, 1984. – Гл. 1. – С. 7 – 74.

Автореферат диссертации

Клец Ю.А. Полужесткокрылые (Hemiptera) Южной России: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Ростов-на-Дону, 2009. – 24 с. Петренко О.А. Формирование и развитие системы мелиорации на Ставрополье в 1920-е 1930-е годы: Автореф. дис. ... канд. геогр. наук. – Ростов-на-Дону, 2006. – 17 с.

Диссертация

Озорная М.А. Биогеография в России во второй половине XIX в.: генезис, предметно тематические и структурно-функциональные особенности: Дис. ... канд. геогр. наук. - Ставрополь, 2006. - 177 с. Корнеева М.Д. Обводнение на востоке Ставропольского края: Дис. ... канд. геогр. наук. - Ставрополь, 2008. - 195 с.

Аналитические обзоры

Природопользование в России и государствах ближнего зарубежья: аналит. обзор, апр. 2007 / Рос. акад. наук, Ин-т мировой экономики и междунар. отношений. – М.: ИМЭМО, 2007. – 39 с.

Материалы конференций

1. Физиология, биология: инновационные аспекты знания: материалы 54-й научно-методической конференции преподавателей и студентов «Университетская наука - региону». – Ставрополь: Альфа Принт, 2009. – 418 с.

Публикация в материалах конференций

1. Пушкин С.В. «Колеоптерологические исследования// Биология, культурология: инновационные аспекты знания: материалы 54-й научно- методической конференции преподавателей и студентов «Университетская наука - региону». – Ставрополь: Альфа Принт, 2009. – С. 275 – 278.

2. Умнова Е.Ю. Диалог о биосфере // VII географические чтения: Ландшафты: локальный и глобальный контекст: сборник материалов Международной научно-практической конференции / под ред. В.А. Шальнева, О.И. Лепилкиной. – Ставрополь: Изд-во Ставропольского гос. ун-та, 2010. – С. 190 – 195.

Официальные документы

Конституция (Основной закон) Российской Федерации. – М.: Маркетинг, 2001. – 39 с.

Интернет-документы

1. <http://www.aneco.ru/ekologiya-zhivotnykh/blog.html> – сайт о животных.
2. <http://natureworld.ru/ekologiya/index.php> – сайт о растениях и животных в природе.
3. <http://www.zoopage.ru/stat.php?idstat=69> – сайт истории классификации и систематизации животных.
4. <http://www.zoofirma.ru/knigi/zoologiya-pozvonochnyh/3265-sistematika-hordovyh.html> – сайт о систематике хордовых животных.

5. <http://www.berl.ru/article/forabit/zoology/xordovie/cherep> – сайт о систематике позвоночных животных.
6. <http://psy.tom.ru/photo/ecology.html> – сайт об интересных фактах экологии.
7. <http://bio-faq.ru/zubr/zubr003.html> – сайт тестовых заданий по систематике.
8. <http://shkolo.ru/sistematika-zhivotnyih> – справочный сайт о систематике.
9. <http://www.medbiol.ru/medbiol/dog/00114c94.htm> – сайт принципов систематики.
10. <http://www.togur-school.tom.ru/trifonova/sait/givotn.htm> – сайт об охране растений и животных.
11. <http://www.zoodrug.ru/topic2045.html> – сайт об охране животных в России.
12. <http://ecology-portal.ru/publ/13-1-0-405> – экологический сайт об охране растительного и животного мира.
13. <http://www.derev-grad.ru/ohranyaemye-prirodnye-territorii/ohrana-zhivotnogo-mira.html> – сайт об охране природы.
14. <http://animaly.ru/ohrana-zhiv.php> – сайт о животном мире и его охране.
15. <http://sci.aha.ru/ATL/ra21f.htm> – сайт практической науки об охране растений и животных.
16. http://www.berl.ru/article/2z2/pravovaa_ohrana_givotnogo_mira.htm – сайт правовой охраны растительного и животного мира.

Примечание:

для сносок на цитаты в тексте курсовой работы следует указывать дату обращения к электронному источнику.

Захарова М.В. Государственная помощь прессе в период финансово-экономического кризиса (опыт Франции) // Медиаскоп. - 2009. - Вып. №3. - URL: <http://www.mediascope.ru/node/441> (дата обращения: 18.09.2010).

Оформление приложений

Приложения следует оформлять как продолжение курсовой работы на её последующих страницах. Располагать приложения следует в порядке появления ссылок на них в тексте курсовой работы. Каждое приложение должно начинаться с новой страницы и иметь заголовок с указанием вверху посередине после слова «Приложение». Если приложений более одного, то они нумеруются арабскими цифрами.

ПРОЦЕДУРА ЗАЩИТЫ КУРСОВЫХ РАБОТ

Доклад по исследованию должен быть рассчитан на 7-10 минут. Он состоит из введения и основной части. Во введении раскрывается научная и практическая значимость представленной темы, цели и задачи, которые ставит перед собой автор сообщения. В основной части доклада автор последовательно излагает основные результаты своего исследования. Доклад желательно сопровождать визуальной презентацией. Допуск курсовой работы к публичной защите осуществляется научным руководителем.

Студент, допущенный к публичной защите, обязан явиться на комиссию в строго назначенный день. Отклонения от графика представления курсовой работы и ее защиты без уважительных на то причин ведут к снижению оценки. До начала процедуры публичной защиты подписанная курсовая работа представляются в комиссию.

Зачетные книжки также должны быть предъявлены комиссии перед началом процедуры публичной защиты. После предоставления ему слова, студент обязан четко, ясно объявить тему своего исследования и огласить доклад, а затем ответить на вопросы комиссии и присутствующих на защите. Когда процедура защиты завершена, список выступающих исчерпан полностью, комиссия, после кратковременного совещания, оглашает оценки.

Примерная тематика курсовых проектов

1. Секвенирование, сборка и аннотация геномов бактерий.
2. Идентификация сайтов простого нуклеотидного полиморфизма по данным геномного секвенирования.

3. Функциональная роль гена MSL1 в клетках человека.
4. Качественная и количественная характеристика событий сплайсинга, детектируемых на уровне зарождающихся РНК генов человека.
5. Методы анализа данных полногеномного и полнотранскриптомного секвенирования.
6. Индукция программируемой клеточной гибели у проростков ячменя под действием гербицида трефлана.
7. Цитологические маркеры устойчивости растений к абиотическим факторам среды.
8. Генетика устойчивости растений к стрессовым факторам.
9. Биоинформационный анализ нуклеотидной последовательности участков генома *Bacillus subtilis*.
10. Получение плазмидных конструкций для инактивации генов у грамположительных микроорганизмов.
11. Разработка и апробация молекулярных маркеров для оценки уровня экспрессии генов, запускаемых при ISR.
12. Влияние биоэлизиторов на активность различных генов у *Solanum lycopersicum* L.
13. Структурно-функциональный анализ генов ДАГФ-синтаз I типа бактерий *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-162
14. Эпигенетические механизмы и их роль в развитии онкологических заболеваний.
15. Биоинформационные методы анализа эволюции и функции генов и генных семейств.
16. Использование CRISPR/Cas системы для решения разнообразных задач молекулярной биологии.
17. Создание серии векторов для обеспечения стабильной экспрессии модифицированного гена CAS9 в клетках человека
18. Характеристика бактериального *acds*-гена и регуляция его синтеза у ризосферных бактерий рода *Pseudomonas*.
19. Повышение устойчивости трансгенных растений *Nicotiana tabacum*, экспрессирующих *acds*-ген бактерий *Pseudomonas putida* B-37, к абиотическому и биотическому стрессу
20. Характеристика бактериального *acds*-гена и его использование для создания трансгенных растений с повышенной устойчивостью к абиотическим и биотическим стрессам
21. Получение аналогрезистентных мутантов бактерий *Pseudomonas fluorescens* способных к сверхсинтезу индолил-3-уксусной кислоты.
22. Молекулярно-генетическая характеристика коллекции мягкой пшеницы по генам, отвечающим за хлебопекарные качества.
23. Создание SCAR-маркера генетического материала *Solanum demissum*.
24. Цитогенетическое исследование некоторых линий мягкой пшеницы, полученных методом отдаленной гибридизации.
25. Изучение поколений T₀ и T₁ трансгенного табака с геном *Rec A E.coli*.
26. Проверка генетико-биометрической модели для подбора генетически дивергентных сортов.
27. Изучение геномов *Alium* *sepa* и *Alium* *fistulosum* методом FISH.
28. Генетический анализ наследования типа листа при скрещивании мутантных форм томата со слаборассеченным типом листа.
29. Эколого-генетические особенности адаптации кардамона настоящего.
30. Цитогенетическая характеристика трансгенных растений томата с *Ds*-элементом кукурузы.
31. Изучение взаимодействия генов, отвечающих за морфогенез листа томата.

32. Использование RAPD-анализа для идентификации и определения филогенетических связей между сортами озимой пшеницы.
33. Использование SSR-маркеров для идентификации гентипов картофеля.
34. Использование С-метода дифференциального окрашивания для идентификации генотипов пшеницы.
35. Генетический анализ устойчивости яровой пшеницы к бурой ржавчине.

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Богомолова О. В. Искусство презентации: практикум / О. Б. Богомолова, Д. Ю. Усенков. М., 2010.
2. ГОСТ Р 7.05–2008. Библиографическая ссылка. Общие требования и правила составления // Основные стандарты по издательскому делу. М., 2010.
3. Хожемп, В.В. Азбука научно-исследовательской работы студента: учебное пособие / В.В. Хожемп, К.С. Тарасов, М.Е. Пухлянко. - 2-е изд., испр. и доп. - М.: Российский университет дружбы народов, 2010. - 108 с. - ISBN 978-5-209- 03527.

ПРИЛОЖЕНИЯ

**Министерство науки и высшего образования РФ Федеральное
государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
БАЗОВАЯ КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ

Направление: 06.03.01 – Биология
Профиль «Генетика, селекция и биоинформатика»

КУРСОВАЯ РАБОТА: «ОЦЕНКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ»

Студент 3 курса
Группа БИО-б-26-1 « » _____ 20__ г. _____ (И.И.Иванов)

Научные руководители
д.б.н., доцент « » _____ 20__ г. _____ (И.И. Петров)

Ставрополь, 2025 г

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ	116
ВВЕДЕНИЕ	117
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	117
1.1. Азотный обмен в клетках бактерий	117

1.2. Р-II подобные белки	118
1.2.1 Подсемейства белков GlnB, GlnD и GlnK	118
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	120
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	120
2.1. Штаммы и плазмиды.....	120
2.2. Питательные среды и условия культивирования	120
2.3. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)	121
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	122
3.1. Получение двуплазмидных штаммов	122
ВЫВОДЫ	123
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	124

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

АДФ Аденозиндифосфат
 АТФ Аденозинтрифосфат
 АМФ Аденозинмонофосфат

