

Східноєвропейський національний університет
імені Лесі Українки
Біологічний факультет
Кафедра ботаніки

Тетяна Лісовська

ГЕНЕТИКА

Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт для
студентів III курсу біологічного факультету денної форми навчання

Луцьк
2016

УДК 575 (072)

ББК 28.04яз 73-9

Л 63

Рекомендовано до друку науково-методичною радою Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки (протокол № 9 від 15 травня 2016 р.)

Рецензент: Швайко С.Є. – доцент кафедри фізіології людини і тварин, к.б.н.

Лісовська Т.П.

Л 63 Генетика: Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт для студентів III курсу біологічного факультету денної форми навчання. Вид. 3-є, доповнене / Тетяна Павлівна Лісовська. – Луцьк: Друк ПП Іванюк В.П., 2016. – 80 с.

Наведені методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт з курсу “Генетика” для студентів III курсу біологічного факультету, які охоплюють основні розділи навчальної програми. Рекомендовано для студентів, викладачів, спеціалістів та магістрів.

УДК 575 (072)

ББК 28.04яз 73-9

© Лісовська Т.П., 2016

© Східноєвропейський національний університет імені Лесі Українки, 2016

Зміст

	Стор.
Пояснювальна записка.....	4
1. Мітотичний цикл клітини.....	5
2. Вивчення політенних хромосом у слинних залозах личинок хірономуса.....	9
3. Мейоз як етап формування статевих клітин.....	12
4. Гаметогенез у тварин. Споро- і гаметогенез у рослин.	
Подвійне запліднення у вищих рослин.....	15
5. Будова нуклеїнових кислот. Реплікація ДНК.....	18
6. Транскрипція і трансляція генетичної інформації.....	22
7. Будова геномів.....	24
8. Моногібридне схрещування. Взаємодія алельних генів.....	28
9. Дигібридне схрещування.....	33
10. Статистична обробка даних гібридологічного аналізу. Метод χ^2	37
11. Взаємодія неалельних генів.....	41
12. Успадкування, зчеплене зі статтю.....	44
13. Хромосомна теорія спадковості. Кросинговер.....	48
14. Біометричне вивчення модифікаційної мінливості.....	52
15. Мутаційна мінливість.....	54
16. Анафазний метод дослідження хромосомних перебудов у <i>Allium cepa</i>	58
17. Генетика популяцій.....	62
18. Методи дослідження генетики людини.....	67
Список використаної літератури.....	71
Додатки.....	72

Пояснювальна записка

Генетика вивчається студентами біологічного факультету (напрямок підготовки 6. 040102 “Біологія”) денної форми навчання у 5-му семестрі. Курс розрахований на 144 години, із них для студентів денної форми навчання передбачено 40 годин лекційного курсу, 32 години лабораторних занять, 36 годин відведено для самостійної роботи студентів і 36 годин для індивідуальної роботи. Форма контролю – іспит. Курс містить три змістових модуля, в кінці кожного студенти пишуть модульну контрольну роботу.

Мета курсу – засвоєння студентами знань молекулярних і цитологічних основ спадковості, основних закономірностей успадкування, зумовленого ядерними генами і генами позахромосомних структур клітини. Студенти вивчають типи мінливості живих організмів, вплив умов навколишнього середовища на генетичну мінливість організмів. Також в курсі „Генетика” викладаються основи генетичного аналізу, популяційної генетики, генетики індивідуального розвитку, генетики людини і генетичні основи селекції рослин і тварин.

Методичні рекомендації до лабораторних занять надають студентам допомогу у засвоєнні практичної частини курсу. У рекомендаціях наведені методики цитогенетичних досліджень в генетиці, алгоритми розв’язку задач з основних закономірностей успадкування, мінливості, кросинговеру, генетичного аналізу, генетики популяцій, генетики людини та інші.

Лабораторна робота №1

Тема: Мітотичний цикл клітини

Мета: Ознайомитися із мітотичним циклом клітин та стадіями мітозу.

Матеріали і обладнання: мікроскоп, предметні та накривні скельця, препарувальні голки, пінцети, скальпелі, зафіксовані корінці цибулі, ацетокармін, 45%-ва оцтова кислота, розчин для обконтуровання скелець, фільтрувальний папір, постійні препарати корінців цибулі, таблиці.

Завдання:

1. Навести схему клітинного циклу.
2. Виготовити тимчасові давлені препарати апікальної меристеми цибулі.
3. Знайти клітини на різних стадіях мітотичного циклу і замалювати їх.
4. Дати відповіді на питання.

Теоретична частина

Розмноження – одна з важливих ознак життя. Здатність до самовідтворення притаманна всім без винятку живим організмам.

Мітоз – основний тип поділу соматичних клітин, внаслідок якого утворюються дві дочірні клітини, які містять ту ж кількість хромосом (диплоїдний набір, $2n$), що і материнська клітина.

Сукупність процесів, які відбуваються в соматичній клітині від одного поділу до наступного, і процесів самого поділу, який завершується утворенням двох клітин нової генерації, називають мітотичним циклом.

Його тривалість складає 2 год у дріжджів, 30-40 год у корінцях бобів. Розрізняють чотири періоди цього циклу: інтерфаза, яка включає 3 періоди (пресинтетичний або постмітотичний - G_1 , синтетичний - S, постсинтетичний або премітотичний - G_2) і мітоз. Тривалість інтерфази становить 9/10 тривалості всього мітотичного циклу.

Після інтерфази наступає ділення ядра клітини – мітоз або каріокінез. У процесі мітозу послідовно відбувається п'ять фаз:

профаза, прометафаза, метафаза, анафаза і телофаза, які дуже швидко ідуть одна за одною (рис. 1).

Хід роботи

Завдання 1. Навести схему клітинного циклу, зазначити періоди.

Завдання 2. Виготовити тимчасові давлені препарати апікальної меристеми цибулі. Знайти клітини на різних стадіях мітотичного циклу і замалювати їх.

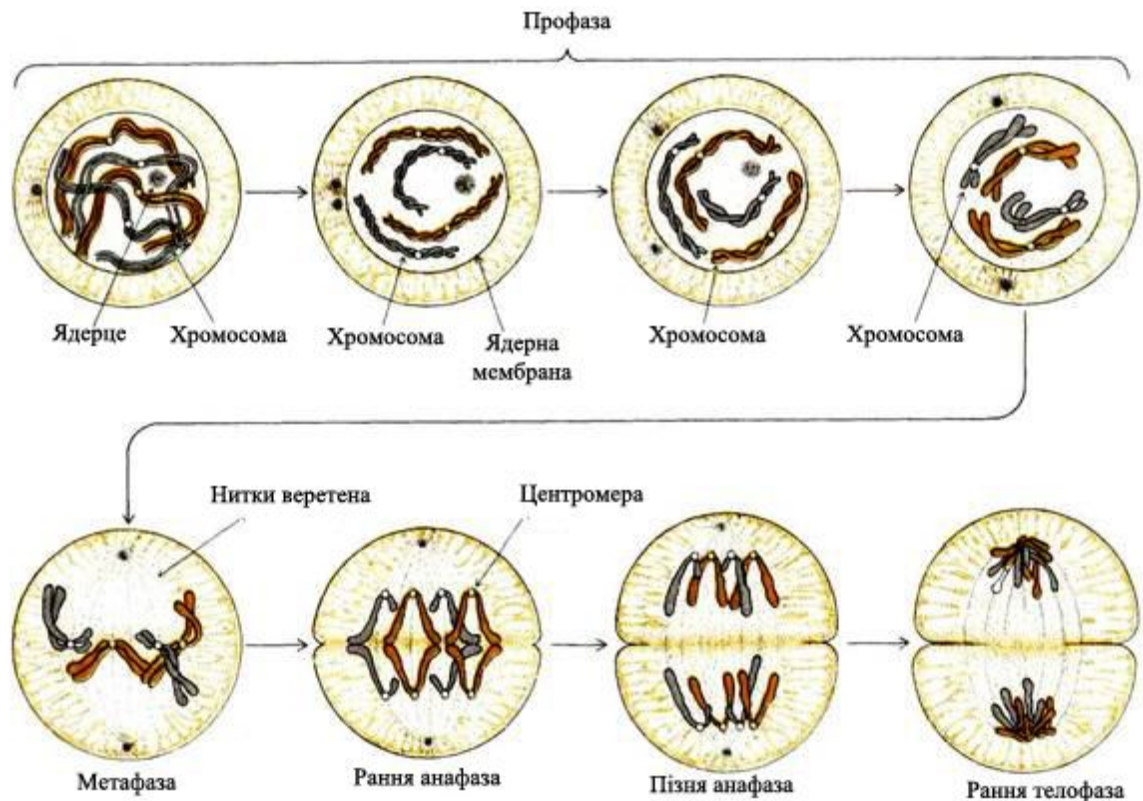


Рис. 1. Стадії мітозу

Об'єктами дослідження стадій мітозу можуть бути корінці цибулі-батуну, цибулі ріпчастої, кінських бобів, скереди. Можна замість корінців використовувати інші частини рослин з інтенсивним мітотичним поділом клітин, наприклад основи молодих листочків.

Зрізаючи з проростаючого насіння корінці, слід ураховувати, що перші мітози починаються у корінцях лише після досягнення ними певних розмірів. Те ж стосується й інтенсивності мітотичної активності, максимум якої настає лише на певній стадії. Тому зрізати слід корінці, що досягли 1 – 2 см у довжину.

Насіння цибулі поміщають в чашки Петрі на змочений дистильованою водою папір і пророщують в термостаті при температурі 22 °С. Через 24 години фіксують корінці довжиною 1,5...2,0 см у фіксаторі Кларка (суміш етилового спирту і льодяної оцтової кислоти у співвідношенні 3:1). Після фіксації впродовж 18 годин у холодильнику при температурі 8 °С переносять корінці у 70% етиловий спирт і зберігають до виготовлення препаратів. Стадії мітозу вивчають на давлених препаратах кореневої меристеми (рис. 2).



Рис.2. Клітини апікальної меристеми корінця цибулі ріпчастої (в центрі – клітини на стадії метафази)

Для зафарбування готують розчин ацетокарміну. У колбу наливають 55 мл дистильованої води, додають 45 мл льодяної оцтової кислоти. Розчиняють у цій суміші 4-5 г карміну. Потім цю суміш кип'ятять протягом однієї години на водяній бані у колбі. Насичений розчин охолоджують і фільтрують у посудину, яку закривають пробкою.

1. Помістити корінці в фарфоровий тигель із ацетокарміном.
2. Нагріти на електричній плитці до кипіння (працювати під тягою).
3. Вийняти корінці з барвника, перенести у 45%-у оцтову кислоту.
4. Помістити корінці на предметне скло в краплю 45% оцтової кислоти тонким пінцетом.

5. Скальпелем або лезом бритви відокремити конус наростання, прибрати непотрібні залишки корінця.
6. Накрити препарат накривним скельцем, а потім фільтрувальним папером. Видалити надлишок оцтової кислоти.
7. Легким постукуванням тупим кінцем препарувальної голки по накривному скельцю досягти того, щоб клітини розташувалися в один шар.
8. Для подальшого аналізу і фотографування тимчасового препарату накривне скельце обкантувати розчином желатини у 45% - ій оцтовій кислоті.
9. Налаштувати освітлення мікроскопа за Келером. На малому збільшенні знайти потрібну ділянку, перевести мікроскоп на більше збільшення.
10. Знайти клітини на різних стадіях мітотичного циклу і замалювати їх.

Завдання 3. Дати відповіді на питання.

1. На якій стадії мітотичного циклу хромосоми реплікуються?
2. На якій стадії мітозу хромосоми переміщуються в центр клітини?
3. На якій стадії мітозу хромосоми розходяться до полюсів клітини?
4. Яка структура в клітині відповідає за переміщення хромосом під час мітозу?
5. На якій стадії мітозу відбувається цитокінез?
6. Скільки клітин утвориться із однієї вихідної після п'яти клітинних циклів?

Контрольні питання:

1. Перерахуйте фази клітинного циклу. Які події відбуваються протягом клітинного циклу?
2. Перерахуйте послідовно періоди мітозу. Які події відбуваються під час мітозу?
3. В чому полягає біологічне значення мітозу?
4. Чому хромосоми вивчають на стадії метафази мітозу?
5. За якими морфологічними ознаками розрізняють хромосоми?

Лабораторна робота №2

Тема: Вивчення політенних хромосом у слинних залозах личинок хірономуса

Мета: навчитися виготовляти та аналізувати препарати політенних хромосом із слинних залоз личинок хірономуса.

Матеріали і обладнання: личинки хірономуса, мікроскопи, термостат, годинникові, предметні та накривні скельця, скальпелі, піпетки, препарувальні голки, фізіологічний розчин, ацетокармін, 45%-ва оцтова кислота.

Завдання:

1. Приготувати препарат політенних хромосом хірономуса;
2. Ідентифікувати політенні хромосоми хірономуса.

Теоретична частина

Ендомітоз – такий тип поділу клітин, під час якого хромосоми реплікуються, а клітини не діляться. Якщо репліковані хромосоми роз'єднуються, утворюються поліплоїдні клітини з кратно помноженою кількістю гаплоїдного набору хромосом. Якщо репліковані хромосоми не роз'єднуються, утворюються гігантські, політенні хромосоми. Політенні хромосоми є сукупністю великої кількості паралельно розташованих ідентичних ниток ДНК, що утворюються в результаті багаторазових актів реплікації, після яких дочірні нитки ДНК не розходяться, а залишаються якимсь чином з'єднаними. Завдяки цій особливості політенні хромосоми характеризуються величезними розмірами, що дозволяє спостерігати під світловим мікроскопом експресію генома в інтерфазному ядрі: активовані ділянки хромосоми утворюють набухання – *пуфи*. Внаслідок багаторазової реплікації гігантські хромосоми дрозофіли містять 1-2 тисячі хроматид. Політенні хромосоми у 100-200 разів довші і в 1000 разів товщі, ніж хромосоми інтерфазних соматичних і статевих клітин

Наявність чіткого дискового спектра в сукупності з гігантськими розмірами політенних хромосом дозволяє використовувати їх для аналізу хромосомних перебудов, у систематиці, популяційно-генетичних дослідженнях, для картування генів шляхом гібридизації міченої мРНК з політенними хромосомами, для вивчення

функціонування генома в інтерфазі та інших проблем.

Політенні хромосоми виявлені у представників найрізноманітніших систематичних таксонів: у дрозоді, комарів, у трофоцитах гризунів, деяких клітинах рослин. Організація політенних хромосом у різних видів має свої особливості: у ссавців, наприклад, вони, як правило, не мають чіткого дискового спектра – малюнка з чергуванням темних і світлих смуг, утвореного ділянками відповідно конденсованої і деконденсованої ДНК. Цей спектр дуже чітко видимий на політенних хромосомах дрозоді і комарів; у рослин дисковий спектр не є постійною характеристикою, він може з'являтися і зникати (однак характер спектра, його малюнок завжди залишаються однаковими). Політенні хромосоми можуть бути з'єднані своїми центромерами в одну спільну структуру – хромоцентр (як у дрозоді) або залишатися індивідуальними (як у хірономуса), можуть мати ділянки, на яких ДНК реплікована значно більше, ніж на інших частинах хромосоми, – пуфи ДНК (як у сціарид), гомологи можуть бути вільними або скон'югованими тощо.

Класичним об'єктом для вивчення політенних хромосом є слинні залози личинок дрозоді і комара-дзвінця – хірономуса, відомих під назвою «мотиль». Личинки перед виготовленням препаратів необхідно витримати у вологій камері в холодильнику (на холоді вони менш рухомі).

Хід роботи

Завдання 1. Приготувати препарат політенних хромосом хірономуса.

1. Препарувати личинку хірономуса у розчині Рінгера або гемолімфі. Тіло личинки складається із сегментів, перший із яких – голова. Задній кінець тіла закінчується псевдоподіями. Слинні залози знаходяться під другим і третім сегментами личинки. Щоб видалити їх, необхідно відрізати головний сегмент.

2. Із тіла личинки видавити голкою дві безбарвні прозорі залози, які мають 2-5 – лопатеву форму. По краях залози видні клітини з дуже великими ядрами. Зарисувати загальний вигляд залози. Препарувальними голками обережно спробувати відокремити

від слинних залоз жирові тіла, намагаючись не пошкодити самі залози.

3. Перенести залози за допомогою препарувальної голки у ацетокармін на предметне скло із лункою, накрити годинниковим склом і поставити в термостат з температурою 37°C на годину.

4. Зафарбовану залозу перенести на чисте желатинізоване предметне скло у краплю 45%-ої оцтової кислоти, накрити накривним скельцем таким чином, щоб між ними не лишилося повітря.

5. Роздавити залози і розподілити (розігнати) хромосоми. Для цього препарат помістити на столик стереомікроскопа МБС-10 (темне поле, освітлення зовнішнє) і легкими натисками препарувальної голки рівномірно розпластати клітини на склі, контролюючи процес через мікроскоп. Потім накрити препарат фільтрувальним папером, роздавити клітини і ядра, натискуючи на накривне скельце пальцем. Скельце не повинно зміщуватися відносно предметного. При недостатній розгонці постукати по накривному скельцю тупим кінцем препарувальної голки, добиваючись гарного розподілу хромосом у кількох ядрах.

6. Обкантувати краї накривного скельця гумовим клеєм або спеціальним середовищем (10 % желатина на 50 % оцтовій кислоті).

7. Перейти до мікроскопування тимчасового препарату. Вибрати клітину з добре помітними хромосомами у ядрі, розглянути їх будову та зарисувати. У клітинах слинної залози хірономуса спостерігається гаплоїдне число хромосом (гомологічні хромосоми кон'югують).

Завдання 2. Ідентифікувати політенні хромосоми хірономуса.

Побудувати гістограму каріотипу: хромосоми схематично зобразити у вигляді паралельних прямих ліній відповідної довжини і вказати на них квадратами, поперечними смугами і кружками відповідно ділянки пуфів, найбільш помітних дисків, центромеру. Вказати ступінь активності пуфів у балах: вищий клас активності (кільця Бальбіані) — 6 клас (+++++), потім 5 клас (++++), 4 клас (+++), 3 клас (++) , 2 клас (+) і 1 клас (0).

Контрольні питання:

1. Який тип поділу називається ендомітозом?
2. Внаслідок яких процесів утворюються політенні хромосоми?
3. Опишіть методику виготовлення політенних хромосом хірономуса.
4. Скільки політенних хромосом містять клітини слинних залоз хірономуса?
5. Опишіть морфологію політенних хромосом хірономуса.

Лабораторна робота №3

Тема: Мейоз як етап формування статевих клітин

Мета: Ознайомитися зі стадіями і перебігом мейозу.

Матеріали і обладнання: мікроскоп, предметні та накривні скельця, препарувальні голки, пінцети, скальпелі, зафіксовані бутони томату, ацетокармін, 45%-а оцтова кислота, розчин для обкantuвання скелець, фільтрувальний папір, постійні препарати мейоцитів томату, таблиці.

Завдання:

1. Виготовити тимчасові давлені препарати мейоцитів томату.
2. Знайти клітини на різних стадіях мейозу і замалювати їх.
3. Дати відповіді на теоретичні питання.

Теоретична частина

За визначенням **мейоз** – це два послідовних поділа клітини, яким передують лише один цикл реплікації хромосом, внаслідок якого утворюються чотири гаплоїдні клітини. Під час першого поділу відбувається редукція числа хромосом (мейоз I), під час другого – екваційний поділ (мейоз II).

Як у першому, так і у другому поділі виділяють чотири морфологічні фази, які співпадають із стадіями мітозу: профаза, метафаза, анафаза і телофаза, але відрізняються за процесами, які відбуваються під час цих фаз.

Стадії мейозу досліджують у мікроспороцитах рослин, наприклад, кукурудзи, томату і т.д. Для фіксації беруть свіжий матеріал (бутони). Перед фіксацією об'єкту видаляють всі непотрібні для дослідження частини рослин (квітконіжки, чашолистки), які заважають проникненню фіксатора у тканини. Об'єм рідини, у якій фіксують об'єкт, повинен у 50-100 разів перевищувати об'єм матеріалу. Для фіксації готують бюкси і етикетки. Етикетки роблять із цупкого паперу розміром 1-1,5 x 3-4 см. На них олівцем пишуть назву об'єкта і час фіксації.

Зібрані бутони (у томату розміром 2...3 мм) вміщують у бюкси з фіксатором (суміш льодяної оцтової кислоти і етилового спирту у співвідношенні 1:3) і вкладають туди етикетку. Бюкси ставлять у холодильник при температурі 2-4°C на 20-24 годин. Після фіксації матеріал промивають два рази по одній годині 70%-им етиловим спиртом. Для зберігання матеріал залишають у 70%-ому спирті при температурі +1° ... +4°C.

Хід роботи

Завдання 1. Виготовити тимчасові давлені препарати мейоцитів томату.

1. У день приготування препаратів матеріал промити дистильованою водою 2-3 рази протягом 30 хвилин. Потім витримати бутони 40 хвилин у 8%-ому розчині залізоамонійних галунів, після чого промити водопровідною водою від 30 хвилин до однієї години і прополоскати дистильованою водою.

2. Пиляки помістити на предметне скло у краплю ацетокарміну. Для кращого зафарбування подрібнені пиляки перемішують залізною голкою. Потім залишки стінок пиляків видалити, а краплю накрити накривним скельцем. Дерев'яною ручкою препарувальної голки, роблячи колові рухи по склу розподілити клітини в один шар.

3. Предметне скло обережно підігріти над полум'ям спиртівки або на нагрівному столику, доки цитоплазма і ядро не зафарбується в інтенсивний чорний колір. Після достатнього зафарбування препарат диференціювати, для чого каплю 45%-ої оцтової кислоти капати на

один край накривного скельця, а фільтрувальним папером витягувати з іншого кінця ацетокармін.

4. Після диференціювання накривне скло обклеїти сумішшю із желатину і оцтової кислоти.

Завдання 2. Знайти клітини на різних стадіях мейозу і замалювати їх.

На препаратах мікроспороцитів томату розглянути і замалювати послідовні стадії мейозу.

Завдання 3. Дати відповіді на теоретичні питання.

1. Якщо вихідна клітина містить диплоїдний набір хромосом, що дорівнює 14, скільки хромосом буде знаходитися на полюсах клітини в телофазі I?

2. Під час мейозу у мікроспороциті томату ($2n = 24$) одна пара гомологічних хромосом відійшла до одного полюсу. Скільки хромосом будуть містити ядра пилкових зерен, які утворилися із цієї клітини?

3. Якщо вихідна клітина містить диплоїдний набір хромосом, що дорівнює 28, скільки хромосом буде знаходитися на полюсах клітини в телофазі II?

4. Під час мейозу II у сперматоциті людини ($2n = 46$) одна пара сестринських хроматид відійшла до одного полюсу. Скільки сперматозоонів і з якою кількістю хромосом утвориться із цієї клітини?

5. Скільки бівалентів утвориться в ооцитах людини у діакінезі?

6. Чому дорівнює ймовірність того, що дитина успадкує від бабусі по батькові 23 хромосоми?

Контрольні питання:

1. Перерахуйте фази першого поділу мейозу. Які події відбуваються протягом мейозу I?

2. Перерахуйте послідовно стадії профазы I. Які події відбуваються під час цих стадій?

3. Перерахуйте фази другого поділу мейозу. Які події відбуваються протягом мейозу II?

4. В чому полягає біологічне значення мейозу?

Лабораторна робота №4

Тема: Гаметогенез у тварин. Споро- і гаметогенез у рослин. Подвійне запліднення у вищих рослин

Мета: Ознайомитися із процесами формування статевих клітин в спермато- і оогенезі у тварин. Ознайомитися з перебігом споро- і гаметогенезу, подвійним заплідненням у вищих рослин.

Матеріали і обладнання: мікроскоп, предметні та накривні скельця, препарувальні голки, пінцети, скальпелі, пилок рослин, ацетокармін, фільтрувальний папір, постійні препарати ооцитів кішки, сперматозоонів морської свинки, пилку на приймочці маточки, перерізу пиляків, таблиці.

Завдання:

1. Розглянути постійні препарати ооцитів кішки, сперматозоонів морської свинки.
2. Зарисувати схему спермато- і оогенезу у тварин.
3. Виготовити препарати пилку різних видів рослин і зарисувати їх.
4. Дати відповіді на теоретичні питання.

Теоретична частина

Статеве розмноження характеризується наявністю статевого процесу – злиттям двох статевих клітин, гамет. Формуванню гамет у багатоклітинних організмів передують особлива форма поділу клітин – мейоз.

Процес формування статевих клітин (гамет) відомий під загальною назвою **гаметогенезу**. Він характеризується рядом дуже важливих біологічних процесів і відбувається з деякими відмінностями при дозріванні сперматозоонів (сперматогенез) і яйцеклітин (овогенез). Протягом гаметогенезу розрізняють фазу розмноження (гоніальні клітини діляться мітотично), росту, дозрівання (ооцити і сперматоцити діляться мейотично) і формування (формується сперматозоон і яйцеклітина).

Статеве розмноження вищих рослин пов'язане із чергуванням двох фаз в життєвому циклі рослин: диплоїдної, характерної для спорофіту, і гаплоїдної, притаманної гаметофіту. Таким чином у вищих рослин розрізняють процеси спорогенезу, під час якого

відбувається мейоз, він завершується утворенням тетрад мікроспор (в пиляках) і мегаспор (у насінних зачатках), та гаметогенезу, під час якого формується жіночий (зародковий мішок) і чоловічий (пилкове зерно) гаметофіт.

Хід роботи

Завдання 1. Розглянути постійні препарати ооцитів кішки, сперматозоонів морської свинки.

Дозрівання ооцитів кішки, як і інших ссавців, відбувається у фолікулярних пухирцях, оточених дрібними (порівняно з ооцитами) фолікулярними клітинами, що виконують живильну функцію.

Сперматозоони морської свинки мають типову будову: вони складаються з голоки, шийки і, на відміну від сперматозоонів людини, які мають одну хвостову частину, у сперматозоонів морської свинки їх декілька.

Завдання 2. Зарисувати схему спермато- і оогенезу у тварин.

Зарисувати схему спермато- і оогенезу у тварин, користуючись рис. 3. Вказати стадії гаметогенезу і назву клітин на кожній стадії.

Завдання 3. Виготовити препарати пилку різних видів рослин і зарисувати їх.

1. Нанести на предметне скло дві краплі ацетокарміну і за допомогою препарувальної голки розсіяти по поверхні краплі попередньо зібраний і підсушений пилкок.

2. Через 2 хвилини накрити препарат накривним скельцем, розглянути під мікроскопом зафарбовані (фертильні) і прозорі та зморшкуваті (стерильні) пилкові зерна. Звернути увагу на оболонки пилкового зерна і пори, крізь які проростають пилкові трубки у тканинах стовпчика маточки

3. Зарисувати пилкові зерна.

Завдання 4. Дати відповіді на теоретичні питання.

1. Скільки сперматозоонів і з якою кількістю хромосом утвориться із одного сперматогонію людини ($2n = 46$)?

2. Скільки сперматозоонів і з якою кількістю хромосом утвориться із одного первинного сперматоцита людини ($2n = 46$)?

3. Скільки вторинних сперматоцитів і з якою кількістю хромосом утвориться із одного сперматогонію у людини ($2n = 46$)?

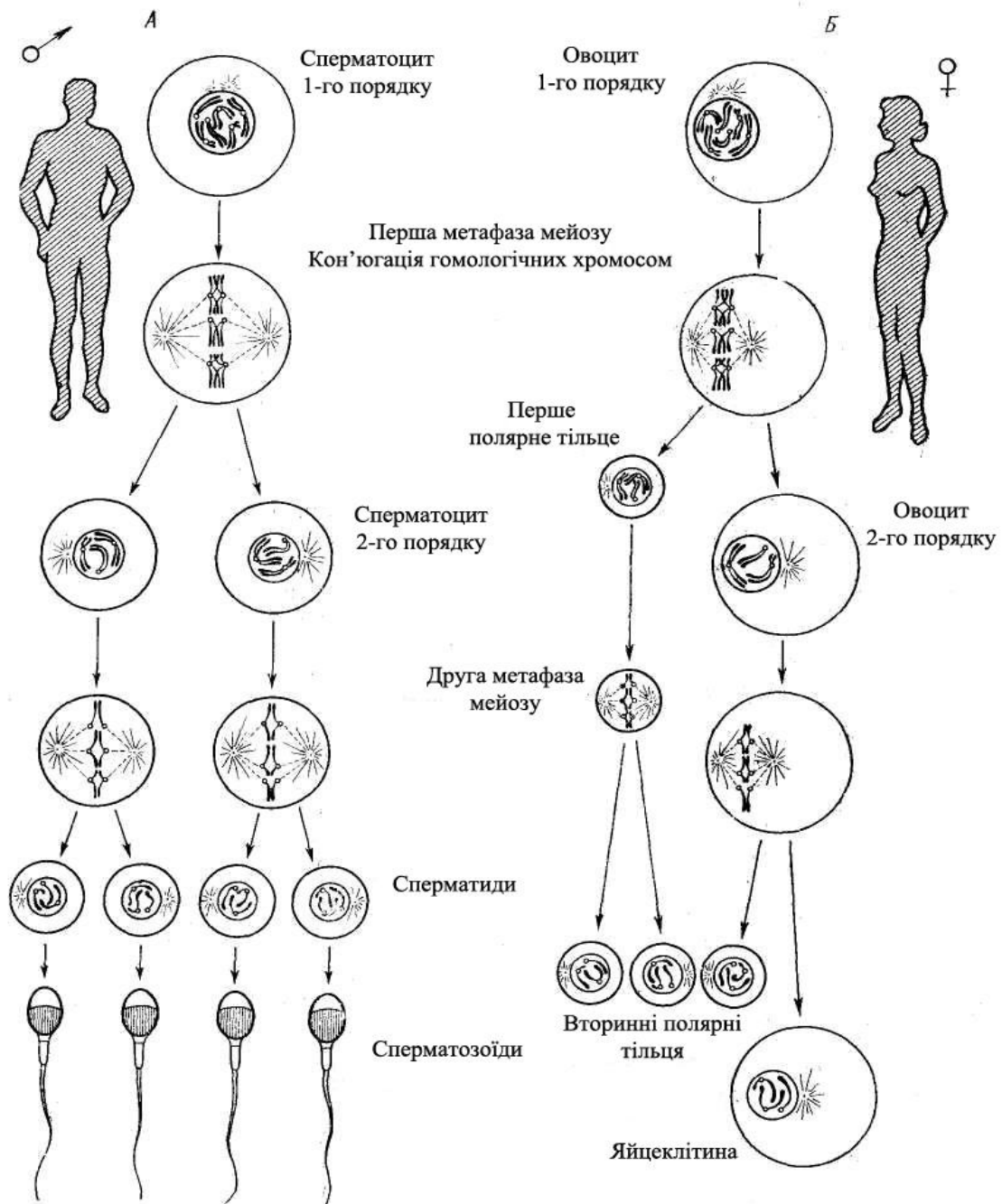


Рис 3. Утворення сперматозоїдів (А) і яйцеклітин (Б) у людини

4. Скільки яйцеклітин утвориться в ході овогенезу із 200 овогоніїв у кішки?

5. Під час мейозу в овогенезі людини не розійшлися гомологічні хромосоми. Яйцеклітини з якою кількістю хромосом можуть утворитися внаслідок такого порушення?

6. Клітини апікальної меристеми корінців кукурудзи містять 20 хромосом. Скільки хромосом містять: а) яйцеклітини; б) вегетативне ядро пилку; в) синергіди; г) ендосперм?

Контрольні питання:

1. Опишіть процес сперматогенезу у тварин.
2. Опишіть процес овогенезу у тварин і порівняйте його з сперматогенезом.
3. Опишіть процес мікроспоро- і мікрогаметогенезу у квіткових рослин.
4. Опишіть процес мегаспоро- і мегагаметогенезу у квіткових рослин.
5. Яким чином відбувається подвійне запліднення у покритонасінних?
6. За допомогою яких методів визначають життєздатність і фертильність пилку?

Лабораторна робота №5

Тема:Будова нуклеїнових кислот. Реплікація ДНК

Мета: Закріпити знання про будову нуклеїнових кислот. Навчитися розв'язувати задачі за темою лабораторної роботи.

Матеріали і реактиви: таблиці, зошит, калькулятор.

Завдання:

1. Розглянути найважливіші конформації ДНК та деякі параметри їх будови. Розв'язати задачі за темою лабораторної роботи.
2. Зарисувати вторинну будову тРНК і вказати структурні частини молекули.
3. Зарисувати схему реплікаційної вилки і вказати найважливіші ферменти реплікації.

Теоретична частина

У 1953 р. Дж. Уотсон і Ф. Крік запропонували дволанцюгову модель вторинної структури ДНК. Згідно їх гіпотези ДНК складається із двох полінуклеотидних ланцюгів, закручених у праву

спіраль один навколо другого і навколо спільної осі. Ці ланцюги є антипаралельними, утримуються разом водневими зв'язками між азотними основами, причому аденін завжди з'єднаний з тиміном, а гуанін з цитозином. Таким чином полінуклеотидні ланцюги є комплементарними. Спіраль закручена таким чином, що на її поверхні утворюється дві борозни: велика – шириною біля 2,20 нм і мала – шириною приблизно 1,20 нм. Діаметр спіралі дорівнює 1,80 нм, довжина витка – 3,40 нм, в одному витку спіралі вміщується 10 пар нуклеотидних залишків. Пізніше було з'ясовано, що модель Дж. Уотсона і Ф. Кріка описує структуру однієї найбільш розповсюдженої подвійної спіралі, яка була названа В-формою або В-конформацією. Пізніше було встановлено існування інших форм ДНК, які можуть взаємно переходити одна в одну (табл. 1).

Таблиця 1

Параметри будови основних конформацій ДНК

Конформація	Довжина витка спіралі, нм	Відстань між нуклеотидами, нм	Кількість пар нуклеотидів на виток
В	3,40	0,34	10
А	2,80	0,25	11
С	3,10	0,32	9
Z	–	0,37	12

Рестриктази – ферменти, які розпізнають певні послідовності нуклеотидів і розрізають молекулу ДНК. На сьогодні відомо близько ста різноманітних рестриктаз, які виділяють із мікроорганізмів. При обробці ДНК однією або кількома рестриктазами завжди отримують однаковий набір фрагментів ДНК (за масою). Відкриття рестриктаз дало змогу будувати рестрикційні карти ДНК, у яких замість маркерних генів на генетичній карті позначають сайти рестрикції.

Хід роботи

Завдання 1. Розглянути найважливіші конформації ДНК та деякі параметри їх будови. Розв'язати задачі за темою лабораторної роботи.

1. Послідовність нуклеотидів в 1-му ланцюзі ДНК: Г – А – Ц – А – А – Ц – А – А – Т – Ц – А – Ц – Т – А – Т – А – Ц – Ц. Визначте послідовність нуклеотидів в 2-му ланцюзі ДНК і розрахуйте коефіцієнт специфічності для цієї ділянки ДНК.
2. Фрагмент гена містить 40 нуклеотидів. Визначте кількість водневих зв'язків між азотистими основами, якщо відомо, що один ланцюг містить 4 аденілових нуклеотиди, 7 тимідилових, 4 цитозинових і 5 гуанинових нуклеотидів.
3. Маса гену становить 62 100 у.о.м.. Чому дорівнює довжина цього гену, якщо середня маса одного нуклеотиду дорівнює 345 у.о.м., а один нуклеотид займає відстань 0,34 нм (дод. А).
4. Чому дорівнює маса гену, якщо його довжина на молекулі ДНК (конформація В) дорівнює 2000 витків?
5. Один ланцюг ДНК містить 35% аденіну і 15% цитозину, 22% тиміну. Яка кількість нуклеотидів міститься у комплементарному йому ланцюзі ДНК?
6. ДНК містить 15% аденіну. Чому дорівнює кількість у % кожного нуклеотиду в ДНК?
7. В молекулі ДНК міститься 56 % ГЦ пар. Яка кількість у % кожного нуклеотиду в ДНК?
8. Визначте час реплікації гену, якщо його довжина на молекулі ДНК дорівнює 137 700 нм. Швидкість реплікації – 9×10^4 міжнуклеотидних зв'язків на хвилину.
9. Найбільша хромосома *Drosophila melanogaster* містить $6,5 \times 10^7$ пар нуклеотидів. Швидкість реплікації ДНК у дрозофіли становить 2 600 п.н. за хвилину при 25 °С. В період активного росту дрозофіли її хромосоми можуть подвоюватися через кожні 6 год. Скільки реплікаційних вилок повинно утворюватися на цій хромосомі?
10. Препарат кільцевої ДНК плазміди обробили рестриктазами (ферментами, які розпізнають певні послідовності нуклеотидів і розрізають ДНК в цих місцях) *Xma I*, *Mbo I* та їх сумішшю, а потім за допомогою електрофорезу встановили розмір цих фрагментів в т.п.н. Використовуючи наведену нижче інформацію (табл. 2), побудуйте рестрикційну карту цієї плазмідної ДНК.

Розміри фрагментів кільцевої ДНК плазміди

Рестриктаза	Розмір фрагменту
<i>Xma I</i>	20
<i>Mbo I</i>	10
<i>Xma I</i> та <i>Mbo I</i>	3, 7 та 10

Завдання 2. Зарисувати вторинну будову тРНК (рис.4), вказати структурні частини молекули.

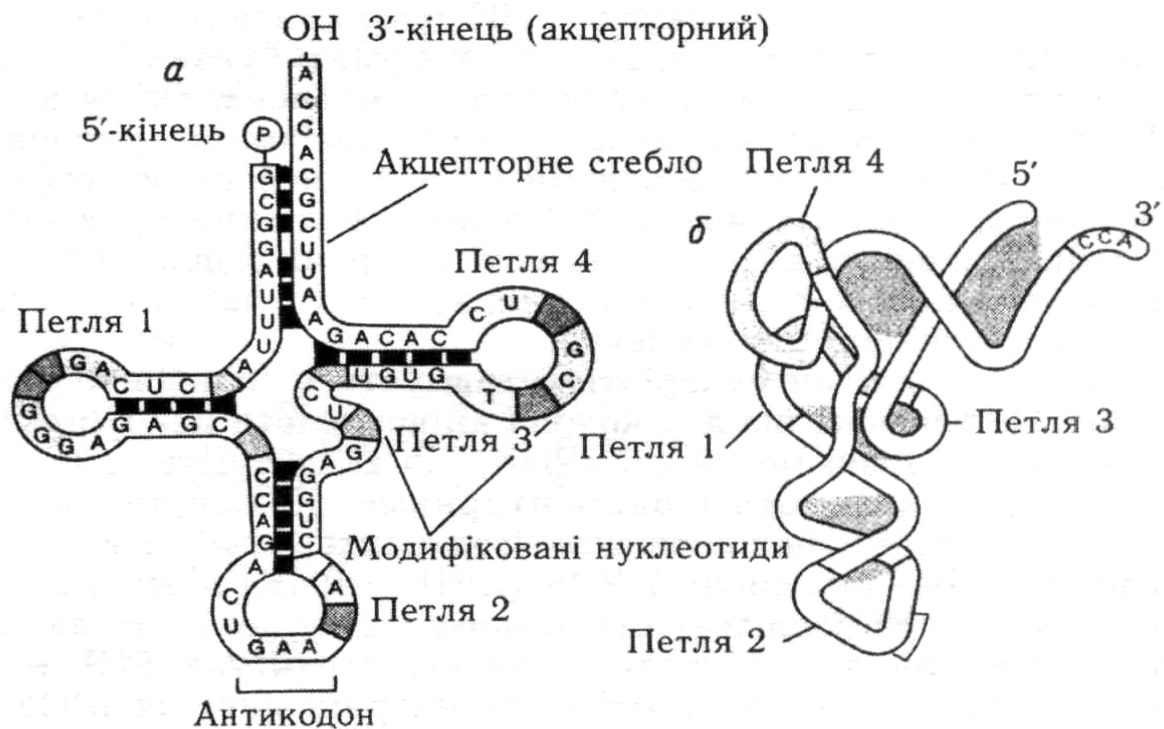


Рис. 4. Фенілаланінова тРНК дріжджів (За: Тоцький, 2008)

Завдання 3. Зарисувати схему реплікаційної вилки і вказати найважливіші ферменти реплікації.

Контрольні питання:

1. Яким чином сформувалося уявлення про ДНК – носія генетичної інформації?
2. Опишіть первинну і вторинну будову ДНК.
3. Опишіть первинну і вторинну будову тРНК.
4. Опишіть первинну і вторинну будову іРНК.
5. Які ферменти беруть участь у процесі реплікації ДНК?

Науково-методичне видання

Лісовська Тетяна Павлівна

ГЕНЕТИКА

Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт для студентів III курсу біологічного факультету денної форми навчання.

Вид. 3-є, доповнене

Друкується в авторській редакції

Підписано до друку 12.06.2016 р. Формат 60х 84/16
Ум. друк. арк. 4,4. Зам.№205. Тираж 100.
Папір офсетний. Гарнітура Times. Друк офсетний.
Друк ПП Іванюк В.П. 43021, м. Луцьк, вул. Винниченка, 65
Свідоцтво Держкомінформу України
ВЛн №31 від 04. 02. 2004 р.