

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ПОЛТАВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В. Г. КОРОЛЕНКА
Кафедра ботаніки, екології та методики навчання біології

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДО ПРОВЕДЕННЯ ЛАБОРАТОРНИХ
ЗАНЯТЬ З НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

«ОСНОВИ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИКА»
підготовки здобувачів освітнього ступеня *«бакалавр»*

Галузь знань	01 Освіта
Спеціальність / напрям підготовки	014.15 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини)
За освітньою програмою	Середня освіта (Біологія та здоров'я людини)

Полтава, 2020

Практична робота №1

Тема: Низькомолекулярні сполуки в біологічних системах

Мета: Ознайомитись із сполуками карбону. Вивчити будову вуглеводів, макроергічних сполук, ліпідів.

Контрольні запитання

1. Вуглець як елемент, що займає особливе місце по здатності до утворення більших молекул.
2. Які види ізомерії виникають при приєднанні до атома вуглецю різних атомів або радикалів?
3. Які особливості будови вуглеводів?
4. У яких формах можуть існувати цукри?
5. За рахунок чого виникають у цукрів стереохімічні ізомери?
6. Чому альдегідна група й кетогрупа відіграють особливу роль у структурі вуглеводів?
7. Які сахариди найбільш часто зустрічаються у живих клітинах, яке вони мають значення?
8. Що таке макроергічні сполуки та яка їх роль у клітині?
9. Які сполуки відносяться до ліпідів та яка їх будова?
10. Розкрити будову та роль жирних кислот у клітині?

Література

Грин Н. Биология: в 3-х т. / Н. Грин, У. Стаут, Д. Тейлор. -М.: Мир, 1996. - Т. 3. -376 с.

Калинин Ф.Л. Основы молекулярной биологии.- К.: Выща школа, 1978.- 486 с.

Рис Э., Стернберг М. Введение в молекулярную биологию: От клеток к атомам: Пер. с. англ. - М.: Мир, 2002.- 142 с.

http://uk.wikipedia.org/wiki/Органічні_сполуки

Практична робота №2

Тема: Білки як структурно-функціональні компоненти клітини

Мета: Ознайомитись із структурою, рівнями організації, методами дослідження та функціями білків.

Контрольні запитання

1. Що таке білки та яка історія їх відкриття?
2. Які амінокислоти входять до складу білків?
3. Будова й класифікація амінокислот
4. Що таке пептидний зв'язок і як він утворюється?
5. Розмір білкових молекул
6. Якісний склад і кількісний вміст амінокислот у білках
7. Рівні організації білків

8. Методи дослідження хімічного складу білків
9. Функції білків

Література

Албертс Б. Молекулярная биология клетки: в 3-х т. / [Б. Албертс, Д. Брей, Дж. Льюис и др.]. – М.: Мир; 1994.- Т. 1 - С. 155-171.

Грин Н. Биология: в 3-х т. / Н. Грин, У. Стаут, Д. Тейлор. -М.: Мир, 1996.- Т.1.- С. 170-182.

Рис Э. Введение в молекулярную биологию: От клеток к атомам / Э. Рис, М. Стернберг. - М.: Мир, 2002.- 142 с.

Сиволоб А.В. Молекулярна біологія: підручник/ Андрій Володимирович Сиволоб. К.: ВПЦ «Київський університет», 2008.- С. 33-35.

www.molbiol.edu.ru/

<http://uk.wikipedia.org/wiki/Амінокислоти>

<http://uk.wikipedia.org/wiki/Білки>

Практична робота №3

Тема: Нуклеїнові кислоти - найважливіші складові генетичного апарату клітини

Мета: Ознайомитися із особливостями будови нуклеїнових кислот, методами виділення і очистки ДНК.

Контрольні запитання

1. Що таке нуклеїнові кислоти та яка історія їх відкриття?
2. Будова й класифікація нуклеїнових кислот
3. Структура ДНК
4. Які відомі альтернативні форми подвійної спіралі ДНК?
5. Денатурація й ренатурація ДНК
6. Які особливості будови й види РНК?
7. Денатурація й ренатурація РНК
8. Які існують методи виділення і очистки ДНК?

Література

Грин Н. Биология: в 3-х т. / Н. Грин, У. Стаут, Д. Тейлор. -М.: Мир, 1996.- 376 с.

Льюин Б. Гены. –М.: Мир, 1987.-544 с.

Молекулярная биология: Структура и биосинтез нуклеиновых кислот/В.И. Агол, А.А. Богданов, В.А. Гвоздев и др.; Под ред. А. С. Спирина.— М.: Высш. шк., 1990.—352 с.

Патрушев Л.И. Экспрессия генов. – М.: Наука, 2000. – 830 с.

Сингер М., Берг П. Гены и геномы: В 2-х т. Т. 1., М.: Мир, 1998.– 373 с.

Тоцький В.М. Генетика. Одеса: Астропринт, 2002.- 710 с.

www.molbiol.edu.ru/

http://uk.wikipedia.org/wiki/Нуклеїнові_кислоти

Практична робота №4

Тема: Структура гена

Мета: З'ясувати особливості організації генів у про- та еукаріот. Познакомитися з методами дослідження гена.

Контрольні запитання

1. Як розвивалося уявлення про ген?
2. Ген як одиниця функції
3. Які особливості організації гена у прокариот?
4. Яка структура еукаріотичних генів?
5. Що таке структурна частина гена?
6. Як організована регуляторна частина еукаріотичного гена?
7. Які існують методи дослідження гена?
8. Методи дослідження нуклеотидного складу ДНК
9. Полімеразна ланцюгова реакція

Література

Георгиев Г.П. Гены высших организмов и их экспрессия. М.: Наука, 1989.-254 с.

Грин Н. Биология: в 3-х т. / Н. Грин, У. Стаут, Д. Тейлор. -М.: Мир, 1996. Т. 3.- 376 с.

Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.: Высшая школа, 1989.-592 с.

Льюин Б. Гены. -М.: Мир, 1987.-544 с.

Тоцький В.М. Генетика. Одеса: Астропринт, 2002.- 710 с.

Янковский Н.К. Молекулярно-генетические методы в руках детектива, или опыт исследования останков семьи последнего российского императора. Соросовский образовательный журнал №2, 1996.-С. 21-27.

Сиволоб А.В. Молекулярна біологія: підручник/ Андрій Володимирович Сиволоб. К.: ВПЦ «Київський університет», 2008.- С. 105-106.

www.molbiol.edu.ru/

<http://uk.wikipedia.org/wiki/Ген>

Практична робота №5

Тема: Структура геному

Мета: Познакомитися з організацією геному вірусів, про- та еукаріотів.

Контрольні запитання

1. Як розвивалося уявлення про геном?
2. Що таке облігатні та факультативні елементи геному?
3. Як організовані геноми вірусів?
4. Які особливості організації геному у прокариот?
5. Геном еукаріот
6. Що таке «надмірність» еукаріотичного геному?
7. Яке біологічне значення некодуючих елементів геному?

8. Мобільні елементи геному

Література

Гвоздев В.А. Механизмы регуляции активности генов в процессе транскрипции. Соросовский образовательный журнал №1, 1996.-с. 23-31.

Георгиев Г.П. Гены высших организмов и их экспрессия. М.: Наука, 1989.- 254 с.

Грин Н. Биология: в 3-х т. / Н. Грин, У. Стаут, Д. Тейлор. - Т. 3. - М.: Мир, 1996.-376 с.

Инге-Вечтомов С.Г. Введение в молекулярную генетику. М.: Высшая школа, 1983.-343 с.

Льюин Б. Гены. –М.: Мир, 1987.-544 с.

Патрушев Л.И. Экспрессия генов. – М.: Наука, 2000. – 830 с.

Сиволоб А.В. Молекулярна біологія: підручник/ Андрій Володимирович Сиволоб. К.: ВПЦ «Київський університет», 2008.- С. 106-109.

Тоцький В.М. Генетика. Одеса: Астропринт, 2002.- 710 с.

www.molbiol.edu.ru/

<http://uk.wikipedia.org/wiki/Геном>

Практична робота №6

Тема: Молекулярна організація хроматину

Мета: Вивчити особливості організації хроматину у хромосомах еукаріот.

Контрольні запитання

1. Що таке хроматин?
2. Що таке нуклеосоми?
3. Наднуклеосомна упаковка хроматинової фібрили
4. Які особливості організації гетерохроматину та його генетичне значення?
5. Теломери і теломерний гетерохроматин
6. Що таке димінуція хроматину і хромосом та яке їх значення?
7. Яке біологічне значення елімінації хроматину і хромосом?

Література

Акифьев А.П., Гришанин А.К. Некоторые биологические аспекты диминуции хроматина// Журн. общ. биол., Т. 54, №1.- 1993.-С. 5-16.

Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. М.: Мир, Т. 2, 1994.-С. 93-247.

Босток К., Самнер Э. Хромосома эукариотической клетки. М.: Мир, 1981.- 598 с.

Глазер В.М. Запрограммированные перестройки генетического материала в онтогенезе// Соросовский образовательный журнал, № 8, 1998.- С. 22-29.

Гришанин А.К. Сравнительное изучение хромосом и интерфазных ядер в клетках зародыша *Cyclops kolensis* (Copepoda, Crustacea) до и после диминуции хроматина при помощи электронной микроскопии// Онтогенез, Т. 26, №3, 1995.- С. 188-195.

Гришанин А.К., Акифьев А.П. Диминуция хроматина и организация хромосом у *Cyclops strenuus strenuus*// Генетика, Т. 29, №7, 1993.-С. 1099-1107.

Жимулев И.Ф. Гетерохроматин и эффект положения гена. Новосибирск, Наука, 1993.-490 с.

Сиволоб А.В. Молекулярна біологія: підручник/ Андрій Володимирович Сиволоб. К.: ВПЦ «Київський університет», 2008.- С. 125-127.

www.molbiol.edu.ru/

<http://uk.wikipedia.org/wiki/Хроматин>

Практична робота №7

Тема: Транскрипція

Мета: З'ясувати молекулярні механізми основних етапів транскрипції, модифікації і процесингу РНК-транскриптів.

Контрольні запитання

1. Як відповідно до основного постулату молекулярної біології реалізується і передається генетична інформація?
2. Що таке транскрипція та які стадії у ній виділяють?
3. Про- та еукаріотичні ДНК-залежні РНК-полімерази
4. Етапи транскрипції
5. Модифікація і процесинг РНК транскриптів
6. Як відбувається регуляція транскрипції у прокариот?
7. Регуляція транскрипції у еукаріот

Література

Гвоздев В.А. Механизмы регуляции активности генов в процессе транскрипции. Соросовский образовательный журнал №1, 1996.-с. 23-31.

Георгиев Г.П. Гены высших организмов и их экспрессия. М.: Наука, 1989.- 254 с.

Грин Н. Биология: в 3-х т. / Н. Грин, У. Стаут, Д. Тейлор. - Т. 3. - М.: Мир, 1996.-376 с.

Льюин Б. Гены. –М.: Мир, 1987.-544 с.

Патрушев Л.И. Экспрессия генов. – М.: Наука, 2000. – 830 с.

Сиволоб А.В. Молекулярна біологія: підручник/ Андрій Володимирович Сиволоб. К.: ВПЦ «Київський університет», 2008.- 384 с.

Тоцький В.М. Генетика. Одеса: Астропринт, 2002.- 710 с.

www.molbiol.edu.ru/

[http://uk.wikipedia.org/wiki/Транскрипція_\(біологія\)](http://uk.wikipedia.org/wiki/Транскрипція_(біологія))

Практична робота №8

Тема: Трансляція генетичної інформації

Мета: Вивчити молекулярні механізми синтезу білка в клітині.

Контрольні запитання

1. Що таке трансляція та які стадії у ній виділяють?
2. Апарат трансляції
3. Що таке активація амінокислот?

4. Які молекулярні механізми ініціації трансляції?
5. Елонгація
6. Як відбувається термінація трансляції?
7. Які особливості трансляції у еукаріот?
8. Посттрансляційна модифікація білків

Література

Грин Н. Биология: в 3-х т. / Н. Грин, У. Стаут, Д. Тейлор. - Т.3.-М.: Мир, 1996.-376 с.

Овчинников Л.П. Что и как закодировано в мРНК // Соросовский образовательный журнал.- 1998.- № 4.- С. 10-18.

Патрушев Л.И. Экспрессия генов. – М.: Наука, 2000. – 830 с.

Саминский Е.М. Трансляция генетического кода на рибосомах. СПб.: Изд-во СПбГТУ, 2000.- 87 с.

Сиволоб А.В. Молекулярна біологія: підручник/ Андрій Володимирович Сиволоб. К.: ВПЦ «Київський університет», 2008.- 384 с.

Спирин А.С. Биосинтез белка: Инициация трансляции // Соросовский образовательный журнал.- 1999.- № 5.- С. 2-7.

Спирин А.С. Биосинтез белка: Элонгация полипептида и терминация трансляции // Там же.- 1999.- № 6. С. 2-7.

Степанов В.М. Молекулярная биология. Структура и функция белков.- М.: Высшая школа, 1996.-335 с.

www.molbiol.edu.ru/

[http://uk.wikipedia.org/wiki/Трансляція_\(біологія\)](http://uk.wikipedia.org/wiki/Трансляція_(біологія))

Практична робота №9

Тема: Реплікація ДНК

Мета: Ознайомитися із сучасними уявленнями про молекулярні механізми відтворення генетичної інформації у про- та еукаріот.

Контрольні запитання

1. Що таке реплікація ДНК?
2. Які принципи реплікації?
3. Етапи реплікації ДНК
4. Які особливості реплікації ДНК у прокаріот?
5. Особливості реплікації ДНК у еукаріот
6. Проблема недореплікації 3'-кінців лінійних молекул ДНК
7. Реплікація ДНК у вірусів та мітохондрій і пластид
8. Помилки реплікації

Література

Альбертс Б., Брей Д., Льюїс Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. Москва, Мир, Том. 2, 1994.-С. 287-301.

Богданов А.А. Теломеры и теломераза // Соросовский образовательный журнал.- 1998. № 12. С. 12-18.

Докудовская С.С., Петров А.В., Донцова О.А., Богданов А.А. Теломераза - необычный РНК-содержащий фермент // Биохимия. 1997. Т. 62, № 11. С. 1411-1422.

Дымшиц Г.М. Проблема репликации концов линейных молекул ДНК и теломераза// Соросовский образовательный журнал. 2000.- №5.- С. 8-13.

Льюин Б. Гены. Москва, Мир, 1987.-С. 23-36.

Патрушев Л.И. Экспрессия генов. – М.: Наука, 2000. – 830 с.

Сиволоб А.В. Молекулярна біологія: підручник/ Андрій Володимирович Сиволоб. К.: ВПЦ «Київський університет», 2008.- 384 с.

Тоцький В.М. Генетика. Одеса: Астропринт, 2002.- 710 с.

Фаворова О.О. Сохранение ДНК в ряду поколений: репликация ДНК. Соросовский образовательный журнал, №4, 1996. С. 11-17.

www.molbiol.edu.ru/

http://uk.wikipedia.org/wiki/Реплікація_ДНК

Практична робота №10

Тема: Репарація

Мета: Ознайомитися із існуючими механізмами репарації ДНК в клітині.

Контрольні запитання

1. Що таке репарація генетичних ушкоджень?
2. Які причини виникнення ушкоджень ДНК у клітині?
3. Які існують механізми репарації ушкодженої ДНК?
4. Фотореактивація та інші види «прямої» репарації
5. Що таке ексцизійна репарація ДНК?
6. Які молекулярні механізми постреплікаційної репарації?
7. Що таке SOS-репарація?

Література

Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. М.: Мир, Том. 2, 1994.-С. 287-301.

Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.: Высшая школа, 1989.-592 с.

Лищенко І.Д. Генетика з основами селекції. К.: Вища школа, 1994.- 416 с.

Сиволоб А.В. Молекулярна біологія: підручник/ Андрій Володимирович Сиволоб. К.: ВПЦ «Київський університет», 2008.- 384 с.

Стент Г., Кэлиндар Р. Молекулярная генетика. М.: Мир, 1981.-648 С.

Тоцький В.М. Генетика. Одеса: Астропринт, 2002.- 710 с.

http://uk.wikipedia.org/wiki/Репарація_ДНК

Практична робота №11

Тема: Рекомбінація ДНК

Мета: Вивчити молекулярні механізми рекомбінації і конверсії генів.

Контрольні запитання

1. У чому суть гіпотез «розрив-воз'єднання» та «копі-чойз»?
2. Які молекулярні механізми загальної (гомологічної) рекомбінації?
3. Молекулярні механізми конверсії генів
4. В чому полягають особливості загальної рекомбінації у вірусів?
5. Які існують спеціалізовані системи гомологічної рекомбінації?
6. Сайт-специфічна рекомбінація
7. В чому суть генетичної рекомбінації у бактерій?

Література

- Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.: Высшая школа, 1989.-592 с.
- Лищенко І.Д. Генетика з основами селекції. К.: Вища школа, 1994.- 416 с.
- Сиволоб А.В. Молекулярна біологія: підручник/ Андрій Володимирович Сиволоб. К.: ВПЦ «Київський університет», 2008.- 384 с.
- Стент Г., Кэлиндар Р. Молекулярная генетика. М.: Мир, 1981.-648 С.
- Тоцький В.М. Генетика. Одеса: Астропринт, 2002.- 710 с.

Лабораторна робота №12

Тема: Каріотиби і морфологія хромосом

Матеріали та обладнання: постійні препарати каріотипів рослин та тварин різних видів, фіксовані та зафарбовані в ацетоорсеїні корінці цибулі чи ячменю, предметні і накривні скельця, леза бритви, фільтрувальний папір, спиртівки, препарувальні голки, мікроскоп, імерсійна олія, 45%-на оцтова кислота, олівець.

Мета: Ознайомитись із каріотипами різних організмів, вивчити морфологію хромосом. Розглянути гігантські хромосоми із слинних залоз личинок комах.

Основні теоретичні відомості та методичні поради

Кожний вид організму має свій постійний, типовий для нього набір хромосом. Сукупність кількості, величини й морфології хромосом, що властива соматичним клітинам даної систематичної групи організмів, називається **каріотипом**.

Найважливішою ознакою, яка визначає специфіку каріотипів, є кількість хромосом. У соматичних клітинах вона вдвоє більша порівняно із статевими клітинами. Подвійна кількість хромосом соматичних клітин дістала назву *диплоїдного набору* ($2n$), а половинна кількість хромосом дозрілих статевих клітин - *гаплоїдного набору* (n). У диплоїдному наборі хромосоми парні, тобто

гомологічні, тому, що половина з них походить від материнського, а половина від батьківського організму.

Кількість хромосом у різних об'єктів значно коливається, але характерна для кожного виду тварин або рослин. Навіть у близьких видів хромосомні набори відрізняються один від іншого або по кількості хромосом, або по величині хоча б однієї або декількох хромосом, або за формою хромосом і по їхній структурі.

Таблиця 1

Диплоїдна кількість хромосом у різних видів організмів.

Об'єкт	К-ть хромосом	Об'єкт	К-ть хромосом	Об'єкт	К-ть хромосом
Тварини					
Аскарида	2,4	Коза домашня	60	Планарія біла	16
Бджола	16, 32	Комар-пискун	6	Равлик садовий	24, 48
Білан капустяний	30	Коник	18	Ропуха	22
Вепр	40	Корова	60	Сазан	104
Вівця	54	Кріль	44	Саламандра	24
Воша головна	12	Курка	78	Сарана мандрівна	23
Гідра прісноводна	32	Лисиця	38	Свиня свійська	40
Голуб	80	Людина	46	Собака домашній	78
Дрозофіла	8	Миша хатня	40	Таракан	48
Жаба зелена	26	Мотиль	6	Тритон	24
Індик	82	Муха кімнатна	12	Хом'як золотистий	44
Качка	80	Окунь	28	Черв'як дощовий	36
Квакша	24	Осел	66	Шимпанзе	48
Кінь	66	Пацюк сірий	42	Шовкопряд шовковичний	28, 56

Кішка домашня	38	Плазмодій малярійний	2	Ящірка прудка	38
Рослини					
Абрикос звичайний	16	Капуста городня	18	Свиріпа	18
Агрис	16	Картопля	48	Скереда покрівельна	8
Акація біла	20	Квасоля звичайна	22	Ріпак	38
Алича	16	Конвалія	32	Слива садова	48
Арабідопсис	10	Конюшина лугова	14	Смородина	16
Береза бородавчаста	28 (42)	Кукурудза	20	Соняшник звичайний	34
Бук звичайний	22	Люцерна посівна	16 (32)	Сосна	24
Верба козяча	38	Льон звичайний	30	Суниці лісові	14
Виноград справжній	38 (57,76)	Мак снотворний	20	Суниці садові	56
Вишня садова	32	Малина звичайна	14, 21, 28	Томат	24
Вільха клейка	28, 56	Модрина	24	Тополя чорна	38, 57
Гаплопапус	4	Морква городня	18	Традесканція	24
Гарбуз	40 (48)	Овес посівний	42	Тютюн, махорка	48 (72,96)
Горіх волоський	32	Огірок	14	Хміль виткий	20
Горобина звичайна	34, 51, 68	Перець	48	Хрін	28, 32
Горох посівний	14	Персик	16	Цибуля городня	16
Грицики звичайні	16(32)	Пирій повзучий	42	Цикорій	18

Груша	34	Просо	36 (40,42)	Черешня	16
Диня	24	Пшениця однозернянка	14	Шовковиця біла	28
Дуб звичайний	24	Пшениця тверда	28	Яблуня лісова	34
Дурман звичайний	24	Пшениця м'яка	42	Ялина	24
Жито	14	Редька	18	Ясен звичайний	46
Кавун	14	Рис	24 (48)	Ячмінь	14

При описанні каріотипу на рівні з кількістю хромосом велике значення має їх морфологія. Морфологію мітотичних хромосом краще вивчати в момент їх найбільшої конденсації, в метафазі і на початку анафази. Хромосоми тварин і рослин у цьому стані являють собою паличкоподібні структури різної довжини з досить постійною товщиною.

У більшості частини хромосом вдається легко знайти зону *первинної перетяжки*, що ділить хромосому на два *плеча* (див. рис. 1.). В області первинної перетяжки перебуває *центромера*, де розташований *кінетохор*; до нього підходять пучки мікротрубочок мітотичного веретена, що йдуть у напрямку до центріолей. Ці пучки мікротрубочок беруть участь у русі хромосом до полюсів клітини при мітозі.

Деякі хромосоми мають *вторинну перетяжку*. Остання звичайно розташована поблизу дистального кінця хромосоми й відокремлює маленьку ділянку - *супутник*. Вторинні перетяжки називають, крім того, *ядерцевими організаторами*, тому що саме на цих ділянках хромосом в інтерфазі відбувається утворення ядерця. Тут же локалізована ДНК, відповідальна за синтез рРНК. Плечі хромосом кінчаються ділянками - *теломерами*. Теломерні кінці хромосом не здатні з'єднуватися з іншими хромосомами або їхніми фрагментами.

Розміри хромосом у різних організмів варіюють у широких межах. Так, довжина хромосом може коливатися від 0,2 до 50 мкм, а діаметр - від 0,2 до 2 мк.

Крім звичайних, метафазних, хромосом є й так звані *гігантські*, або *політенні*, хромосоми. Вони зустрічаються в слинних залозах личинок деяких комах, зокрема хірономуса і дрозофіли. Ці хромосоми мають свої морфологічні особливості. Їх численні хромонери, яких налічують понад 1000, перебувають у стані спіралізації, що нерівномірна по осі хромосоми. У результаті щільнішої локальної спіралізації або наявності гранул у певних

ділянках на хромосомах помітні диски – потовщення. Гігантські хромосоми мають 100-250 мк завдовжки і 15-25 мк завширшки. Товщина цих хромосом є такою великою через те, що вони утворені двома гомологічними хромосомами, які знаходяться в кон'югованому стані.

Хромосоми, як носії генів, є матеріальною основою спадковості організмів, тому вивчення їх у генетиці має велике значення. Для вивчення морфології хромосом і підрахунку їх з навчальною метою, слід брати рослини та тварини з найменшим числом хромосом, такі, як скереда волосовидна (*Crepis capillaris* (L.) Wallr., $2n=6$), скереда покрівельна (*C. tectorum* L., $2n=8$), цибуля (*Allium cepa* L., $2n=16$), кормові боби (*Vicia faba* L., $2n=12$), ячмінь посівний (*Hordeum sativum* Lessen., $2n=14$), мушка плодова (*Drosophila melanogaster* L., $2n=8$), аскарида кінська (*Ascaris megalocephala*, $2n=2$, $2n=4$) тощо.

Хід роботи

1. Спочатку взяти постійні препарати клітин кінської аскариди та меристематичного зрізу корінця цибулі.

2. Розглянути по черзі препарати при малому, а потім великому збільшенні мікроскопа і знайти ті зрізи, на яких чітко видно хромосоми в метафазі.

3. Підрахувати кількість хромосом у каріотипі обох видів. Для цього поставити під імерсію одну з відібраних клітин (збільшення 15×90), розглянути в певному порядку одну хромосому за одною, замалювати їх контури. Особливо уважно слід розглянути місця зіткнення хромосом і якомога точніше визначити межі кожної з них.

4. Позначити на рисунку олівцем кожному хромосому порядковим номером.

Для вивчення морфології і підрахунку кількості хромосом на *тимчасових препаратах* виконати наступні дії:

1. Корінець ячменю чи цибулі, що впродовж 2-3 діб перебував у ацетоорсеїні помістити на предметне скло і лезом бритви відрізати його меристематичний кінчик завдовжки 1,5-2 мм, а решту корінця видалити.

2. Капнути на зріз краплю 45%-ної оцтової кислоти і кілька разів провести над полум'ям спиртівки. При цьому крапля зафарбується надлишком орсеїну, що виділиться з корінця.

3. Увібрати орсеїн шматочком фільтрувального паперу, замінивши його на оцтову кислоту.

4. Накрити покривним скельцем, шматочком фільтрувального паперу ввібрати надлишок оцтової кислоти і, притримуючи скельце пінцетом, дерев'яною ручкою препарувальної голки зробити по ньому колові рухи. При цьому зріз роздавлюється, на фоні скла залишається рожева пляма від корінця.

5. При великому збільшенні мікроскопа відібрати непошкоджені метафазні пластинки.

6. Перевести мікроскоп на імерсійний об'єктив і ретельно зарисувати кожну хромосому таким самим способом, як і з постійного препарату. Підрахувати кількість хромосом.

Порівняти число хромосом, їх розміри в різних досліджуваних об'єктах. Переконалися, що кожний вид має свій типовий набір хромосом.

Зробити висновки щодо морфологічних особливостей хромосомного набору, а також про морфологічну постійність хромосом у межах одного виду.

Познайомитися з гігантськими хромосомами на виготовлених тимчасових або постійних препаратах із слинних залоз личинок дрозофіли чи хірономуса. Розглянути їх морфологію і зробити висновки.

Запитання для самоконтролю

1. На якій стадії мітозу зручно вивчати форму й розмір хромосом?
2. Перелічіть, якої форми можуть бути хромосоми.
3. Що таке диплоїдний набір хромосом і чим він відрізняється від гаплоїдного?
4. Що означають терміни: хроматида, центромера, кінетохор, супутник?
5. Що називається каріотипом? Чим відрізняються каріотипи різних видів?
6. Що таке ідіограма хромосом?

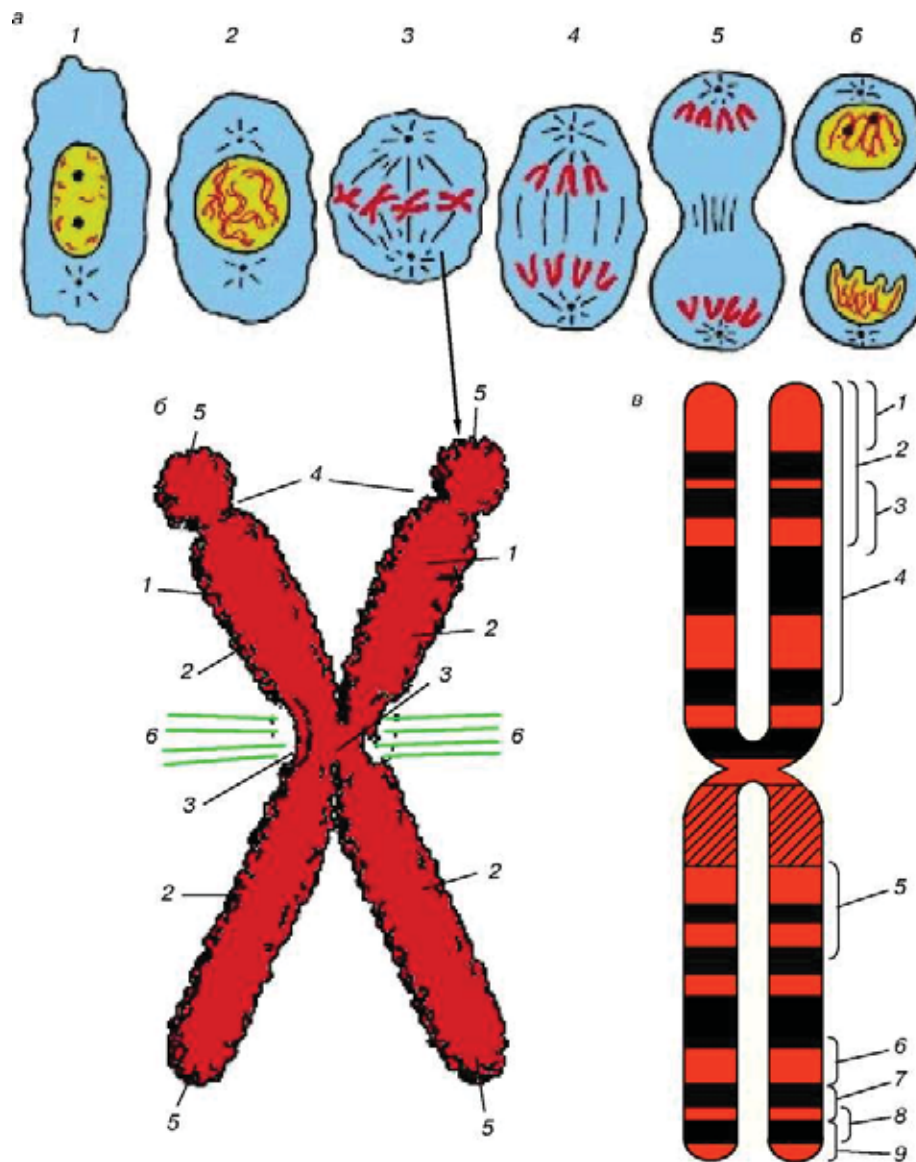


Рис 1. Морфологія мітотичних хромосом. **а.** Фази мітозу: 1 - інтерфаза, 2 - профаза, 3 - метафаза, 4 - анафаза, 5,6- телофаза. **б.** Одна із метафазних хромосом. 1 -Сестринські хромосоми (хроматиди); 2-плечі хромосом; 3 - центромера, первинна перетяжка; 4-вторинна перетяжка, ядерцевий організатор; 5-теломера; 6-пучки мікротрубочок. **в.** Хромосома людини при диференційному зафарбуванні: в сегментах ("бендах") локалізовані певні гени.

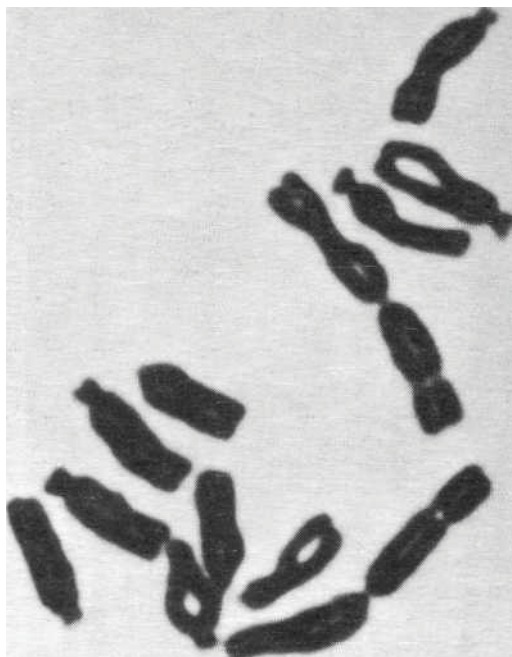


Рис. 2. Метафаза в клітинах кінчика корінця кінських бобів (*Vicia faba*), оброблених колхіцином. Видно центромери, а також вторинні перетяжки на двох довгих хромосомах.



Рис. 3. Політенні хромосоми *Drosophila melanogaster*. Кожна батьківська хромосома зкон'югована зі своїм гомологом (соматичний синапсис). Є райони де дві хромосоми лежать окремо (асинапсис). Всі хромосоми зв'язані центромерними районами в спільний хромоцентр. Знизу зліва мітотичні хромосоми із клітин яєчників при тому ж збільшенні ($2n=8$).

Лабораторна робота №13

Тема: Цитологічні основи безстатевого розмноження. Мітоз

Мета: Ознайомитись із процесом непрямого поділу клітини. Впевнитись, що мітоз забезпечує стійке зберігання властивостей організму в ряду поколінь.

Оволодіти методикою і набути навичок у виготовленні і вивченні давлених тимчасових препаратів корінців рослин.

Робота №1: Виготовлення тимчасових препаратів коренів цибулі чи ячменю.

Матеріали та обладнання: фіксовані, попередньо забарвлені корені цибулі чи ячменю, постійні препарати мітозу в кінчиках корінців цибулі, мікроскопи, предметні і накривні скельця, леза, крапельниці з 45% оцтовою кислотою, препарувальні голки, фільтрувальний папір.

Реактиви: ацетокармін, ацетоорсеїн або метиленовий синій (із розрахунку 100-150 мг фарбника на 100 мл дистильованої води), 45% оцтова кислота.

Основні теоретичні відомості та методичні поради

В основі безстатевого та вегетативного розмноження організмів лежить поділ клітини. Найбільш універсальним способом поділу клітини є мітоз, який складається з каріокінезу (поділу ядра) і цитокінезу (поділу цитоплазми). У період між поділами клітина знаходиться в стадії інтерфази.

Мітоз (каріокінез, непрямий поділ ядра) - складний поділ ядра, що забезпечує тотожній розподіл генетичного матеріалу між дочірніми клітинами; спадкоємність хромосом у ряду клітинних поколінь. Мітоз являє собою універсальний спосіб розмноження клітин з диференційованим ядром. За морфологією мітотичних процесів, які спостерігаються на цитологічних препаратах, розрізняють чотири морфологічні стадії мітозу: профазу, метафазу, анафазу і телофазу (рис. 4-5).

У профазі хромосоми видно спочатку у вигляді довгих тонких, але вже спіралізованих ниток. Потім вони стають компактними, короткими і потовщеними. Кожна хромосома складається з двох половинок - хроматид. У кінці профазу ядрце зникає, утворюється веретено поділу, руйнується ядерна оболонка.

У метафазі всі хромосоми розміщуються в екваторіальній площині клітини. Центромери хромосом при цьому розміщуються суворо в одній площині і

точно посередині веретена поділу. На цій фазі нитки веретена дуже витягуються; частина з них тягнеться безперервно від одного полюсу до іншого, а друга частина прикріплюється до центромер хромосом (по одній нитці від кожного полюсу).

Анафаза починається поділом центромер і повним розривом зв'язку між хроматидами. Далі нитки веретена вкорочуються і відтягуються хроматида, що стали тепер самостійними хромосомами, до полюсів клітини. При цьому з кожної пари сестринських хромосом одна відходить до одного полюсу, а друга до іншого. Так відбувається точний розподіл генетичного матеріалу, і на кожному полюсі виявляється така сама кількість хромосом, яка була в клітині до

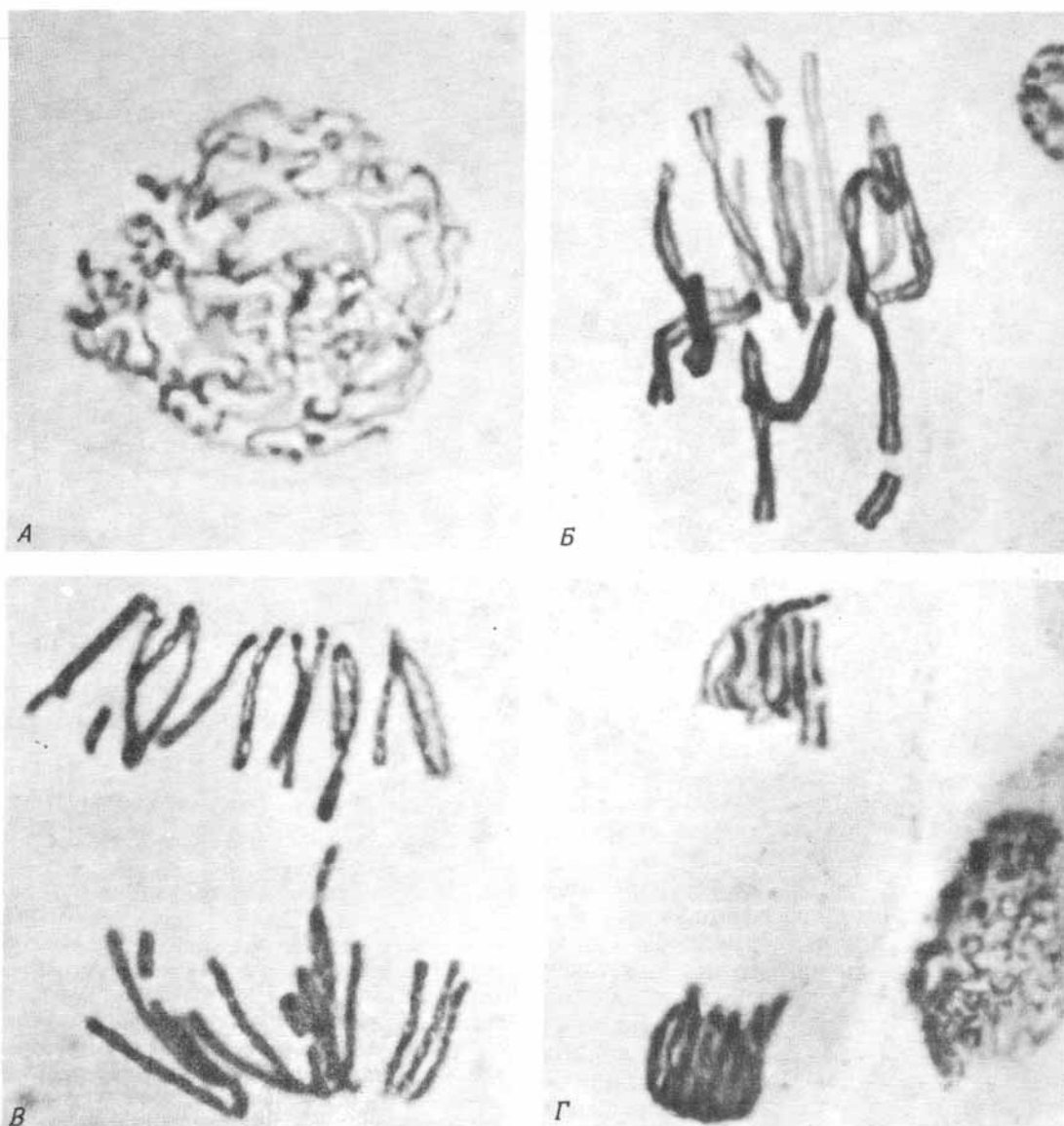


Рис. 4. Стадії мітозу в клітинах кінчика корінця бобів *Vicia faba*. А. Профаза. Б. Метафаза. В. Анафаза. Г. Телофаза.

їх подвоєння.

У телофазі хромосоми втрачають чіткість, тому, що вони деспіралізуються і стають менш щільними. Мітотичне веретено руйнується, знову відновлюється ядерна оболонка і з'являються ядрця. Після поділу ядра (каріокінезу) ділиться цитоплазма (цитокінез). Таким чином, в результаті мітозу з однієї клітини утворюється дві дочірні з однаковим числом хромосом і однаковою кількістю ДНК.

Усвідомлене уявлення про суть мітозу можна отримати, коли на лабораторному занятті простежити за структурними перетвореннями хромосом у мітотичному циклі. Фази мітозу найкраще вивчати на постійних препаратах повздовжніх зрізів корінців цибулі чи інших рослин. Але також

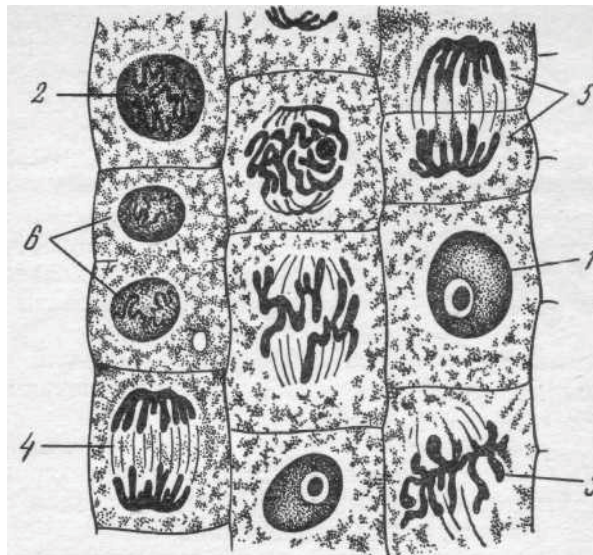


Рис. 5. Стадії мітозу в клітинах кінчиків корінців цибулі (*Allium sera*).

1- інтерфаза; 2- профазя; 3- метафаза; 4- анафаза; 5- телофаза.

можна приготувати ацетокармінові (ацетоорсеїнові) препарати фаз мітозу.

Методику виготовлення тимчасових давлених препаратів наведено у практикумі (Паушева З.П. Практикум по цитології рослин. М.: Агропромиздат, 1988.- 271 с.).

Матеріали для виготовлення давлених препаратів готують заздалегідь. Цибулини пророщують у воді при кімнатній температурі 22-24°C, насіння ячменю - у чашках Петрі на фільтрувальному папері. На 2-3-й день, коли корінці досягнуть 1-1,5 см, їх кінчики відрізають і поміщають у холодильник чи холодну воду (замість колхіцинування) на 4-12 годин. При наявності колхіцину корінці краще обробити його слабким розчином. Ця дія вкорочує хромосоми і полегшує їх

розгляд. З холодильника корінці переносять в оцтовий алкоголь (3:1) на 2,5-3 години. Після цього фіксований матеріал промивають у двох порціях 70%-ного спирту по 30 хв., а в третій порції 70%-ного спирту залишають на зберігання (бажано за температури +4°C).

Хід роботи

1. Провести забарвлення корінців. Налити в тигель ацетокармін і помістити в нього фіксовані корінці цибулі чи ячменю. Тигель підігріти на спиртівці, періодично відводячи, до утворення пухирців понад краями (приблизно 6 хв.). Після підігрівання поставити тигель у штатив на 30-40 хв. (можна залишити і на довше).

Забарвлювати корінці можна також шляхом внесення фіксованих коренів в ацетоорсеїн за 3 доби до виготовлення препаратів.

2. Лезом бритви відрізати меристематичний кінчик корінця завдовжки 1,5-2 мм, а решту видалити. Нанести на предметне скло 1 краплю 45%-ної оцтової кислоти і у цю краплю помістити корінець.

3. Якщо це був корінець, який фарбувався ацеторосеїном, то його обережно нагрівають на спиртівці для мацерації тканини і видалення надлишку фарбника, проносячи кілька разів над полум'ям спиртівки (не повинно кипіти!). При цьому додають після випаровування ще 1 краплю 45%-ної оцтової кислоти.

3. Накрити покривним скельцем, зверху покласти шматочок фільтрувального паперу (щоб ввібрати надлишок оцтової кислоти) і притримуючи папір, дерев'яною ручкою препарувальної голки зробити по ньому колові рухи. При цьому зріз роздавлюється, на фоні скла залишається рожева пляма від корінця.

4. На препараті знайти і замалювати всі фази мітозу. При дослідженні з імерсією (об. 90^x) видно зруйновану меристематичну тканину, клітини якої мають видовжену чотирикутну форму. Більшість клітин перебувають в інтерфазі. Ядра їх великі, зернисті, забарвленим виявляється не все ядро, а тільки хроматинові нитки і ядерця. Поряд з інтерфазними є клітини, що перебувають у різних фазах мітозу.

5. Після вивчення мітозу на давлених препаратах розглянути постійні препарати з більш чітким зображенням хромосом.

6. Розгляньте клітини на всіх фазах мітозу і дайте відповідь на такі запитання:

а) Як відрізнити клітину під час мітозу від клітини в інтерфазі?

б) У якій фазі мітозу спіралізовані хромосоми безладно розташовані в центральній зоні клітини?

в) Чим відрізняються одна від одної клітини в профази і прометафази?

г) В яких фазах мітозу хромосоми однохроматидні, а в яких двохроматидні ?

д) В якій фазі мітозу хромосоми розташовані в екваторіальній площині клітини?

є) В якій фазі мітозу всі хромосоми розташовані біля полюсів клітини, але ще зберігають свої контури?

Запитання для самоконтролю

1. Назвіть відомі способи поділу клітини. Який тип поділу найбільш поширений?

2. Назвіть всі фази мітозу. Чим характеризується кожна фаза?

3. На яких фазах мітозу хромосоми добре видно?

4. Які дві стадії мітозу взаємно протилежні по процесах, що протікають у них?

5. Опишіть функції веретена поділу.

6. Що означають терміни: хроматида, центромера, centrosома, інтерфаза?

7. Чому в результаті мітозу виникають дочірні клітини з ідентичними наборами хромосом?

8. Як підтримується постійна кількість ДНК і постійне число хромосом у всіх клітинах тіла?

9. У чому полягає генетичне значення мітозу?

10. Що таке клітинний цикл?

Задачі та вправи

1. Нерідко зустрічаються соматичні клітини, число хромосом яких відрізняється від числа хромосом більшості інших соматичних клітин. У людини, наприклад, деякі клітини печінки містять по 92 хромосоми. Як виникають такі клітини?

2. Назвіть періоди мітотичного циклу, під час яких клітини організму людини мають 92 молекули ДНК.

3. Клітина, що проходила мітотичний цикл, під час синтетичного періоду опинилася в несприятливих умовах. Ця клітина мала 20 хромосом, але одна з її молекул ДНК не зазнала реплікації. Незважаючи на це, відбувся мітотичний поділ цієї клітини. Скільки хромосом одержали дочірні клітини?

4. Клітина, каріотип якої складався з 20 хромосом, нормально пройшла інтерфаза, але в процесі мітотичного поділу одна з ниток мітотичного веретена не утворилася. Скільки хромосом одержали дочірні клітини?

5. Вкажіть загальні ознаки синтетичного і пресинтетичного періодів мітотичного циклу:

- а. Є обов'язковим етапом мітотичного циклу.
- б. Відбувається реплікація ДНК.
- в. Відбувається подвоєння хромосом.
- г. Повинні працювати всі гени клітини.
- д. Клітина має диплоїдну кількість хромосом.

6. Вкажіть рису пресинтетичного періоду, властиву й синтетичному періоду мітотичного циклу:

- а. Клітини мають диплоїдну кількість хромосом.
- б. Вміст ДНК не змінюється.
- в. Об'єм цитоплазми суттєво збільшується.
- г. Функція генів полягає в транскрипції.

7. Однояйцеві близнюки утворюються внаслідок розходження еластомерів (клітин з яких складається зародок на початку ембріонального розвитку). Основу поділу зиготи й бластомерів становить мітотичний цикл. Чи можна вважати однояйцевих близнюків (ОБ) генетично ідентичними? Виберіть для відповіді один з варіантів:

а. Так, бо мітотичний цикл забезпечує ідентичність бластомерів і всіх клітин, що утворюються.

б. Ні, бо кожна людина має унікальний, властивий лише їй генотип.

8. У клітині А в пресинтетичному періоді виник мутантний ген. У клітині Б мутантний ген виник у постсинтетичному періоді. В обох клітинах відбувся нормальний мітоз. Скільки дочірніх клітин одержало мутантні гени?

9. Під час ненормального мітозу в культурі тканини людини в клітині з 46 хромосомами дочірні хромосоми однієї з коротких хромосом (№ 21) не розійшлися в дочірні ядра, а потрапили в одне ядро. Це явище називається нерозходженням хромосом. Скільки хромосом стало в ядрах після такого поділу?

Лабораторна робота №3

Тема: Цитологічні основи статевого розмноження. Мейоз

Мета: Ознайомитись з особливостями редукційного та екваційного поділів мейозу. Впевнитись, що мейоз забезпечує утворення з однієї клітини чотирьох, які мають удвічі менше хромосом, ніж вихідна клітина. Сформувати поняття про мінливість — як властивість живих організмів (ознак) змінюватись у певних межах. Впевнитись, що незалежний характер поведінки негомологічних хромосом в мейозі та обмін ділянками між гомологічними хромосомами веде до утворення клітин із неідентичними наборами хромосом. Оволодіти методикою виготовлення ацетокармінових препаратів із молодих пиляків рослин.

Робота №1. Вивчення мейозу у пиляках різних рослин

Матеріали і обладнання: молоді бутони рослин (свіжі або фіксовані), постійні препарати мейозу, мікроскопи, біокулярні лупи, чашки Петрі, ацетокармін, спиртівки, предметні і накривні стекла, пінцети, препарувальні голки, леза бритви, фільтрувальний папір.

Основні теоретичні відомості та методичні поради

Мейоз - складний тип поділу клітин, що забезпечує перекомбінацію генетичного матеріалу та зменшення (редукцію) числа хромосом удвічі, властивий усім рослинним і тваринним організмам із статевим розмноженням.

Мейоз відбувається лише в певні періоди життя рослин і тварин. У тварин він проходить при утворенні статевих клітин (гамет), а у квіткових рослин при утворенні пилкових зерен і зародкових мішків. У результаті мейозу гамети набувають гаплоїдного набору хромосом і містять перекомбіновану генетичну інформацію.

При статевому розмноженні в процесі запліднення гамети зливаються і утворюють зиготу з диплоїдним набором хромосом. Отже, статеве розмноження веде до подвоєння числа хромосом у клітинах, а мейоз зменшує їх удвічі. Завдяки цьому зберігається постійне число хромосом у поколіннях для кожного виду.

При мейозі відбуваються два поділи ядра, які проходять швидко, один за одним. **Перший поділ редукційний**, в результаті його утворюються клітини, що містять у два рази менше хромосом, ніж було у вихідній материнській клітині. Другий поділ – **екваційний** - відбувається по типу мітозу. В кожному поділі розрізняють профазу, метафазу, анафазу і телофазу (рис. 6).

Профаза I тривала і складна; вона складається з ряду послідовних стадій. На початку цієї фази, на стадії **лептонеми**, хромосоми з'являються в подвійній кількості (диплоїдному наборі) у вигляді довгих, тонких ниток. Далі, на стадії **зигонеми** гомологічні хромосоми, з яких одна одержана від батька, а друга - від матері, наближаються, кон'югують, утворюють одну подвійну нитку - **бівалент**. Наступна стадія, **пахінема** - стадія товстих ниток. Одержала цю назву через те, що після попарної кон'югації хромосом вони стали товстішими, правда число цих потовщених хромосом рівне гаплоїдному набору. На цій стадії відбувається надзвичайно важлива подія

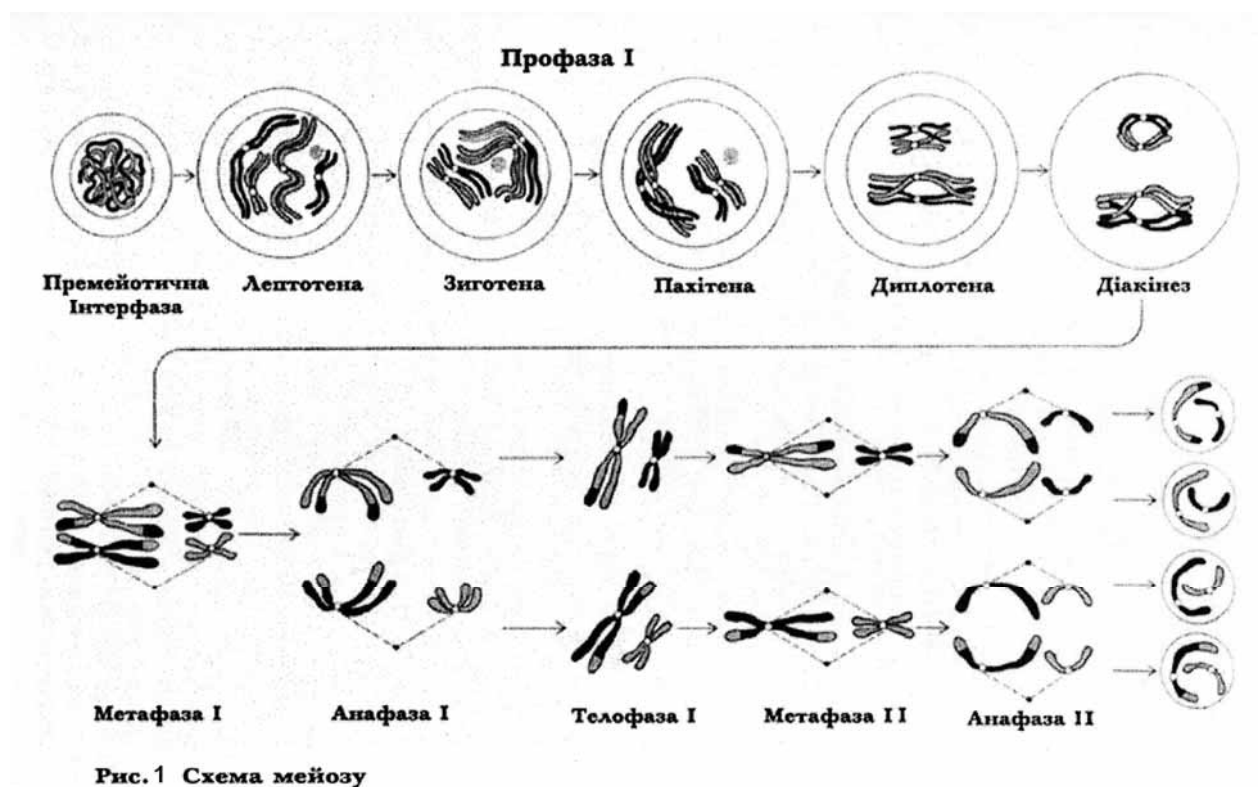


Рис. 6. Схема мейозу

мейозу - **кросинговер** - обмін гомологічними ділянками гомологічних хромосом, і в результаті цього процесу здійснюється рекомбінація генетичного матеріалу. На стадії **диплонеми** хромосоми роз'єднуються і тільки в деяких точках залишаються з'єднаними між собою (точки зв'язку називаються **хіазмами**). В цей час стає помітним, що кожна з хромосом складається з двох хроматид, а кожний бівалент - з чотирьох ниток. Профаза I закінчується **діакінезом**; під час цієї стадії біваленти вкорочуються, потовщуються, хіази залишаються лише на кінцях хромосом. Ядерна оболонка руйнується.

В метафазі I біваленти розміщуються в екваторіальній площині веретена і нитки веретена поділу прикріплюються до центромер гомологічних хромосом.

В анафазі I відбувається розходження гомологічних хромосом до полюсів. При мітозі до полюсів розходилися сестринські хроматиди. Особливо слід відзначити, що розходяться гомологи цілком випадково, тому це приводить до перекомбінації хромосом із різних гомологічних пар.

У телофазі I утворюються дочірні ядра, кожне з яких одержує лише по одній хромосомі від кожного бівалента, тобто лише половину тієї кількості хромосом, що була в клітині під час про- і метафази.

Між двома мейотичними поділами настає інтеркінез. Тривалість інтеркінезу може бути різною, найчастіше він триває недовго, і ядра дуже швидко починають ділитися.

Другий поділ мейозу відбувається за типом мітозу (рис. 6). Так, з кожної клітини, що вступає до мейозу, після двох послідовних поділів утворюється чотири клітини з половинним числом хромосом. Завдяки кросинговеру на стадії пахінеми та випадковому розходженню їх в анафазі I, утворені клітини не ідентичні одна одній.

Практично вивчати мейоз зручніше на постійних препаратах повздовжніх зрізів пиляків рослин, зафіксованих під час мікроспорогенезу. Проте, основні фази мейотичного поділу клітин добре видно і на тимчасових препаратах. Найкращими об'єктами для цієї мети є представники родини Лілійних: різні види лілій, лілійник тощо. Крім лілійних, мейоз добре досліджувати на злакових сільськогосподарських рослинах, фертильних сортах картоплі. Фази поділу материнських клітин розглядають на дуже молодих пиляках рослин. Так, якщо дозрілі бутони лілії або лілійника мають довжину 8-10 см, то фази мейозу можна бачити лише в бутонах, які ледве досягли 3-5 мм. Під час цвітіння рослин тимчасові препарати готують безпосередньо з живого матеріалу, а взимку - з фіксованого, приготовленого заздалегідь. З цією метою влітку зрізають бутони і вміщують їх в оцтовий алкоголь (3:1), або фіксатор Н'юкамера на 24 год. Після цього бутони промивають у двох (96% і 70%-ний) спиртах по 30-40 хв., у третьому 70%-ному спирті залишають на зберігання.

Хід роботи

1. Для того, щоб знайти і розглянути всі стадії мейозу, необхідно кілька бутонів покласти в чашку Петрі з кришечкою в 70%-ний спирт і розмістити за зростаючою величиною.

2. За допомогою препарувальної голки та пінцету взяти один найменший бутон, вичленити з нього пиляк і перенести в краплю ацетокарміну на предметне скло.

3. Під біноккулярною лупою (або неозброєним оком) розглянути пиляк, розрізати його навпіл, і притримуючи голкою видавити другою голкою його вміст.

4. Додати на скло ще краплю ацетокарміну і підігрівати препарат близько 3 хв., проносячи кілька разів над полум'ям спиртівки (не повинно кипіти!).

5. Фільтрувальним папером ввібрати краї великої ацетокармінової краплі. Усі тканини покривів пиляка також забрати. Накрити препарат накривним склом і розподілити клітини в один шар, придавлюючи накривне скло.

6. Розглянути препарат спочатку при малому збільшенні, а потім перевести мікроскоп на збільшення з імерсією. На препараті, виготовленому з наймолодшого пиляка, видно материнські клітини пилку до поділу. Найінтенсивніше забарвлені хромосомні нитки і ядерця.

7. Виготовити препарати з більших пиляків, знайти на них і зарисувати всі фази першого і другого мейотичного поділів.

8. Для розгляду тетрад виготовити окремо препарат з пиляка ще більшого розміру.

9. Після того, як розглянули фази мейозу на тимчасових препаратах, розглянути постійні препарати мікроспорогенезу рослин, знайти на них профазу I та окремі її стадії і зарисувати. Зверніться до рис. 7, який допоможе краще зрозуміти побачене на мікропрепаратах.

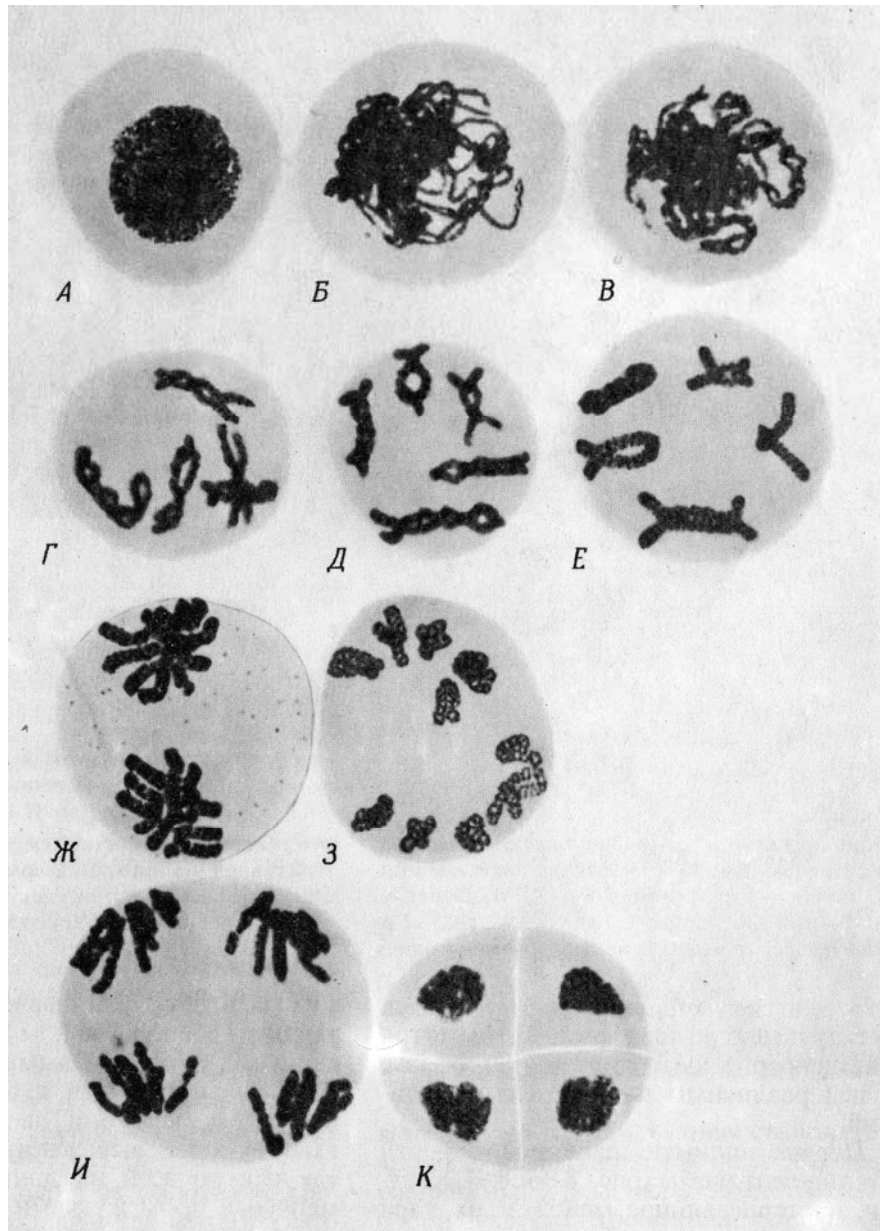


Рис. 7. Стадії мейозу в мікроспороцитах лілії. А. Зигонема. Б. Пахінема. В. Рання диплонема. Г. Пізня диплонема. Д. Діакінез. Е. Метафаза I. Ж. Пізня метафаза I. З. Метафаза II. И. Анафаза II. К. Стадія чотирьох мікроспор

10. Роздивіться рис. 7 і мікрофотографії клітини на всіх фазах мейозу; дайте відповідь на наступні запитання:

- а) Що таке біваленти?
- б) На якому етапі мейозу утворюються біваленти?
- в) На якому етапі мейозу відбувається розходження гомологічних хромосом?

г) На якому етапі мейозу в екваторіальній площині клітини розташована гаплоїдна кількість двохроматидних хромосом?

д) На якому етапі мейозу відбувається розходження однохроматидних хромосом?

є) Вкажіть на властиві мейозу процеси, в яких беруть участь хромосоми під час профазі I.

Запитання для самоконтролю

1. У чому полягає біологічне значення мейозу?
2. Чим відрізняється мейоз від мітозу? Відповідь обґрунтуйте.
3. Як підтримується постійне число хромосом і постійна кількість ДНК кожного виду в поколіннях?
4. Назвіть фази першого та другого поділу мейозу. Чим характеризується кожна фаза?
5. Назвіть стадії профазі I, охарактеризуйте кожну з них.
6. Що таке біваленти? Яке значення має утворення бівалентів?

Задачі та вправи

1. У жінки в процесі овогенезу в мейозі мало місце нерозходження однієї пари гомологічних хромосом. Скільки хромосом буде мати в цьому випадку зріла яйцеклітина? Скільки сперматозоїдів і з яким числом хромосом утворюється із одного сперматогонію, який мав 46 хромосом?

2. Скільки яйцеклітин утворить 4000 овогоніїв в процесі овогенезу?

3. Скільки яйцеклітин можуть дати 6000 овоцитів першого порядку в овогенезі?

4. В клітинах корінця рису міститься по 24 хромосоми. Скільки хромосом містить:

а) материнська клітина пилку;

б) мікроспори;

в) зародок;

г) яйцеклітина;

д) полярне ядро;

є) мегаспора;

є) ядро пилкової трубки;

ж) ендосперм;

з) генеративне ядро;

і) материнська клітина мегаспори?

5. В потомстві яких організмів слід чекати більшого генетичного різноманіття: які розмножуються вегетативним чи статевим шляхом? Чому?

6. Чи однакові набори хромосом мають яйцеклітини, якщо одна належить жінці монголоїдної раси, а друга - жінці негроїдної раси?

7. В овоциті першого порядку виник один мутантний ген. Вкажіть максимальну кількість яйцеклітин, які можуть його одержати.

Лабораторна робота №4

Тема: Молекулярні основи спадковості

Мета: Сформувати поняття про молекулярні механізми кодування, збереження, передачі та реалізації генетичної інформації. З'ясувати роль і місце нуклеїнових кислот у вказаних процесах. Познайомитися із реакціями, що дозволяють встановити наявність і локалізацію нуклеїнових кислот в клітині. Закріпити теоретичні знання шляхом розв'язування задач.

Основні теоретичні відомості та методичні поради

Носієм спадкової інформації є дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК), що входить до хімічного складу хромосом. Полімерна молекула ДНК складається з мономерних одиниць—дезоксирибонуклеотидів. У складі кожного нуклеотиду міститься азотиста основа (пуринова або піримідинова), цукор (дезоксирибоза) і залишок фосфорної кислоти. Азотистих основ у молекулі чотири: дві пуринові — аденін (А) і гуанін (Г) та дві піримідинові — тимін (Т) і цитозин (Ц).

До складу нуклеотидів РНК, крім рибози і залишку H_3PO_4 входить одна з чотирьох азотистих основ (А, Ц, Г, У), тобто РНК замість тиміну містить урацил.

Дуже часто у складі нуклеїнових кислот виявляються так звані мінорні азотисті основи, мінорні вуглеводи або мінорні нуклеозиди — дещо незвичайні та модифіковані компоненти нуклеотидів. Молекулярна вага кожного нуклеотиду дорівнює 345 а.о.м., а всієї молекули ДНК може досягати 4—8 млн. і більше.

Будова мономерних залишків, хімічна природа міжнуклеотидних ковалентних зв'язків і послідовність розташування мономерних ланок у полінуклеотидному ланцюгу входять у поняття **первинної структури** ДНК і РНК.

Просторова організація ДНК і РНК визначається їх нуклеотидними послідовностями через структури двох рівнів — вторинну і третинну. **Вторинна структура** (певний ступінь спіральності) створюється взаємодією в полінуклеотидному ланцюгу сусідніх нуклеотидів, а у випадку двоспіральних молекул (або здвоєного в просторі ланцюга однієї молекули) також взаємодією нуклеотидних залишків, що знаходяться один проти одного у подвійній спіралі. Першу модель вторинної структури ДНК в 1953 році збудували Дж. Уотсон і Ф. Крік, згідно з якою ця молекула являє собою праву спіраль, утворену двома полінуклеотидними ланцюгами, закрученими один на одного і навколо спільної

осі. Автори знайшли, що це правило виконується в тому випадку, якщо аденін (А) одного ланцюга утворює стабілізовану водневими зв'язками пару з тиміном (Т), а гуанін (Г) — з цитозином (Ц). Ці взаємодіючі пари (А - Т і Г - Ц) отримали назву комплементарних. Отже, в основі структури ДНК лежить принцип комплементарності (доповнюваності), тобто парного сполучення нуклеотидів: аденін завжди сполучається з тиміном, а гуанін — з цитозином. Якщо відомий порядок розміщення нуклеотидів у одному ланцюгу, то за цим принципом нуклеотиди розміщуються і в другому ланцюгу. Наприклад, на якійсь ділянці одного ланцюга порядок розміщення нуклеотидів такий: АЦГАТАГЦЦТГАТЦ; тоді на протилежній ділянці другого ланцюга розміщуються доповнювальні до них нуклеотиди ТГЦТАТЦГГАЦТАГ.

Крім подвійних спіралей, зустрічаються і одноланцюгові ДНК. Приклади — ДНК фагів φX174, М13 та ін

Переважає більшість РНК живих істот є одноланцюговими. Однак у деяких вірусів зустрічаються дволанцюгові РНК, які виконують роль носіїв генетичної інформації.

Третинна структура нуклеїнових кислот (форма молекул) виникає завдяки взаємодії нуклеотидних залишків, що належать різним фрагментам вторинної структури. Таку структуру ДНК можна спостерігати при розгляді лінійних і кільцевих молекул ДНК. Лінійна молекула в ядрах еукаріот упакована в компактну структуру і займає всього 1/5 об'єму клітини. Наприклад, довжина ДНК хромосоми людини може досягати 8 см, але компактизована так, що вміщується у хромосомі довжиною ≈ 10 мкм. Отже спіралізована молекула ДНК у подальшому може утворювати більш компактні структури, в тому числі кільцеву форму і суперспіраль.

Надспіралізація ДНК властива хромосомам вірусів, бактерій, еукаріотів. Молекули ДНК мітохондрій, хлоропластів, хромосом і плазмід бактерій, а також ДНК багатьох вірусів мають кільцеву форму, майже вільні від білків і надспіралізовані.

Молекулам ДНК *властива здатність до редуплікації* (самоподвоєння або ауторепродукції). Згідно із сьогоденними уявленнями редуплікація ДНК відбувається за напівконсервативним механізмом. Згідно з цим механізмом ланцюги молекули ДНК розкручуються, розходяться і біля кожного з них точно за принципом комплементарності будується новий ланцюг. Внаслідок цього виникає дві молекули ДНК, ідентичні вихідній. Ауторепродукція ДНК відбувається перед поділом клітини за участю ферменту ДНК-полімерази. Властивість дезоксирибонуклеїнової кислоти до самоподвоєння лежить в

основі передавання спадкових властивостей від материнських клітин до дочірніх.

Інша дуже важлива властивість ДНК полягає в тому, що *послідовність розміщення нуклеотидів у ній зумовлює генетичну інформацію*, яка втілюється в структурі білків-ферментів, що діють у живій клітині. Ферменти в свою чергу визначають синтез специфічних речовин, з якими пов'язані ознаки й властивості клітини.

ДНК не бере безпосередньої участі у синтезі білка-ферменту. Вона контролює утворення білків за допомогою рибонуклеїнової кислоти (РНК), що має один ланцюг нуклеотидів, до складу якого замість тиміну входить урацил і замість цукру дезоксирибози—рибоза. Відомо декілька видів РНК: інформаційна, або РНК-посередник (і-РНК, т-РНК — *messenger*), транспортна, або розчинна (т-РНК, s-РНК — *soluble*), рибосомальна (р-РНК), мала ядерна (мя-РНК) та інші. **Інформаційна РНК** синтезується на ДНК і є своєрідною копією її будови. Після процесингу (дозрівання) вона відокремлюється від ДНК (хромосоми) і виходить з ядра в цитоплазму, де разом з рибосомами утворює систему білкового синтезу. **Мала ядерна РНК** бере участь у сплайсингу – за її участю вирізаються нітрони під час процесингу РНК. **Транспортна РНК** міститься в цитоплазмі клітини і її функція полягає в доставці активованих форм амінокислот у вигляді аміноацил~тРНК до місця збірки поліпептидів, тобто до рибосом. **Рибосомні РНК** разом із специфічними білками входять до складу рибосом — субклітинних структур, яких іноді ще називають фабриками збірки білкових молекул. Білки різних організмів побудовані з 20 амінокислот:

1. Аланін (ала)	2. Аргінін (арг)
3. Аспарагін (асн)	4. Аспарагінова кислота (асп)
5. Валін (вал)	6. Гістидин (гіс)
7. Гліцин (глі)	8. Глутамін (глі)
9. Глутамінова кислота (глу)	10. Ізолейцин (ізо)
11. Лейцин (лей)	12. Лізин (ліз)
13. Метионін (мет)	14. Пролін (про)
15. Серин (сер)	16. Тирозин (тир)
17. Треонін (тре)	18. Триптофан (три)
19. Фенілаланін (фен)	20. Цистеїн (цис)

Різноманітність білків зумовлена різним співвідношенням і порядком розміщення амінокислот у полімерному ланцюгу. Порядок розміщення амінокислот у білковій молекулі визначається послідовністю розміщення нуклеотидів відповідного відрізка і-РНК, утвореній комплементарно до ДНК. Кожній амінокислоті відповідає ділянка з трьох нуклеотидів — **триплет (кодон)**. Так, триплет ГУЦ визначає положення в молекулі білка амінокислоти валіну; триплет ААА — лізину тощо. Установлено триплети для всіх 20 амінокислот (табл. 2).

Послідовність розміщення триплетів у і-РНК зумовлює відповідне розміщення амінокислот у молекулі білка.

Літерами УЦАГ у стовпці ліворуч і праворуч у рядку зверху позначено нуклеотиди. Перший нуклеотид у триплеті з лівого стовпця, другий — з верхнього рядка і третій — з правого стовпця відповідають амінокислоті, що знаходиться на перехрещенні всіх трьох нуклеотидів. У багатьох випадках та сама амінокислота кодується не одним триплетом, а кількома — двома, чотирма, шістьма.

У цих випадках перші два нуклеотиди таких триплетів однакові, а третій змінюється.

Із 64 триплетів 61 є значущим, тобто кодує амінокислоту. Два значущих кодони у складі інформаційної РНК — АУГ і ГУГ — називають ініціюючими, бо саме з них рибосома розпочинає синтез генного продукту, тобто поліпептиду. Три триплети у складі інформаційної РНК (*) — УАА, УАГ і УГА, — називають нонсенс-кодонами або беззмистовними, бо вони не кодує амінокислот. Ці кодони визначають закінчення синтезу поліпептидного ланцюга, отже несуть дуже важливе смислове навантаження. Тому більш коректно їх називати термінуєчими триплетами.

Таблиця 2

Амінокислоти і відповідні їм триплети і-РНК

1-й нуклеотид	2-й нуклеотид				3-й нуклеотид
	У	Ц	А	Г	
У	Фен	Сер	Тир	Цис	У
	Фен	Сер	Тир	Цис	Ц

	Лей	Сер	*	*	А
	Лей	Сер	*	Три	Г
Ц	Лей	Про	Гіс	Арг	У
	Лей	Про	Гіс	Арг	Ц
	Лей	Про	Глн	Арг	А
	Лей	Про	Глн	Арг	Г
А	Ізо	Тре	Асп	Сер	У
	Ізо	Тре	Асп	Сер	Ц
	Ізо	Тре	Ліз	Арг	А
	Мет	Тре	Ліз	Арг	Г
Г	Вал	Ала	Асп	Глі	У
	Вал	Ала	Асп	Глі	Ц
	Вал	Ала	Глу	Глі	А
	Вал	Ала	Глу	Глі	Г

Наявність і локалізацію нуклеїнових кислот у клітинах встановлюють гістохімічним методом — хімічними реакціями на ці речовини. Найточніша реакція на ДНК — це забарвлення клітин основним фуксином за Фьольгеном.

Як барвник для РНК використовують піронін з метиловим зеленим. Більшість основних барвників діє однаково на РНК і ДНК. Метиловий зелений і піронін забарвлюють вибірково: перший має спорідненість з ДНК і забарвлює її в зелений колір, а другий — з РНК і забарвлює її в червоний колір.

Робота 1. Виявлення ДНК у клітинах забарвленням за Фьольгеном

Матеріали та обладнання: фіксовані корінці цибулі, мікроскопи, водяна баня, предметні стекла і накривні скельця, 50%-ний спирт, дистильована вода, 1 н. розчин НС1, реактив Шиффа, сірчиста вода, 45%-на оцтова кислота, гліцерин.

Хід роботи

1. Фіксовані корінці цибулі вийняти з 70%-ного спирту і провести через такі розчини:

спирт 50%-ний (10-20 хв)

дистильована вода I (15-20 хв)

дистильована вода II (5-15 хв).

2. Матеріали піддати кислотному гідролізу:

1 н. HCl холодна — тільки занурити

1 н. HCl гаряча — 6—8 хв тримати на водяній бані за температури 60°C.

Обробка кислотою призводить до утворення альдегідних груп, пов'язаних із хромосомною ДНК і разом з тим спричиняє мацерацію тканини.

3. Помістити корінці в реактив Шиффа на 2,5 год.

4. Забарвлений матеріал провести через сірчисту воду:

сірчиста вода I (10 хв)

сірчиста вода II (10 хв)

сірчиста вода III (10 хв).

5. Промити препарат водою:

проточна вода (25 хв)

дистильована вода – сполоснути

6. Досліджуваний об'єкт перенести на предметне скло в краплю 45%-ної оцтової кислоти, покласти на нього накривне скельце і розмістити клітини в один шар. Можна після дистильованої води корінці помістити в 45%-ну оцтову кислоту на 30 хв, після чого роздавити їх на предметному склі в краплі гліцерину.

7. Виготовлений тимчасовий препарат розглянути під мікроскопом. Реактив Шиффа забарвлює ядра і хромосоми в червонувато-фіолетовий колір, що свідчить про наявність у них ДНК. Інтенсивність забарвлення ядер і хромосом у клітинах є непрямим показником кількісного вмісту ДНК.

Запитання для самоконтролю

1. Які структурні рівні характерні для нуклеїнових кислот?

2. В яких органелах еукаріотичних клітин присутні РНК, ДНК ?

3. Які існують види РНК?
4. Що таке трансляція та транскрипція?
5. Що таке кодон і антикодон?
6. Які властивості генетичного коду?
7. Назвіть основні етапи біосинтезу білка.
8. Яке біологічне значення того, що більшість амінокислот у кодї ДНК заковані не одним, а декількома триплетами?
9. Яка зміна молекули ДНК сильніше впливає на будову білка: випадання одного нуклеотида з триплету чи цілого триплету? Чому?

Робота 2. Розв'язування задач на молекулярні основи спадковості

Приклад 1. Скільки нуклеотидів містить ген, у якому запрограмований білок інсулін, що складається з 51 амінокислоти?

Розв'язок

Кожна амінокислота кодується трьома нуклеотидами (триплетом) ДНК. Отже, для кодування 51 амінокислоти білка буде потрібно $51 \times 3 = 153$ нуклеотида в одному ланцюзі ДНК, а в гені - у два рази більше: $153 \times 2 = 306$.

Відповідь. 306.

Приклад 2. Молекулярна маса білка $X = 50\,000$. Визначите довжину відповідного гена.

Розв'язок

1. Білок X складається з $50\,000 : 100 = 500$ амінокислот; 2. Один з ланцюгів гена, в якому закований білок X , повинен складатися з 500 триплетів, або $500 \times 3 = 1500$ нуклеотидів; 3. Довжина цього ланцюга ДНК $= 1500 \times 0,34 \text{ нм} = 510 \text{ нм}$; така ж довжина гена (двох ланцюгової ділянки ДНК).

Відповідь. 510 нм.

Приклад 3. Один з ланцюгів ДНК має молекулярну масу 34 155. Визначіть кількість мономерів білка, що закований у цій ДНК.

Розв'язок

1. $34\ 155 : 345$ (молекулярна маса одного нуклеотида) = 99 нуклеотидів міститься в ДНК; 2. $99 : 3 = 33$ триплети в ДНК кодують 33 амінокислоти (мономера) білка.

Відповідь. 33.

Приклад 4. Яка молекулярна маса гена, якщо в одному ланцюзі його закодований білок з молекулярною масою 1500?

Розв'язок

1. Визначаємо із скількох амінокислот складається білок: $1500 : 100$ (молекулярна маса однієї амінокислоти) = 15 амінокислот у білку; 2. Скільки нуклеотидів в одному ланцюзі гена $15 \times 3 = 45$ нуклеотидів в одному ланцюзі гена; 3. Яка молекулярна маса гена: 45×345 (молекулярна маса одного нуклеотиду) = 15 525 (молекулярна маса одного ланцюга гена), двох ланцюгів = $15\ 525 \times 2 = 31\ 050$.

Відповідь. 31 050.

Приклад 5. Молекула ДНК має таку послідовність нуклеотидів: АААЦЦТТГГГТТГТТГАГГ. Визначить послідовність амінокислот у білку, що нею кодується.

Розв'язок

1. Спочатку побудуємо ланцюжок і-РНК (за принципом комплементарності Г - Ц, А - У, Т - А).

ДНК: АААЦЦТТГГГТТГТТГАГГ

іРНК: УУУГГААЦЦЦАЦААЦУЦЦ

2. Користуючись генетичним кодом, знаходимо в таблиці триплетів генетичного коду (див. Табл. 2) відповідні триплетам амінокислоти: УУУ - фенілаланін - ГГА - гліцин - АЦЦ - треонін - ЦАЦ - гістидин - ААЦ - аспарагін - УЦЦ - серин.

Відповідь. Фенілаланін - гліцин - треонін - гістидин - аспарагін - серин.

Приклад 6. Якою послідовністю і-РНК кодується така послідовність амінокислот: цистеїн - триптофан - лейцин?

Розв'язок

1. Амінокислота цистеїн кодується 2 триплетами - УГЦ, УГУ (знаходимо в таблиці 2), триптофан - одним - УГГ, лейцин - двома - УУА й УУГ. Таким чином, загальна кількість варіантів дорівнює 4 ($2 \times 1 \times 2$): УГЦ-УГГ-УУА, УГЦ-УГГ-УУГ, УГУ-УГГ-УУА, УГУ-УГГ-УУГ.

Задачі і вправи

1. Визначте антикодони т-РНК, які беруть участь у синтезі білка, що кодується фрагментом ДНК: ГГТ-АЦГ-АТГ-ТЦА-АГА.
2. Білковий ланцюг складається з таких амінокислот: валін-лейцин гістидин-серин-ізолейцин. Яка послідовність нуклеотидів гена, що кодує цей білок?
3. Чому дорівнює довжина молекули ДНК, якщо в ній число тимідилових нуклеотидів 600 тис., а гуанілових - 2400 тис.?
4. Яка довжина гена, який кодує інсулін, якщо відомо, що до його складу входить 51 кислота?
5. Частина правого ланцюга ДНК має такий нуклеотидний склад АТГ-АЦЦ-ГАЦ-АЦГ-УАЦ... Визначте: а) порядок чергування нуклеотидів у лівому ланцюзі; б) довжину цієї ділянки ДНК; в) вміст кожного нуклеотида у фрагменті ДНК.
6. Білок рибонуклеаза складається з 224 амінокислот. Що має більшу молекулярну масу: білок чи ген, який його кодує?
7. До складу білка входить 800 амінокислот. Яка довжина гена, що контролює синтез цього білка?
8. Хімічний аналіз показав, що 26% загальної кількості нуклеотидів і-РНК припадає на аденін, 6% - на гуанін, 40% - на урацил. Яким повинен бути нуклеотидний склад відповідної ділянки дволанцюгової ДНК?
9. У молекулі ДНК виявлено 880 гуанілових нуклеотидів, які складають 22% від загальної кількості нуклеотидів цієї ДНК. Визначити: а) скільки міститься інших нуклеотидів (окремо) у цій молекулі ДНК; б) яка довжина і молекулярна маса цієї ДНК.
10. Відомо, що молекула м-РНК (і-РНК) складається з 1536 нуклеотидів. Із скількох амінокислот будуть складатися білки, які синтезуються на цій молекулі м-РНК (і-РНК), якщо відомо, що серед них є один триплет УАА та два триплети УГА?

Лабораторна робота №5

Тема: Успадковування при моногібридному схрещуванні

Мета: Ознайомитися із закономірностями успадковування ознак при моногібридному схрещуванні за допомогою гібридологічного методу. Засвоїти основні позначення і терміни, які використовуються при гібридизації. Навчитися оцінювати ступінь відповідності фактично одержаних у досліді даних теоретично очікуваним за допомогою методу χ^2 (хі-квадрат). Закріпити теоретичні знання шляхом розв'язування задач.

Робота 1. Аналіз гібридів першого (F_1) і другого (F_2) поколінь при моногібридному схрещуванні у гороху. Визначення статистичної достовірності розщеплення при моногібридному схрещуванні.

Матеріали та обладнання: рослини материнського та батьківського сортів і гібридів з насінням першого (F_1) та другого (F_2) поколінь. Таблиця значень χ^2 .

Основні теоретичні відомості та методичні поради

Успадковування - це процес передачі спадкових особливостей організму від одного покоління до іншого.

Закономірності успадковування ознак вивчаються за допомогою генетичного аналізу, тобто сукупності генетичних методів. Головний елемент генетичного аналізу – гібридологічний метод, або метод схрещування. Цей метод був розроблений Григором Менделем у 1865 році.

Основні принципи гібридологічного аналізу наступні:

1. *Організми, що схрещуються повинні належати до одного виду.* У досліді Г. Менделя таким видом був горох посівний. Вважається, що він досить вдало підібрав об'єкт. Горох - рослина самозапильна, з великими квітками, зручними для схрещування, має порівняно високу плодючість і для вирощування не вимагає особливих умов.

2. *Організми, що схрещуються повинні чітко розрізнятися по окремих ознаках.* Г. Мендель виділив у 22 сортів гороху 7 ознак, кожна із яких мала по два контрастних прояви, наприклад, зріле насіння за формою було гладеньким або зморшкуватим, по кольору сім'яночок жовтим або зеленим, зафарбування квітки було білим або пурпуровим, а розташування - пазушним або верхівковим,

шкірка насінини мала сірий або білий колір, рослини були високорослими чи карликовими. Слід підкреслити, що у своїх дослідах Г. Мендель використав в якості вихідних форм для схрещування рослини, які відрізнялися порівняно невеликою кількістю контрастуючих ознак.

3. Досліджувані ознаки повинні бути константні, тобто відтворюватися з покоління в покоління при схрещуванні в межах лінії (батьківської форми). Щоб переконатися в константності ознак Мендель два роки попередньо перевіряв різноманітні форми гороху.

4. Необхідна характеристика і кількісний облік всіх класів розщеплення, якщо воно спостерігається в гібридів першого і наступних поколінь. У своїх дослідженнях Г. Мендель вів облік характеру успадкування кожної з досліджуваних ознак, точний кількісний облік гібридних рослин, що відрізнялися окремими ознаками, в ряду послідовних поколінь та індивідуальний аналіз потомства від кожної рослини теж в ряду поколінь.

При гібридологічному аналізі завжди складають генетичні схеми схрещування. Схрещування позначають знаком множення (\times). Батьківські форми, що підлягають схрещуванню, позначають літерою P (від латинського Parenta — батьки). При написанні схеми скрещування на перше місце звичайно ставлять материнський організм, а на друге — батьківський. Жіночу стать позначають символом ♀ (дзеркало Венери), чоловічу - знаком ♂ (щит і спис Марса). Нашадків від схрещування двох особин із різною спадковістю називають *гібридними*, а окрему особину - *гібридом*. Гібридне покоління позначають літерою F (від латинського Filii - діти) із цифровим індексом, що відповідає порядковому номеру гібридного покоління. Наприклад, перше покоління позначають F_1 , якщо гібридні організми схрещуються між собою, то їхнє потомство позначають F_2 , третє покоління – F_3 і т.д.

Домінуючу ознаку Мендель запропонував позначати великою літерою, а рецесивну - тією ж літерою, але малою.

Схрещування, в якому батьки відрізняються однією парою альтернативних (контрастуючих) ознак, називається **моногібридним**. Відповідно є **дигібридні, тригібридні, полігібридні** схрещування.

Гібридологічний аналіз звичайно складається із системи схрещувань, куди входить одержання першого покоління (F_1), другого (F_2) - від схрещування гібридів F_1 між собою і двох, що отримали назву *зворотних* схрещувань, або *беккросів*, тобто схрещувань гібрида F_1 з однієї та іншою батьківськими формами. Потомство від такого схрещування позначається F_e .

Схрещування двох форм між собою в двох протилежних напрямках називають *реципрокними*: $P_1 \times P_2$ і $P_2 \times P_1$. Наприклад, кролиця чорна \times кріль білий і кролиця біла \times кріль чорний.

Провівши моногібридне схрещування гороху Г. Мендель помітив, що у рослин першого гібридного покоління з двох альтернативних станів кожної ознаки фенотипово проявляється лише один альтернативний стан. У науці ця закономірність отримала назву першого закону Менделя - закону домінування, або одноманітності гібридів першого покоління. Відповідно до сучасного рівня наших знань цей закон формулюється так: *гібриди першого покоління, що походять від гомозиготних батьківських особин, які відрізняються одна від одної альтернативним станом певної ознаки, є повністю одноманітними за генотиповими та фенотиповими структурами відповідної ознаки.*

На основі аналізу успадковування ознак у другому поколінні Мендель виявив явище їх розщеплення, тобто встановив, що нащадки другого гібридного покоління розщеплюються на дві фенотипові групи, одна з цих груп представляє відтворену ознаку, характерну для материнської особини, а друга - батьківської. При цьому одна група характеризується фенотиповим проявленням домінантного стану ознаки, а друга – рецесивного. З'ясувалось, що чисельність особин у груп з проявом домінантного стану ознаки завжди втричі більша, ніж у груп з рецесивним проявом цієї ж ознаки. Все це привело Г.Менделя до розуміння того, що розщеплення нащадків у другому гібридному поколінні за фенотиповим проявом різних ознак є не безладним, а упорядкованим. Встановлена закономірність отримала назву закону розщеплення ознак, або другого закону Менделя, який можна сформулювати так: *при схрещуванні двох гетерозиготних особин, тобто гібридів, які аналізуються за однією парою альтернативних ознак, у потомстві спостерігається розщеплення за фенотипом у співвідношенні 3:1 і за генотипом 1:2:1.*

При кількісному вивченні розщеплення гібридів зіставляють фактично отримані в досліді дані з теоретично очікуваними відповідно до формули розщеплення (1:1, 3:1, 1:2:1, 9:3:3:1 і т.п.), тому що повного збігу не буває. Статистична оцінка різниці між фактично отриманими і теоретично очікуваними даними дає можливість з'ясувати, у яких випадках і наскільки ця різниця істотна й у яких випадках вона несуттєва і випадкова.

Розщеплення в гібридних потомствах можна опрацювати статистично тільки в тому випадку, коли поведінка кожної пари алельних генів є незалежною, а поєднання генів при заплідненні випадковим.

Щоб оцінити ступінь відповідності фактично одержаних у досліді даних теоретично очікуваним, у статистиці використовується показник,

названий критерієм відповідності χ^2 . Слід пам'ятати, що метод χ^2 не можна застосовувати, якщо показники величин досліду виражені у відсотках або в інших відносних величинах і якщо число осіб в одному із теоретично розрахованих класів менше 5. χ^2 вираховують за формулою $\chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$, де \sum - означає суму, O - одержаний результат; E - теоретично очікуваний результат (E). Приклад того як обчислюється χ^2 та послідовність розрахунків, приведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Обчислення χ^2 при моногібридному схрещуванні томатів

Класи розщеплення	Очікуване розщеплення	Одержаний результат (O)	Теоретично очікуваний результат (E)	O-E	(O-E) ²	$\frac{(O-E)^2}{E}$
1. Червоні плоди	3	324	315	+9	81	0,26
2. Жовті плоди	1	96	105	-9	81	0,77
Сума	4	420	420	0	-	$\chi^2=1,03$

Знаючи значення χ^2 при моногібридному схрещуванні, можна оцінити статистичну достовірність розщеплення. З формули випливає, що χ^2 буде тим меншим, чим менша розбіжність між фактично отриманими й очікуваними даними (O—E), Зазначена розбіжність є в одних випадках результатом дії випадкових причин, у інших - характеризує дійсно існуюче розходження між даними теоретично очікуваними й отриманими в досліді. Щоб зробити правильний висновок про випадковість або закономірність відхилення, отримане значення χ^2 порівнюють із його значенням у таблиці 4.

З табл. 4 випливає, що розмір χ^2 залежить від двох розмірів: числа ступенів свободи (*df*) і ймовірності (P). Число ступенів свободи – це число незалежно розрахованих теоретично очікуваних величин. Для з'ясування цього поняття розглянемо найпростіший приклад. Припустимо, що є гібрид гороху, що дав розщеплення за забарвленням насіння на 2 фенотипи (класи): 110 жовтих насінин і 44 зелених. Їх можна уявити як суму, у якої одне зі складових установлюється вільно, а інше залежить від першого. У такому випадку тільки один доданок береться вільно і, отже, ступінь свободи тільки одна. При трьох класах осіб буде 2 ступеня свободи, при чотирьох—3 ступеня свободи і т.д., при *n* класах $df = n - 1$.

Таблиця значень χ^2 при різних ступенях свободи

(по П.Ф. Рокицькому, із скороченням)

df^*	Ймовірність (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

 df^* - число ступенів свободи

Ймовірність (P), від якої також залежить розмір χ^2 у біологічних дослідженнях, умовно приймають рівною 0,05. Це означає, що якщо обчислене значення χ^2 не перевищує табличного значення χ^2 , що знаходиться в графі з ймовірністю 0,05, то фактично отримані дані відповідають теоретично очікуванім. Якщо обчислене значення χ^2 буде менше табличного при ймовірності 0,05 (буде відповідати цифрам, розташованим лівіше цієї графі), то це буде свідчити про більш точну відповідність фактично отриманих даних теоретично очікуванім. Якщо, навпаки, обчислене значення χ^2 буде більше табличного значення при ймовірності 0,05 (буде відповідати цифрам, розташованим правіше цієї графі), то фактично отримані дані не відповідають теоретично очікуванім (у випадку зчепленого успадковування, селективного запліднення і т.д.).

У розглянутому вище прикладі χ^2 при моногібридному схрещуванні томатів дорівнює 1,03. Так як число класів (фенотипів) у цьому випадку дорівнює двом (червоні і жовті плоди), то число ступенів свободи df дорівнює 1 (2-1). З табл. 4 випливає, що значення χ^2 , рівне 1,03, відповідає ймовірності 0,25, тобто знаходиться лівіше графі з ймовірністю 0,05. Це означає, що фактично отримане розщеплення цілком відповідає теоретично очікуваному відношенню 3:1.

Вище відзначалося, що величина χ^2 залежить від величини відхилення між фактично отриманими і теоретично очікуваними величинами. Але і при однакових відхиленнях показник χ^2 може виявитися різним в залежності від розміру вибірки. **Вибіркою**, або вибірковою сукупністю, називається частина генеральної сукупності. **Генеральна ж сукупність** містить у собі всю

сукупність осіб, насінин і т.д. Залежність χ^2 від розміру вибірки видна з таблиці 5.

Таблиця 5

Залежність χ^2 від розміру вибірки при моногібридному схрещуванні гороху

Класи розщеплення	Очікуване розщеплення	Одержаний результат (O)	Теоретично очікуваний результат (E)	O-E	(O-E) ²	$\frac{(O-E)^2}{E}$
1. Жовті	3	110	116	-6	36	0,31
2. Зелені	1	44	38	+6	36	0,95
Сума	4	154	154	0	-	$\chi^2=1,26$
1. Жовті	3	27	33	-6	36	1,09
2. Зелені	1	17	11	+6	36	3,27
Сума	4	44	44	0	-	$\chi^2=4,36$

Отже, при однакових відхиленнях величина χ^2 значно більша при малій вибірці. При числі ступенів свободи, рівному при моногібридному розщепленні 1 (табл. 4), значення $\chi^2 = 1,26$ менше табличного значення при ймовірності 0,05. Значення ж $\chi^2 = 4,36$ більше табличного значення χ^2 при тій же ймовірності 0,05. Це означає, що в першому випадку при більшому розмірі вибірки фактично отримане розщеплення цілком відповідає теоретично очікуваному відношенню (3:1). В другому ж випадку при меншому розмірі вибірки фактично отримане розщеплення не відповідає теоретично очікуваному (3:1). Звідси впливає необхідність аналізувати по можливості великі вибірки.

Хід роботи

1. Вилущити боби і розглянути насіння материнського і батьківського сортів гороху. Переконатися, що насіння материнського сорту має жовте зафарбування, а батьківського - зелене.

2. Вилущити боби із рослин з насінням першого покоління (F₁). Переконатися, що насіння має жовте зафарбування. Підрахувати кількість отриманого насіння. Визначити, яке зафарбування (жовте або зелене) домінують і яке рецесивне.

3. Вилущити боби із рослин гороху з насінням другого покоління (F_2). Підрахувати кількість жовтого і зеленого насіння в F_2 . Записати отримані результати до таблиці, що побудована аналогічно табл. 3.

5. За допомогою методу χ^2 оцінити ступінь відповідності фактично одержаних у досліді даних теоретично очікуваним.

6. Зробити висновок щодо характеру успадкування однієї пари альтернативних ознак у досліді з горохом посівним.

Робота 2. Розв'язування задач на моногібридне схрещування

При розв'язуванні усіх задач з генетичного аналізу необхідно користуватись так званими алгоритмами, які визначають послідовність запису і розв'язування задач. Під алгоритмом розуміють всяку систему обчислень, що виконуються за строго визначеними правилами, які після певного числа кроків приводять до розв'язання задачі.

Для кожного типу задач характерні свої алгоритми. Для генетичних задач алгоритми повинні бути такі:

1. Вчитатись уважно в текст задачі і визначити домінуючі і рецесивні ознаки, про які іде мова.

2. Ввести позначення алелей генів, що визначають розвиток цих ознак.

3. Записати генотипи батьківських форм із значками статі /материнська - ♀ чи батьківська - ♂ форма/ і поряд записати їхній фенотип.

4. Окремо записати схрещування цих батьківських форм.

5. Визначити і записати усі типи гамет батьківських форм.

6. Визначити і записати усі генотипи зигот. Якщо у батьківських форм утворюється по одному сорту гамет, то зразу записують генотип зиготи F_1 , а якщо ж утворених гамет більше - обов'язково застосовують решітку Пеннета!

Визначити і записати фенотипи гібридів.

7. Для одержання F_2 , F_n пункти 4-6 повторюються.

8. Зробити висновки у відповідності з питаннями задачі.

При розв'язанні задач на моногібридне схрещування необхідно пам'ятати, що генотип особини з рецесивними ознаками можна визначити одразу, оскільки він проявляється в гомозиготному стані. Фенотипний прояв домінуючих ознак

можливий як у гомозиготному, так і в гетерозиготному стані. При неповному домінуванні гетерозиготи мають власний фенотип; у цьому випадку при моногібридному схрещуванні розщеплення за фенотипом і генотипом співпадають і становлять 1:2:1. У разі плейотропної (множинної) дії гена розщеплення за фенотипом буде не 3:1, а 2:1.

Розв'язок задач містить:

1. Скорочений запис умови за допомогою загальноприйнятих у генетиці символів та позначень.

2. Схему схрещування з дотриманням устанавленого порядку:

а) у першому рядку після літери Р пишуть жіночий, потім чоловічий генотипи;

б) у другому рядку записують і обводять гамети батьківських форм;

в) у третьому рядку після літери F записують через кому генотипи потомства (гібридів); при значній кількості гамет, а отже і генотипів потомства, застосовують решітку Пеннета;

г) нижче приводять фенотипний і генотипний аналіз одержаного потомства. При цьому генотипи можуть вказуватися із застосуванням фенотипового радикала або шляхом перерахуванням усіх генотипів. Фенотиповий радикал позначається дефісом «-», тобто А-, що припускає можливість наявності другого алеля як домінантного, так і рецесивного без зміни фенотипу (при повному домінуванні). Наприклад, через фенотиповий радикал «А-» ми позначили фенотип насінин гороху жовтого кольору, що припускає наявність серед них як насіння із генотипом Аа (2/3) так і АА (1/3 від насінин жовтого кольору).

3. Відповідь на всі поставлені в задачі питання.

Дозволяється скорочений запис ознак організмів: чорний — чорн., білий — біл. і т.п.

Приклад 1. При схрещуванні сірих мишей з білими в F₁ всі миші були сірими, а в F₂ спостерігається розщеплення: 30 сірих і 9 білих. Як успадковується ознака?

Розв'язок

1. Одноманітність першого покоління свідчить про гомозиготність батьківських організмів.

2. Розщеплення 30:9 ≈ 3:1 у другому поколінні відповідає моногібридному схрещуванню.

3. Прояв у першому поколінні сірого забарвлення доводить, що сірий колір — домінантна ознака.

Дано:

A — сірий колір

a — білий

P ♀ AA × ♂ aa

Гамети ♀ A ♂ a

F₁: Aa - сірі

Схрещування на F₂: ♀ Aa × ♂ Aa

гамети ♀ A, a ♂ A, a

F₂: $1AA : 2Aa : 1aa$

сірі білі

Розщеплення за фенотипом: 3:1, тобто $\frac{3}{4}$ мишей мали сірий колір і $\frac{1}{4}$ - білий;

Розщеплення за генотипом: 1:2:1, тобто $\frac{1}{4}$ мишей були гомозиготні за домінантною ознакою, $\frac{1}{2}$ гетерозиготні і $\frac{1}{4}$ гомозиготні за рецесивною ознакою.

Відповідь: Забарвлення шерсті у мишей контролюється одним геном. Сірий колір — домінантна ознака, білий — рецесивна.

Приклад 2. У квасолі чорне забарвлення насіння домінує над білим. Схрещування двох рослин дало $\frac{3}{4}$ чорних і $\frac{1}{4}$ білих насінин. Визначити генотипи обох батьків.

Розв'язок

Розщеплення в першому поколінні свідчить про гетерозиготність батьків і підпорядковується другому закону Менделя. Тому можна відразу сказати, що вихідні рослини квасолі є гетерозиготами.

Дано:

A – ген чорного забарвлення насіння

a – ген білого забарвлення насіння

$F_1 - 3:1$

$P - ?$

$P \quad \text{♀ } Aa \times \text{♂ } Aa$

Гамети: ♀ A, a ♂ A, a

$F_1: AA, Aa, Aa, aa$

Фенотипний і генотипний аналіз потомства:

Розщеплення за фенотипом: 3:1, тобто $\frac{3}{4}$ насінин мали чорний колір і $\frac{1}{4}$ - білий;

Розщеплення за генотипом: 1:2:1, тобто $\frac{1}{4}$ насінин були гомозиготні за домінантною ознакою, $\frac{1}{2}$ гетерозиготні і $\frac{1}{4}$ гомозиготні за рецесивною ознакою.

Відповідь: Вихідні форми квасолі є гетерозиготними - Aa .

Запитання для самоконтролю

1. Яке схрещування називається моногібридним?
2. Дайте визначення понять «генотип» і «фенотип». Наведіть приклади.
3. У чому суть першого та другого законів Менделя?
4. Які особини називаються гомо- і гетерозиготними? Чому гетерозиготний організм утворює гамети різного типу?
5. У чому суть гібридологічного аналізу?
6. Чи має значення напрямок схрещування для прояву менделівських закономірностей.
- 7.3 якою метою використовують метод χ^2 ?
8. Який висновок слід зробити, якщо при обчисленні χ^2 для проміжного успадкування при моногібридному схрещуванні отримано такий результат: а) $\chi^2 = 5,95$; б) $\chi^2 = 7,95$.

Задачі і вправи

1. У томатів нормальна висота, рослин A домінує над карликовістю a . Визначити: а) генотипи батьківських рослин, якщо серед їхніх нащадків

спостерігається розщеплення за цими ознаками у відношенні 1:1; б) те ж при розщепленні у відношенні 3:1.

2. У людини карий колір очей (K) домінує над блакитним (k). Кароока жінка, у батька якої були блакитні, а в матері карі очі, одружилася з блакитнооком чоловіком, батьки якого мали карі очі. У них народилася кароока дитина. Визначити генотипи всіх зазначених осіб.

3. При схрещуванні рослини квасолі, що виросла з чорного насіння, із білонасінною рослиною завязалось 176 чорних і 198 білих насінин. Визначити генотипи вихідних форм і χ^2 . Як називається даний тип схрещування?

4. Альбінізм у рослин летальний, але у багатьох видів він проявляється у потомстві нормальних рослин. Якщо альбіноси гинуть, то чому ж вони не елімінуються повністю із популяції?

5. У одній із порід овець є тварини сірої і чорної масті. При схрещуванні чорних овець між собою одержують тільки чорних ягнят. Схрещування чорних із сірими дає половину ягнят чорних, половину сірих. При розведенні в собі сірих овець постійно одержують сірих і чорних, причому сірих у два рази більше ніж чорних. Як успадковується зафарбування шерсті?

Лабораторна робота №6

Тема: Успадковування при дигібридному схрещуванні

Мета: Ознайомитися із закономірностями успадковування ознак при дигібридному схрещуванні. Впевнитися у тому, що незалежне успадкування ознак спостерігається у тому випадку, коли пари алельних генів знаходяться в різних парах не гомологічних хромосом та вільно комбінуються між собою в процесі розмноження, результатом чого є поява особин з новими комбінаціями ознак. Закріпити теоретичні знання шляхом розв'язування задач.

Робота 1. Аналіз гібридів першого (F_1) і другого (F_2) поколінь при дигібридному схрещуванні у гороху. Визначення статистичної достовірності розщеплення при дигібридному схрещуванні.

Матеріали та обладнання: рослини материнського та батьківського сортів і гібридів з насінням першого (F_1) та другого (F_2) поколінь. Таблиця значень χ^2 .

Основні теоретичні відомості та методичні поради

Дигібридним називають схрещування особин, що відрізняються одночасно двома парами альтернативних ознак; якщо ознак три пари - тригібридним; багато ознак - полігібридним.

Для дигібридного схрещування Г. Мендель узяв гомозиготні рослини гороху, що розрізнялися одночасно за двома парами ознак. Материнська рослина мала гладеньке насіння жовтого забарвлення, батьківська - зморшкувате зелене насіння. Гібрид першого покоління цього схрещування мав насіння жовте і гладеньке. Отже, жовте забарвлення насіння домінує над зеленим, а гладенька форма - над зморшкуватою. Позначимо алелі жовтого забарвлення A , зеленого — a , алелі гладенької форми B , зморшкуватої — b . Гени, що визначають розвиток різних пар ознак, називаються *неалельними*. У даному випадку гени забарвлення насіння A і a неалельні генам форми насіння B і b . Неалельні гени позначають різними літерами алфавіту.

Батьківські рослини мали генотипи $AABB$ і $aabb$.

P ♀ $AABB$ × ♂ $aabb$

Гамети ♀ AB ♂ ab

F₁: *AaBb* - насіння жовте і гладеньке

Схрещування на F₂: ♀ *AaBb* × ♂ *AaBb*

Гамети ♀ *AB, Ab, aB, ab* ♂ *AB, Ab, aB, ab*

Гамети в цьому схрещуванні утворюються відповідно до розходження хромосом у мейозі. Поєднання гамет можуть бути визначені за допомогою решітки Пеннета.

Усього можна одержати 16 комбінацій гамет, із них 9 клітин, у яких є хоча б по одній домінантній алелі з кожної пари, 3 комбінації, у яких зустрічається *A* алель, а *b* в гомозиготі, ще три, у яких гомозиготною є *a* і, нарешті, один клас, у якому і *a* і *b* - гомозиготи.

F₂:

Гамети	AB	Ab	aB	ab
AB	<i>AABB ж.глад.</i>	<i>AABb ж.глад.</i>	<i>AaBB ж.глад.</i>	<i>AaBb ж.глад.</i>
Ab	<i>AABb ж.глад.</i>	<i>AAbb ж. зм.</i>	<i>AaBb ж.глад.</i>	<i>Aabb ж.зм.</i>
aB	<i>AaBB ж.глад.</i>	<i>AaBb ж.глад.</i>	<i>aaBB з.глад.</i>	<i>aaBb з.глад.</i>
ab	<i>AaBb ж.глад.</i>	<i>Aabb ж.зм.</i>	<i>aaBb з.глад.</i>	<i>aabb з.зм.</i>

У F₂ Г. Мендель отримав 556 насінин, із них 315 було гладких жовтих, 101 зморшкувате жовте, 108 гладких зелених, 32 зморшкуватих зелених. Звідси можна порахувати очікуване розщеплення для цих 4-х фенотипових класів:

$$A-B- 556 \times 9/16 = 312 \text{ (отримано 315);}$$

$$A-bb 556 \times 3/16 = 104 \text{ (отримано 101);}$$

$$aaB- 556 \times 3/16 = 104 \text{ (отримано 108);}$$

$$aabb 556 \times 1/16 = 32 \text{ (отримано 34).}$$

Отже, реальне розщеплення ідеально відповідає теоретично очікуваному.

Якщо підрахувати кількість насіння по кожній парі ознак окремо від іншої пари виявиться, що відношення числа гладенького насіння до числа зморшкуватого було 423:133, а жовтого до зеленого - 416:140, тобто для кожній пари відношення було 3:1. Є очевидним, що при дигібридному схрещуванні

кожна пара ознак при розщепленні в потомстві поводитьсь так само як при моногібридному схрещуванні, тобто незалежно від іншої пари ознак.

Таким чином, Мендель об'єктивно встановив існування **третього закону - закону незалежного успадкування ознак і вільного комбінування генів**, який можна сформулювати так: *при схрещуванні організмів, гомозиготних за двома або декількома алельними ознаками, і при подальшому розмноженні нащадків, гени, що обумовлюють формування цих ознак, вільно і незалежно комбінуються між собою, локалізуючись у генотипах нащадків другого покоління відповідно закону ймовірностей*. Пізніше з'ясувалося, що цей закон має обмеження. Він здебільшого стосується розподілу хромосом, ніж генів. Вільно комбінуватися можуть лише ті гени, які містяться в різних парах хромосом.

Аналізуючи дигібридну схему можна побачити, що внаслідок схрещування виникають нові константні поєднання генів і нові фенотипи: $AAbb$ — жовте зморшкувате; $aaBB$ — зелене гладеньке насіння. Таких рослин не було на початку дослідів. Вони виникли завдяки перекомбінації дискретних менделівських факторів.

Шляхом гібридизації можна об'єднувати в одному генотипі корисні для людини ознаки, які знаходяться у різних формах у роз'єданому стані. Так, при схрещуванні карликових малопродуктивних сортів пшениці з високорослими, а звідси полягаючими, але врожайними сортами були отримані гібриди в генотипі яких поєдналися гени, які зумовлюють високу продуктивність і низькорослість, а отже стійкість до полягання.

Селекція, яка використовує гібридизацію як засіб перекомбінації генів з метою створення нових генотипів і фенотипів, одержала назву *синтетичної селекції*. Переважну більшість сучасних високопродуктивних сортів рослин і порід тварин виведено шляхом гібридизації. Слід мати на увазі, що внаслідок схрещування виникають як бажані, так і небажані для людини поєднання ознак, тобто гібридизація посилює генотипову різноманітність, а з цієї різноманітності селекціонер добирає ті комбінації, які його найбільш задовольняють.

Г. Мендель провів дослід з сортами гороху, що відрізнялися за трьома парами ознак: за формою насіння (гладеньке — зморшкувате), за забарвленням сім'ядолей (жовте — зелене), за кольором шкірки насінини (сірий - білий). Тригетерозиготи F_1 мали домінантні ознаки — гладеньке насіння A , жовті сім'ядолі B і сіру шкірку C . Рецесивними ознаками були зморшкувате насіння a , зелені сім'ядолі b і біле забарвлення шкірки насіння c .

Аналізуюче схрещування засвідчило, що тригетерозиготи $AaBbCc$, тобто гібриди F_1 , утворюють вісім типів гамет: ABC , ABc , AbC , Abc , aBC , aBc , abC , abc ,

які перекомбінуюючись у процесі запліднення, дадуть початок 64-м класам потомків (згідно з решіткою Пеннета).

За фенотипом ці класи розподіляються так:

27 гладеньких, жовтих, сірих ABC ;

9 гладеньких, жовтих, білих ABc ;

9 гладеньких, зелених, сірих AbC ;

9 зморшкуватих, жовтих, сірих aBC ;

3 гладеньких, зелених, білих Abc ;

3 зморшкуватих, жовтих, білих aBc ;

3 зморшкуватих, зелених, сірих abC ;

1 зморшкуватих, зелених, білих abc .

Отже, тригібридне розщеплення за фенотипом є поєднанням трьох незалежних моногібридних розщеплень:

$$27ABC + 9ABc + 9AvC + 9aBC + 3avC + 3aBc + 3Avc + 1abc - (3A + 1a) \times (3B + 1b) \times (3C + 1c).$$

Принцип незалежної поведінки різних пар альтернативних ознак в розщепленні по фенотипу в F_2 при повному домінуванні може бути виражений формулою $(3+1)^n$ де n - число пар альтернативних ознак. По цій формулі можна вирахувати *число можливих класів в розщепленні по фенотипу* при будь-якому схрещуванні чи то моно- чи полігібридному. Моногібридне $(3+1)^1$ тобто 3:1 - 2 класи;

дигібридне $(3+1)^2 = 9:3:3:1$ - 4 класи;

тригібридне $(3+1)^3 = 27:9:9:9:3:3:3:1$ - 8 класів, тобто число фенотипових класів при розщепленні в F_2 може бути виражено формулою 2^n , де 2 - пара алелей, а n - число алельних пар. Для моногібридного - $2^1 = 2$, для дигібридного $2^2 = 4$, для тригібридного $2^3 = 8$ і т.д.

За цією ж формулою можна розрахувати *число типів гамет*, які утворюються в будь-якого полігібрида F_1 .

Можна також вирахувати *число можливих комбінацій гамет* по формулі 4^n , де 4- число комбінацій при моногібридному схрещуванні, а n число алельних пар.

Число генотипових класів вираховується по формулі 3^n . (3 - число генотипових класів для моногібридного схрещування). Всі ці підрахунки правильні лише тоді, коли неалельні гени знаходяться в негомологічних хромосомах. Але відомо, що число хромосом для кожного виду організмів відносно невелике і постійне. Тому можливе одночасне незалежне успадкування лише скількох генів скільки пар гомологічних хромосом у організмів даного виду. Так, у дрозофіли ($2n=8$) незалежним може бути лише тетрагібридне схрещування, Якщо ж ми досліджуватимемо успадкування більше ніж 4 ознак, то третій закон Менделя не здійсниться.

У людини 46 хромосом. Якщо допустити, що в людини в кожній парі хромосом тільки по одній алелі, то число різних сортів гамет буде 2^{23} , число класів розщеплення по фенотипу 2^{23} , по генотипу - 3^{23} , а число можливих комбінацій гамет - 4^{23} . Число комбінацій гамет у людини говорить про величезний розмах мінливості у цього виду. До того ж треба зазначити, що в кожній хромосомі не один, а значно більше генів, до того ж гени можуть взаємодіяти між собою. Існують і інші фактори, які значно збільшують мінливість генотипів і фенотипів.

Аналіз полігібридних схрещувань провадиться так же, як і дигібридних, проте з кожним збільшенням числа ознак зростає число комбінацій гамет. Якщо у дигібрида, як ми бачили, утворюється 16 комбінацій, у тригібрида їх уже 64, а в тетрагібрида - 256.

Класичне розщеплення 9:3:3:1 при дигібридному схрещуванні буде не завжди, для цього необхідно дотримання багатьох умов.

Варто мати на увазі, що в полігібридних розщепленнях також може бути неповне домінування, що призводить до серйозних змін у частотах з якими зустрічаються різні фенотипові класи. Необхідно також виконання ряду умов для того, щоб відбулися очікувані розщеплення:

1. Перебування генів, що враховуються у негомологічних хромосомах.
2. Рівновірогідне утворення гамет усіх сортів на основі випадкового розходження хромосом у мейозі.
3. Рівновірогідне дозрівання гамет усіх типів.
4. Рівновірогідна зустріч гамет при заплідненні.
5. Рівновірогідне виживання зигот і дорослих організмів.
6. Відносна стабільність розвитку досліджуваних ознак.

Хід роботи

1. Розглянути забарвлення і форму насіння вихідних батьківських сортів. Переконалися, що у одного сорту все насіння жовте гладеньке, у другого — зелене зморшкувате.

2. Розглянути гібридне насіння F₁ відмітити його забарвлення та форму. Переконалися, що все насіння однакове – жовте за кольором і гладеньке за формою через домінування відповідних алелей.

3. Проаналізувати гібридне насіння F₂; розподілити його на чотири класи: жовте гладеньке, жовте зморшкувате, зелене гладеньке, зелене зморшкувате. Звернути увагу, що крім батьківських поєднань ознак (жовте гладеньке і зелене зморшкувате) появилися нові: жовте зморшкувате і зелене гладеньке. Таким чином, встановити факт комбінативної мінливості. Підрахувати насіння кожного класу і записати результати в таблицю, складену за формою таблиці 6.

Таблиця 6

Обчислення χ^2 при дигібридному схрещуванні гороху

Класи розщеплення	Очікуване розщеплення	Одержаний результат (O)	Теоретично очікуваний результат (E)	O-E	(O-E) ²	$\frac{(O-E)^2}{E}$
1.Жовті гладенькі	9					
2.Жовті зморшкуваті	3					
3.Зелені гладенькі	3					
4.Зелені зморшкуваті	1					
Сума	16				-	$\chi^2=$

4. Обчислити χ^2 при дигібридному схрещуванні та оцінити ступінь відповідності фактично одержаних у досліді даних теоретично очікуваним, аналогічно тому, як це виконувалося для моногібридного схрещування.

5. Зробити висновок щодо характеру успадкування двох пар альтернативних ознак у дослідах з горохом посівним.

Робота 2. Розв'язування задач на дигібридне схрещування

При розв'язуванні задач на дигібридне схрещування необхідно пам'ятати, що алельні пари генів розміщуються в різних парах гомологічних хромосом, наприклад $\frac{A}{a} \frac{B}{b}$. Унаслідок редукції числа хромосом під час гаметогенезу, у гамету від кожної пари гомологічних хромосом потрапляє лише одна. При цьому можуть виникати різні типи гамет (з різними комбінаціями хромосом), оскільки розходження хромосом кожної гомологічної пари в анафазі I мейозу незалежне. Доцільно користуватися також фенотиповим радикалом.

Приклад 1. При схрещуванні двох порід тутового шовкопряда, що відрізняються такими ознаками: одна з них дає одноколірних гусениць, що плетуть жовті кокони, а інша смугастих гусениць, що плетуть білі кокони, у першому поколінні всі гусениці були смугастими і плели жовті кокони. В другому поколінні утворилося таке розщеплення:

6385 смугастих гусениць, що плетуть жовті кокони;

2147 смугастих із білими коконами;

2099 одноколірних із жовтими коконами;

691 одноколірних із білими коконами.

Визначити генотипи вихідних форм і нащадків першого і другого покоління.

Розв'язок

Дано:

P: ♀ одноколірні із жовт. кок. × ♂ смугасті із біл. кок.

F₁: смугасті із жовт. кок.

F₂: 6385 смугастих гусениць, що плетуть жовті кокони;

2147 смугастих із білими коконами;

2099 одноколірних із жовтими коконами;

691 одноколірних із білими коконами.

Генотипи P, F₁ і F₂ ?

Проаналізуємо успадкування кожної ознаки окремо. Так, по забарвленню гусениць у першому поколінні ми спостерігаємо одноманітність смугастих гусениць, що свідчить про домінування цієї ознаки над їхньою одноколірністю. Позначимо домінуючу алель, відповідальну за смугасте забарвлення гусениць, як A , рецесивну, що контролює одноколірне забарвлення гусениць, як a . В другому поколінні спостерігається розщеплення 3:1 - $(6385+2147) : (2099+691)$ або 8532 смугастих до 2790 одноколірних, що підтверджує моногенний характер успадкування даної ознаки.

По ознаці забарвлення кокона домінуючим є, як очевидно по першому поколінню гібридів, жовте забарвлення. Позначимо ген, що контролює його, символом B , а алель, відповідальну за біле забарвлення кокона - рецесивну алель - b . В другому поколінні, також як і у випадку ознаки забарвлення гусениць, спостерігається співвідношення фенотипів 3:1, тобто $(6385+2099) : (2147+691)$ або 8484 гусениць із жовтим коконом до 2838 із білим коконом.

В другому поколінні ми спостерігаємо появу 4 фенотипових класів, співвідношення яких складає 9:3:3:1, що свідчить про незалежний характер успадкування цих ознак.

Таким чином, схема схрещування матиме такий вигляд:

P ♀ $aaBB$ × ♂ $AAbb$

F₁: $AaBb$ - смугасті із жовт. кок.

Схрещування на F₂: ♀ $AaBb$ × ♂ $AaBb$

Гамети: ♀ AB, Ab, aB, ab ♂ AB, Ab, aB, ab

За допомогою фенотипового радикала записуємо генотипи гібридів другого покоління:

F₂: 9 $A-B-$ - смугасті гусениці, що плетуть жовті кокони;

3 $A-bb$ - смугасті з білими коконами;

3 $aaB-$ - одноколірні з жовтими коконами;

1 $aabb$ - одноколірні з білими коконами.

Відповідь. Генотипи вихідних форм: ♀ $aaBB$, ♂ $AAbb$; нащадків першого покоління: $AaBb$; нащадків другого покоління: 9 $A-B-$, 3 $A-bb$, 3 $aaB-$, 1 $aabb$.

Приклад 2. Визначте ймовірність народження карооких п'ятипалих дітей в сім'ї, де батьки — кароокі шестипалі дигетерозиготи за умови, що карий колір очей і шестипалість – ознаки домінуючі.

Розв'язок

Дано:

A – карі очі

a – блакитні очі

B – шестипалість

b – п'ятипалість

P – $AaBb$

Ймовірність народження $A-bb$?

Ймовірність появи різних генотипів і фенотипів при полігібридному схрещуванні можна визначити, знаючи ймовірність появи їх при моногібридному схрещуванні. Ознаки при полігібридному схрещуванні успадковуються незалежно одна від одної. Математичний закон поєднання двох незалежних явищ говорить: ймовірність того, що два незалежні явища або події відбудуться одночасно, дорівнює добутковій ймовірностей кожного з них.

Отже, щоб визначити ймовірність народження карооких і п'ятипалих дітей, треба помножити ймовірність появи карооких дітей на ймовірність появи п'ятипалих.

Якщо батьки кароокі гетерозиготи (Aa), то ймовірність народження у них кароокої дитини відповідно другому закону Менделя складає $3/4$. Ймовірність народження п'ятипалої дитини (генотип bb) у шестипалих гетерозигот (Bb) — $1/4$. Звідси ймовірність народження кароокої п'ятипалої дитини (генотип $AAbb$ або $Aabb$) $= 3/4 \times 1/4 = 3/16$. Розв'язати задачу можна також, записавши за допомогою літерних позначень схему схрещування і склавши решітку Пеннета.

Відповідь. Ймовірність народження карооких п'ятипалих дітей у цій родині $3/16$ або $18,75\%$.

Приклад 3. При схрещуванні двох дигетерозигот гороху з жовтим гладеньким насінням, в поколінні F_2 отримали:

401 особину з жовтим гладеньким насінням;

121 — з зеленим гладким;

108 — із зморшкуватим жовтим;

32 — із зеленим зморшкуватим.

Чи є таке розщеплення закономірним, тобто чи відповідає формулі $9:3:3:1$?

Розв'язок

Для зручності проведення підрахунків результати розщеплення в F_2 заносимо в таблицю і виконуємо необхідні дії.

Класи розщеплення	Очікуване розщеплення	Одержаний результат (O)	Теоретично очікуваний результат (E)	O-E	(O-E) ²	$\frac{(O-E)^2}{E}$
1.Жовті гладенькі	9	401	373	28	784	2,1
2.Жовті зморшкуваті	3	108	124	-16	256	2,06
3.Зелені гладенькі	3	121	124	-3	9	0,07
4.Зелені зморшкуваті	1	32	41	-9	81	1,98
Сума	16	662	662	0	-	$\chi^2=6,2$

Одержавши значення χ^2 , потрібно звернутися до таблиці 4. Спочатку вирахуємо число ступенів свободи df, яке дорівнюватиме 3 (4-1). З табл. 4 випливає, що значення χ^2 , рівне 6,2, не перевищує показника $\chi^2=7,81$ для ймовірності 0,05, тобто знаходиться лівіше графі цієї ймовірності. Це означає, що фактично отримане розщеплення цілком відповідає теоретично очікуваному відношенню 9:3:3:1.

Запитання для самоконтролю

1. Що таке дигібридне, тригібридне і полігібридне схрещування?
2. В чому полягає закон незалежного успадкування ознак?
3. За виконання яких умов відбудеться розщеплення у співвідношенні 9:3:3:1 в F_2 дигібридного схрещування?
4. За якою формулою можна розрахувати число типів гамет, які утворюються в любого полігібрида F_1 ?
5. Скільки типів гамет та які утворює особина, що має генотип AaBbCcEe?

6. Скільки фенотипових класів (при неповному домінуванні за всіма генами) можна виявити в F_2 у тригетерозиготи?

7. Що таке синтетична селекція?

Задачі і вправи

1. Випишіть всі типи гамет, які утворює особина $AaBbCcKkPP$.
2. Проведено гексагібридне схрещування. Визначити число класів по генотипу і фенотипу в F_2 .
3. Гетерозигота $AaBbCcDd$ схрещена з гомозиготним рецесивом. Визначити: а) число класів в отриманому потомстві по генотипу; б) яка частина нащадків має всі чотири домінантних гени; в) яка частина нащадків має всі чотири рецесивних гени.
4. Рослина, що має генотип $AAsc$ запилюється пилком рослини з генотипом $aaCc$. Напишіть генотипи ядер восьмиядерного зародкового мішка після запліднення.
5. Від здорових батьків народилася дитина — глухонімих альбінос. Напишіть генотипи батьків і дитини.
6. При яких генотипах батьків буде спостерігатись однаковість гібридів першого покоління:
 - а) $AaBb \times AaBb$;
 - б) $AaBB \times AaBB$;
 - в) $AABB \times aabb$;
 - г) $AaBb \times aabb$;
 - д) $aabb \times Aabb$?
7. У пшениці безостість A домінує над остистістю a , а червоне забарвлення колоса B над білим забарвленням b . Рослини безостого червоноколосого сорту при схрещуванні з рослинами остистого білоколосого сорту дають $1/4$ безостих червоноколосих, $1/4$ безостих білоколосих, $1/4$ остистих червоноколосих і $1/4$ остистих білоколосих рослин. Визначити генотипи батьків.
8. У дрозофіли сіре забарвлення тіла і нормальні крила визначаються домінантними генами B і V , а чорне забарвлення тіла і зародкові крила залежать від рецесивних генів b і v . При схрещуванні двох чорних мух із нормальними крилами всі нащадки мали чорне тіло, але $3/4$ були з довгими, а $1/4$ із зародковими крилами. Визначити генотип батьків.
9. У людини карий колір очей K домінує над блакитним k , а здатність краще володіти правою рукою P над ліворукістю p . Кароока правша вийшла заміж за

блакитноокого лівшу. У них народилося дві дитини: один блакитноокий правша, інший блакитноокий лівша. Визначити генотип матері.

10. У дурману пурпурне забарвлення квіток (P) домінує над білим (p), а колючі насінні коробочки (S) — над гладкими (s). Пурпурноквітка гладка рослина, схрещена з білоквітковою колючою, дала 320 пурпурноквіткових колючих і 312 пурпурноквіткових гладких. Які будуть фенотипи і генотипи потомків, одержаних від схрещування цих двох типів F_1 між собою?

11. У сім'ї, де батьки добре чули і мали один гладке волосся, а другий кучеряве, народилася глуха дитина з гладким волоссям. Їхня друга дитина добре чула і мала кучеряве волосся. Яка вірогідність дальшої появи глухих дітей з кучерявим волоссям в сім'ї, якщо відомо, що ген кучерявого волосся домінує над гладким, глухота — ознака рецесивна, і обидві пари генів знаходяться в різних хромосомах?

12. Відомо, що ген карих очей (B) домінує над геном блакитних очей (b). Рудий колір волосся (r) рецесивний щодо гена (R) нерудого волосся. Чоловік з генотипом $Bbrr$ одружується з жінкою, яка має генотип $bbRr$. Яка ймовірність народження дитини з генотипом $BbRr$?

13. У морських свинок чорний колір шерсті домінує над білим, а скуйовджена шерсть над гладенькою. Гени обох ознак знаходяться в різних хромосомах. Чорну з скуйовдженою шерстю морську свинку схрестили з білою, що теж мала скуйовджену шерсть. В потомстві отримали 13 чорних скуйовджених, 16 білих скуйовджених, 6 чорних гладеньких і 5 білих гладеньких тварин. Визначте генотипи батьків і перевірте вашу гіпотезу методом χ^2 .

Лабораторна робота №7

Тема: Генотип як цілісна система. Взаємодія неалельних генів

Мета: Сформувати поняття про генотип як складну еволюційно закріплену систему генів, взаємодія яких обумовлює формування фенотипних ознак. Ознайомитись із основними видами взаємодії неалельних генів: комплементарністю, супресією, епістазом, полімерією та плеiotропією. Впевнитись, що становлення і формування будь-якої ознаки здійснюється в організмі на всіх стадіях його індивідуального розвитку (онтогенезу) і визначається здебільшого не одним геном, а їх сукупністю, взаємодією алельних і (або) неалельних генів на молекулярному рівні. Закріпити теоретичні знання шляхом розв'язування задач.

Робота 1. Успадкування форми і забарвлення в гарбуза (*Cucurbita pepo*)

Матеріали та обладнання: плоди гарбуза сферичної форми вихідних батьківських форм; плоди гарбуза дисковидної¹ форми із гібридних рослин F₁; плоди дисковидної, сферичної, видовженої форми гарбуза рослин F₂; білі і зелені плоди гарбуза вихідних батьківських форм; білі плоди гарбуза із гібридних рослин F₁; білі, жовті і зелені плоди гарбуза рослин F₂.

Основні теоретичні відомості та методичні поради

Генотип будь-якого організму — це складна, еволюційно закріплена система генів, активність і взаємодія яких обумовлює формування фенотипних ознак різного структурно-функціонального рівня в кожний конкретний момент існування організму в певних умовах зовнішнього середовища.

Взаємостосунки між генами і ознаками мають складний і різноманітний характер. По-перше, один і той самий ген може виявляти вплив на декілька різних ознак і по-друге, відбувається взаємодія генів, коли одна і та сама спадкова ознака розвивається під впливом багатьох з них. Таким чином, фенотипне вираження більшості ознак і властивостей організму визначається в онтогенезі взаємодією багатьох генів.

Генетичний аналіз різних типів схрещувань з урахуванням розщеплення в кожному із гібридних поколінь (за фенотипними ознаками) дає можливість судити про характер дії та взаємодії генів. Якщо характер розщеплення відповідає законам Менделя, то мова йде про дигібридне чи полігібридне схрещування, і

фенотип організму визначається співвідношенням двох чи декількох пар алельних генів, тобто має місце *взаємодія алельних генів*.

Якщо характер розщеплення за фенотипом відхиляється від менделівських співвідношень, то це є достатньою підставою, щоб зробити припущення про *взаємодію неалельних генів*.

Неалельні гени — це гени, які можуть бути локалізовані в одній парі гомологічних хромосом, але в різних локусах, або можуть бути локалізовані в різних парах негомологічних хромосом.

Розрізняють такі основні види взаємодії неалельних генів: *модифікація функцій генів під впливом генів-модифікаторів, комплементарність, полімерія та плейотропія*.

Кожний із них може призвести до відхилення від менделівських формул розщеплення за фенотипом при ди-, три- та полігібридних схрещуваннях. Властиве дигібридному схрещуванню розщеплення за фенотипом 9:3:3:1 може змінитися на 9:7; 9:3:4; 12:3:1; 13:3; 15:1 тощо.

Модифікація функцій генів під впливом генів-модифікаторів може бути дуже різноманітною. До модифікаторів відносять гени, що можуть не мати власного фенотипового вияву, але модифікують прояв досліджуваної ознаки. Всі гени-модифікатори можна поділити на **гени-інтенсифікатори** та **гени-супресори**. Перші з них стимулюють функцію інших генів, а другі — пригнічують.

Одним із проявів модифікуючого впливу одних генів на інші є так звана **супресія**. Супресійні гени подавляють експресію інших генів. Якщо при цьому ген-супресор не має власного фенотипового прояву, то його позначають символом su^+ або I . Рецесивний алель цього гена має позначення su або i . Одним із прикладів супресії може бути успадкування забарвлення під час схрещування білих леггорнів з білими віандотами. В F_2 цього схрещування в результаті вільного перекомбінування гамет у процесі запліднення спостерігається розщеплення по фенотипу 13/16 білих : 3/16 чорних (13:3).

Однак нерідко буває й так, що ген, який контролює ту чи іншу ознаку, в той же час подавляє інший неалельний ген. Це явище називають **епістазом**, а гени — відповідно **епістатичними** та **гіпостатичними**.

Епістатичний тип взаємодії генів буває двох типів: **домінантний** та **рецесивний**.

Домінантний епістаз — це тип взаємодії, коли один домінантний ген пригнічує дію іншого домінантного гена. Розщеплення за фенотипом унаслідок

схрещування дигетерозиготних організмів при домінантному епістазі відбувається у співвідношенні 12:3:1.

При рецесивному епістазі, який ще називають **криптомерією**, рецесивний алель одного гена пригнічує дію алельної пари іншого гена ($cc > A$ і $cc > a$). Буває **подвійний** рецесивний епістаз, коли $aa > C$, а $cc > A$. Типове розщеплення, яке ми зможемо спостерігати при рецесивному епістазі — 9:3:4.

До **комплементарних** генів відносяться такі гени, які при спільній дії в генотипі в гомо- або гетерозиготному стані (**A_B_**) обумовлюють розвиток ознаки, що характерна для нормального дикого фенотипу. Дія ж кожного гена окремо (**A_вв** або **aaB_**) відтворює ознаку лише одного з батьків, що схрещуються.

При цьому типі взаємодії можливі такі варіанти розщеплення по фенотипу: **9:7, 9:3:3:1, 9:6:1, 9:3:4**.

При сумісній взаємодії двох рецесивних алелей у гібридів можуть з'являються ознаки не властиві вихідним формам. Таке явище називають **новоутворенням**.

Полімерія - це такий тип взаємодії неалельних генів, при якому ознака та її кількісний вираз зумовлюються декількома генами з однозначною дією. Оскільки ці гени однаково впливають на ту саму ознаку, було прийнято позначати їх однією латинською буквою з індексом для різних членів: A_1, A_2, A_3 і т.д.

Розрізняють **кумулятивну** і **некумулятивну** полімерію.

Якщо при накопиченні домінантних генів при полімерії їх дія сумується то така полімерія називається **кумулятивною**.

За типом кумулятивної полімерії успадковується чимало кількісних ознак, наприклад: пігментація шкіри (людини), удійність (корів), несучість (курей), врожайність (рослин) та інші ознаки.

При **некумулятивній** полімерії досить однієї алелі любого із двох генів, щоб викликати розвиток ознаки. У цьому випадку розщеплення по фенотипу буде у співвідношенні 15:1, 63:1, і т.д. Така полімерія характерна для успадкування оперення ніг у деяких порід курей, форми стручечка у грициків тощо.

Явище, коли один ген впливає на декілька ознак, називається **плейотропією**. Прикладом плейотропного гена в людини служить рецесивний ген, що визначає фенілкетонурію - хворобу, що призводить до серйозних

розумових порушень. Люди, гомозиготні по цьому гену, що не лікувалися, відрізняються від нормальних за рівнем вмісту фенілаланіну в крові, по коефіцієнту розумового розвитку (IQ), розміру голови, кольору волосся.

Хід роботи

1. Розглянути плоди вихідних батьківських форм гарбуза, що мають різне походження. Переконатися, що вони мають сферичну форму.

2. Розглянути плоди гарбуза, отримані від схрещування батьківських рослин із плодами сферичної форми. Переконатись, що гібридні рослини утворюють дисковидні плоди. Як пояснити розвиток нової ознаки? Записати схему схрещування.

3. Проаналізувати покоління F_2 , в якому з'являється три фенотипних класи у співвідношенні: 9 із дисковидними плодами, 6 із сферичними і 1 — з видовженими. Про що свідчить характер розщеплення? Записати схему схрещування, дати відповідні пояснення.

4. Зробити висновок про характер успадкування форми плода в гарбуза.

5. Розглянути білі і зелені плоди гарбуза вихідних батьківських форм і білі плоди гарбуза із гібридних рослин F_1 .

6. Проаналізувати покоління F_2 , в якому отримали три фенотипових класи у співвідношенні: 12 з білими плодами, 3 з жовтими і 1 із зеленими. Про що свідчить характер розщеплення? Записати схему схрещування і дати відповідні пояснення.

Робота 2. Розв'язування задач на різні типи взаємодії генів.

При розв'язуванні задач на взаємодію генів необхідно враховувати, що практично усі варіанти взаємодій, що зустрічаються у задачах, виходять із взаємодії двох пар неалельних генів, тобто з дигенного характеру успадкування ознаки. У зв'язку з цим співвідношення фенотипів у другому поколінні витікають із схеми дигібридного схрещування:

$9A-B-$;

$3A-вв$;

$3aaB-$;

$1aавв$.

Приклади

Приклад 1. У курей алель A визначає горохоподібний гребінь, B — трояндоподібний: за сумісного перебування в генотипі алелей A і B гребінь горохоподібний. Взаємодія двох рецесивних алелей дає простий гребінь. Від схрещування півня й курки з горохоподібним гребенем в F_1 9/16 курчат мали горохоподібний гребінь, 3/16 — горохоподібний, 3/16 — трояндоподібний, 1/16 — простий. Поясніть це генетичною схемою.

Дано:

P: ♀ горохоподібний × ♂ горохоподібний

F_1 : 9/16 горохоподібних; 3/16 трояндоподібних; 3/16 горохоподібних;
1/16 простий

Успадковування ?

Розв'язок

1. Розщеплення в першому поколінні свідчить про гетерозиготність батьків і відповідає комплементарній взаємодії генів.

2. Оскільки розщеплення 9:3:3:1, то генотипи батьківських організмів — дигетерозиготні.

3. A — горохоподібний гребінь AB — горохоподібний

B — трояндоподібний ab — простий

P: ♀ $AaBb$ × ♂ $AaBb$

Гамети: ♀ AB, Ab, aB, ab ♂ AB, Ab, aB, ab

F_1 : 9/16 $A-B-$ — горохоподібний гребінь,

3/16 $A-вв$ — трояндоподібний,

3/16 $aaB-$ — горохоподібний,

1/16 $aавв$ — простий.

Відповідь. Спостерігається комплементарна взаємодія генів. Генотип батьків — $AaBb$.

Приклад 2. Від схрещування двох сортів кукурудзи, що виростили з білих зернівок гібриди першого покоління мали білі зернівки. У другому поколінні 138 рослин мали білі, а 39 — пурпурові зернівки. Як успадковується колір зернівок у кукурудзи?

Дано:

P: ♀ білі x ♂ білі

F₁: білі

F₂: 138 білі : 39 пурпурові

Успадковування ?

Розв'язок

1. Характер успадкування і розщеплення 13:3 у другому поколінні вказує на взаємодію генів при якій один з генів є супресором.

2. Наявність трьох частин рослин з пурпуровим насінням свідчить про контролювання цієї ознаки домінантним геном *A*.

3. За білий колір зернівок відповідає або рецесивний ген, або він утворюється при наявності в генотипі гена-інгібітора (*A_I_*).

4. Розщеплення на 16 частин у другому поколінні свідчить про дигетерозиготність рослин першого покоління — *AaIi*, отже генотипи вихідних сортів були: *AAII* і *aaII*.

5. Гібриди першого покоління утворюють 4 типи гамет (*AI*, *Ai*, *aI*, *ai*) і внаслідок схрещування між собою в другому поколінні виникає розщеплення:

9/16 *A-I-* - білі

3/16 *aaI-* - білі

3/16 *A-ii* — пурпурові

1/16 *aaII* – білі, що відповідає розщепленню 13/16 білі:3/16 пурпурові.

Відповідь. Колір зернівок у кукурудзи контролюється двома парами генів, при взаємодії яких між собою спостерігається явище супресії.

Приклад 3. У курей оперення ніг визначається домінантними генами. Внаслідок схрещування двох порід курей з опереними і неопереними ногами в F₁ усі кури мали оперені ноги, а в F₂ з'явилося розщеплення: 15/16 оперених : 1/16 неоперена. Поясніть результати схрещування.

Дано:

P: ♀ оперені x ♂ неоперені

F₁: оперені

F₂: 15/16 оперені : 1/16 неоперені

Успадковування ?

Розв'язок

1. Розщеплення в другому поколінні відповідає успадкуванню двох пар генів при некумулятивній полімерії. Отже, оперення контролюється двома домінантними генами, а відсутність оперення контролюється рецесивними алелями, відповідно, a_1 і a_2 .

2. Оскільки організми в породі є гомозиготними, то генотипи батьків будуть відповідно — ♀ $A_1A_1A_2A_2$ і ♂ $a_1a_1a_2a_2$, а в першому поколінні утворюється гібрид з генотипом $A_1a_1A_2a_2$.

3. Схрещування двох гібридів F₁ між собою дає:

♀ $A_1a_1A_2a_2$ × ♂ $A_1a_1A_2a_2$

Гамети: ♀ $A_1A_2, A_1a_2, a_1A_2, a_1a_2$

♂ $A_1A_2, A_1a_2, a_1A_2, a_1a_2$

F₂: 9/16 $A_1- A_2-$ - оперені

3/16 $A_1-a_2a_2$ – оперені

3/16 $a_1a_1A_2-$ - оперені

15/16

1/16 $a_1a_1a_2a_2$. — неоперені

Відповідь. Оперення ніг у курей контролюється двома парами генів, які взаємодіють між собою за принципом некумулятивної полімерії.

Запитання для самоконтролю

1. Які гени називаються алельними? Неалельними?
2. Що називають комплементарною (доповнюючою) дією генів?
3. Що таке новоутворення? Приведіть приклади.
4. Які гени називають супресійними.
5. Що називається епістатичною дією генів? Назвіть відомі вам типи епістазу.

6. Що таке кумулятивна полімерія? Наведіть приклади.

Задачі і вправи

1. У певних сортів томатів червоне забарвлення плодів спостерігається за наявності в генотипі двох домінантних незчеплених генів (R і C). Ген R визначає оранжеве забарвлення плодів, ген C — жовте забарвлення плодів. Рецесивна дигомозигота має проміжне (жовто-оранжеве) забарвлення плодів. Визначити фенотип потомства, одержаного від схрещування дигібридних рослин між собою.

2. У певних порід свиней спостерігається різне забарвлення щетини: пісочне, червоне і біле. Пісочне забарвлення щетини є рецесивною ознакою по відношенню до червоного забарвлення щетини. Від схрещування свиней, у яких пісочна щетина, з такими ж кнурами з явилися гібриди з червоною щетиною ($AaBb$). У потомстві від цих гібридів отримано 216 поросят з червоною щетиною, 144 з пісочною і 24 поросят з білою щетиною. Записати схему схрещування, встановити генотипи вихідних батьківських форм і гібридів другого покоління відповідно до вказаних фенотипів. Зазначені гени незчеплені.

3. У собак кокер-спанієль ген A визначає руду масть, ген B — коричневу. Спільна дія цих незчеплених генів (A і B) обумовлює чорну масть. Дигомозиготи за рецесивними алелями мають світло-жовту масть. Від схрещування чорних дигетерозиготних самок з такими ж псами одержали 64 цуценят. Визначити (теоретично) кількісне співвідношення цуценят за мастю.

4. У деяких видів папуг забарвлення пір'я визначається двома парами неалельних генів. Сполучення двох домінантних генів (A і D) визначає зелене забарвлення, наявність одного з домінантних генів — жовте (A) або блакитне (D) забарвлення. Птахи з генотипом $aadd$ мають біле пір'я. При схрещуванні гетерозиготних жовтих папуг з гетерозиготними блакитними папугами одержано 36 папужок. Скільки серед них (теоретично) зелених папужок?

5. У людини одна з форм спадкової глухоти визначається двома рецесивними алелями різних генів p і d . Нормальний слух визначається наявністю двох домінантних алелей P і D . Ген P визначає розвиток завитки, а ген D — розвиток слухового нерва. В сім'ї глухих батьків є троє дітей з нормальним слухом. Установити генотипи батьків.

6. Чорна масть коней визначається домінантним геном D , руда — його рецесивною алеллю d . Домінантний ген B пригнічує обидві ці алелі і зумовлює сіру масть. а) У табуні є 73 сірих лошат, 19 чорних і 6 рудих. Вихідні батьківські

форми мали сіру масть. Установити їхній генотип. Якій формулі відповідає це розщеплення і про що воно свідчить? б) Проведено схрещування сірих дигетерозигот з чорними гетерозиготними особинами. Яка ймовірність появи в потомстві рудих лошат? Зазначені гени не зчеплені.

7. У грициків форма плодів залежить від двох пар полімерних генів A_1A_1 і A_2A_2 . Рослина, яка має хоча б один доміантний ген (A_1 чи A_2), утворює плоди трикутної форми, що не відрізняються за формою плодів від рослин, які мають два, три і чотири доміантних гени. Рослини, які зовсім не мають доміантного гена ($a_1a_1a_2a_2$) утворюють плоди яйцевидної форми. Схрестили рослини, дигетерозиготні за генами A_1 і A_2 . Визначити розщеплення в F_1 за фенотипом.

8. Вівці однієї породи мають довжину шерсті в середньому 40 см, а іншої — 10 см. Уявимо, що різниця між цими породами залежить від трьох пар генів із однозначною дією. Якими будуть F_1 і F_2 ?

9. Схрещуються дві лінії норок сірого і світло-коричневого кольорів. У гібридів першого покоління коричневе забарвлення хутра. А в F_2 спостерігається розщеплення: 46 коричневих, 16 світло-коричневих, 14 сірих і 5 кремових. Як успадковуються ці кольори?

10. Зеленозерний сорт жита при схрещуванні з білозерним дає в першому поколінні зелене насіння, а в другому — 89 зелених насінин, 28 жовтих і 39 білих. Як успадковується забарвлення зернівок у жита?

Лабораторна робота №8

Тема: Хромосомна теорія спадковості. Зчеплене успадковування

Мета: Ознайомитись з особливостями зчепленого успадковування генів. Впевнитись, що кросинговер спричиняє появу нових комбінацій генів. Сформувати поняття про групу зчеплення, частоту кросинговеру, інтерференцію. Впевнитись, що відсоток кросинговеру є мірою відстані між генами. Закріпити теоретичні знання шляхом розв'язування задач.

Робота 1. Вивчення зчепленого успадковування забарвлення і форми зерна у кукурудзи

Матеріал: початки кукурудзи від аналізуючого схрещування кременистої форми із забарвленими гладенькими зернівками і зубовидної форми із світлими зморшкуватими зернівками.

Основні теоретичні відомості та методичні поради

Структурною і функціональною одиницею спадковості, згідно з сучасними уявленнями, є ген. Місце локалізації генів — хромосоми. Однак число хромосом у кожному організмі відносно мале (2-1600), а генів значно більше. Отже, кожна хромосома повинна містити багато генів, що і було доведено численними генетичними і цитологічними дослідженнями.

Відомо, що хромосоми успадковуються як єдине ціле. Тому і гени які локалізовані у одній хромосомі, як правило, успадковуються разом. Гени, локалізовані в одній хромосомі, складають одну групу зчеплення. А спільне успадкування генів, які складають групу зчеплення, називається зчепленим успадковуванням генів.

Явище зчеплення генів було виявлене у 1906 р. В. Бетсоном і Р. Пеннетом у дослідах із запашним горошком. Пояснення ж воно набуло пізніше у працях Т. Моргана та його співробітників (А. Стертевант, Г. Мьоллер, К. Бріджес). Закономірності зчепленого успадковування викладені у створеній цими вченими хромосомній теорії спадковості, основні положення якої наступні:

1. Хромосоми є носіями спадкової інформації.
2. Гени є елементарними одиницями спадковості, вони знаходяться в хромосомах в лінійному порядку. Кожний ген має своє певне місце у хромосомі - локус.

3. Хромосоми по своїй довжині дискретні, вони складаються із генів, які утворюють групу зчеплення і успадковуються разом - зчеплено. Число груп зчеплення дорівнює гаплоїдній кількості хромосом каріотипу.

4. Зчеплення порушується кросинговером. Кросинговер - це обмін гомологічними ділянками гомологічних хромосом. Величина кросинговеру вимірюється відсотком кросоверних особин в аналізуючому схрещуванні, який відображає відстань між генами, так як частота кросинговеру є функцією відстані між генами.

5. Кросинговер - явище нормальне, закономірне, таке що виникло у процесі еволюції на противагу зчепленню генів у колосальні блоки - хромосоми і забезпечує рекомбінацію генів, дякуючи чому виникають рекомбінантні організми з поєднанням ознак, які дозволяють краще пристосуватися до змінних умов середовища, збільшуючи тим самим ефективність природного добору.

Для вивчення частоти перехрещення генів обов'язково беруть гібридну форму. Кросинговер буває лише тоді, коли гени перебувають у гетерозиготному стані ($AB//ab$). Якщо гени у гомозиготному стані ($AB//AB$ чи $ab//ab$), обмін ідентичними ділянками не дає нових комбінацій генів у гаметах і в поколінні. Далі перше гібридне покоління повторно схрещують з рецесивною гомозиготною формою. Річ у тому, що рецесивна гомозигота дає лише один тип гамет з рецесивними генами, тому фенотип нащадків F_2 визначається типом яйцеклітини, яка бере участь у схрещуванні. Отже, за фенотипом нащадків виявляють тип генів у статевих клітинах досліджуваного гібрида. Частота (відсоток) перехрещення між генами залежить від відстані між ними: чим далі вони містяться один від одного, тим частіше здійснюється кросинговер. Особини, що розвиваються з кросоверних (рекомбінантних) гамет, називаються кросоверами (рекомбінантами). Виникають рекомбінантні особини з такою самою ймовірністю, як і кросоверні гамети. І відповідно, особини, що розвиваються з некросоверних гамет, називають некросоверами (нерекомбінантами).

Т. Морган запропонував відстань між генами виражати кросинговером у процентах, який обчислюють за формулою $\frac{(n1 \times 100)}{n} = \% \text{ кросинговера}$, де n — загальна кількість особин у F_2 , $n1$ — сумарне число кросоверних особин.

Відстань між генами в 1% кросинговера дорівнює 1 морганіді або 1 сантиморгану (умовна міра відстані між генами). У тих випадках, коли немає можливості одержати полігомозиготу за рецесивними генами або коли перше гібридне покоління нечисленне (у малонасінних рослин і багатьох тварин), для вивчення сили зчеплення застосовують метод обліку частин рецесивних

гомозигот безпосередньо серед нащадків F₂. Наприклад, від схрещування гомозигот *Ab//Ab* і *aB//aB* в першому поколінні маємо одержану гетерозиготу за двома ознаками — *Ab//aB*, а в другому — чотири фенотипних класи у співвідношенні: 495 : 234 : 263 : 5 (усього 997). Останні п'ять форм мають подвійні рецесивні ознаки (*ab//ab*), які могли виникнути лише від запліднення жіночої гамету типу *ab/* спермієм *ab/*, тобто внаслідок кросинговера.

Визначаємо відсоток кросоверних форм:

$$997 \text{ — } 100\%$$

$$5 \text{ — } x$$

$x = (5 \times 100) : 997 \approx 0,5 \%$, або 0,005 одиниці, - звідки число кросоверних гамет *ab/* дорівнює $\sqrt{\frac{ab}{ab}}$, тобто $\sqrt{0,005} = 0,07$, або 7% (злиття 0,07 яйцеклітин з 0,07 сперміями дає 0,005 зигот).

Якщо кросоверних гамет типу *ab/* утворилося 7%, то й кросоверних гамет типу *AB/* теж 7%, а загальна кількість перехрещених генів становить 14%.

Для вивчення явищ зчеплення генів і кросинговеру на лабораторних заняттях зручними об'єктами є дрозофіла (успадкування ознак *black* — *vestigial* при повному і неповному зчепленні) і кукурудза. У кукурудзи можна простежити успадкування двох пар зчеплених генів, які зумовлюють забарвлення і форму поверхні зерна.

У кукурудзи алельні гени *C* — *c* визначають забарвлення алейронового шару у зернівок. Якщо в генотипі є домінантний ген *C*, зернівки забарвлені у ліловий або червонуватий колір. Коли в генотипі домінантного гена немає (*cc*), алейроновий шар безбарвний, зернівки набувають світлого забарвлення ендосперму (білого, жовтого). Домінантний ген сам по собі не детермінує лілового забарвлення зернівок, але його присутність потрібна для виявлення цього кольору.

Алельні гени *S* — *s* зумовлюють форму і поверхню зернівок. Генотип з домінантним геном *S* має опуклу форму зернівок з гладенькою поверхнею, а гомозиготний рецесив *ss* — стиснуту з боків і вдавлену посередині форму із зморшкуватою поверхнею. Гени *C* — *c* і *S* — *s* містяться в одній парі хромосом і передаються за спадковістю у зчепленому стані.

Хід роботи:

1. Взяти кілька початків кукурудзи F_b і визначити забарвлення і форму зернівок. В кожному початку підрахувати кількість зернівок з різним сполученням ознак і записати результати в таблицю:

№ початка	Насіння F_b				
	забарвленого гладенького	світлого зморшкуватого	забарвленого зморшкуватого	світлого гладенького	усього

2. Установити характер зчеплення досліджуваних ознак кукурудзи.

При повному зчепленні двох генів, що зумовлюють забарвлення і форму зернівок, серед нащадків F_b утворюється два фенотипових класи, які відповідають батьківським формам:

Р: ♀ $CS//cs$ x ♂ $cs//cs$

Гамети: ♀ $CS/$, $cs/$ ♂ $cs/$

F_b : $CS//cs$ $cs//cs$

Забарвлене Світле

гладеньке зморшкувате

Установлено, що гени забарвлення і форми зернівок кукурудзи розміщені в хромосомі близько один від одного, що зменшує частоту перехрещення між ними.

Якщо є перехрещення хромосом, у гетерозиготних рослин $CS//cs$, крім некросоверних гамет $CS/$ і $cs/$, утворюються кросоверні - $Cs/$ і $cS/$, тому нащадки F_b утворюють чотири класи. У всіх випадках, коли має місце кросинговер, класи утворюються в нерівному числовому співвідношенні. Кросовери становлять невеликий відсоток загальної кількості нащадків.

Р: ♀ $CS//cs$ x ♂ $cs//cs$

Гамети: ♀ $CS/$, $/cs$ – некросоверні; $Cs/$, $cS/$ - кросоверні

♂ $cs/$

F_b : $CS//cs$ $cs//cs$ $Cs//cs$ $cS//cs$

Забарвлене Світле Забарвлене Світле

гладеньке зморшкувате зморшкувате гладеньке

3. Коли є кросоверні нащадки, обчислити відсоток перехрещення. Для цього сумарне число кросоверів помножити на 100 і отримане число розділити на загальну кількість зернівок F_2 .

Розв'язування задач на зчеплення генів і кросинговер

Досить часто в задачах на зчеплене успадкування генів ставиться питання: як успадковуються гени або ознаки — зчеплено чи незалежно? Про наявність або відсутність зчеплення свідчить числове розщеплення в потомстві. Якщо фенотипові класи утворилися в рівному співвідношенні, то має місце вільне сполучення ознак у нащадків, а гени, які контролюють ці ознаки, — незчеплені. Якщо ж серед нащадків з'являються рекомбінантні особини (причому їх завжди мала кількість), значить, гени зчеплені.

Приклад 1. Особину, гомозиготну за генами A і B , схрещено з рецесивною за обома генами формою. Гібридів першого покоління знов схрестили з подвійним рецесивом. Від цього одержали: 902 AB , 98 Ab , 102 aB і 892 ab . Поясніть ці результати. Як успадковуються гени A і B по відношенню один до одного?

Розв'язок

1. У потомстві від аналізуючого схрещування утворилося 4 фенотипних класи, але не в рівному співвідношенні. Якщо б гени A і B успадковувалися незалежно, то в цьому схрещуванні слід було б чекати розщеплення 1:1:1:1.

2. Переважання форм з фенотипами батьків свідчить про зчеплене успадкування, а поява рекомбінантів типу Ab і aB пояснюється кросинговером, що відбувся між генами A і B .

3. Розписуємо генетичну схему:

$$P: \text{♀ } AB//AB \times \text{♂ } ab//ab$$

$$\text{Гамети: } \text{♀ } AB/ \quad \text{♂ } ab/$$

$$F_1: AB//ab$$

Схрещування на F_2 :

$$\text{♀ } AB//ab \times \text{♂ } ab//ab$$

$$\text{Гамети: } \text{♀ } Ab/, aB/ - \text{ кросоверні; } AB/, ab/ - \text{ некросоверні}$$

$$\text{♂ } ab/$$

$$F_2: AB//ab, \quad ab//ab, \quad Ab//ab, \quad aB//ab$$

Відповідь. Гени A і B успадковуються зчеплено, але зчеплення неповне і виникає кросинговер.

Приклад 2. У томатів високе стебло домінує над карликовим, а куляста форма плода над грушоподібною. Гени, які контролюють ці ознаки, розміщені на відстані 20 морганід. Гетерозиготну високу рослину з кулястими плодами схрестили з карликовою рослиною, що має грушоподібні плоди. Визначте співвідношення різних фенотипів у цьому схрещуванні.

Розв'язок

1. За умовами задачі: A — високий зріст, a — карликовий, B — кулясті плоди, b — грушоподібні. Гени зчеплені, отже генотипи батьків $AB//av$ і $av//av$.

2. Оскільки віддаль між генами 20 морганід, то кросинговер відбувається у 20% випадків.

3. Дигетерозигота $AB//av$ утворює 4 типи гамет у співвідношенні: 80% некросоверних і 20% кросоверних.

4. $P: \text{♀} AB//av \quad \times \quad \text{♂} av//av$

Гамети $\text{♀} AB/, av/$ — 80%; $Av/, aB/$ — 20%

некросоверні

кросоверні

$\text{♂} av/$ — 100%

$F_1: AB//ab, av//av, Av//av, aB//ab$

40% 40% 10% 10%

Відповідь. Співвідношення фенотипів буде: 40% — високі кулясті, 40% — карликові грушоподібні, 10% — високі грушоподібні, 10% — карликові кулясті.

При розв'язуванні задач на зчеплене успадкування слід пам'ятати, що у самців дрозофіли та самок шовкопряда кросинговер не відбувається.

Приклад 3. У дрозофіли відстань між двома генами A і B — 12 морганід. Якими будуть нащадки від схрещування рецесивної самки та самця з генотипом $AB//av$?

Розв'язок

Відомо, що в самців дрозоділи між генами спостерігається повне зчеплення, таким чином, самець утворює 2 типи гамет — AB і ab , а самка лише один тип — ab . Отже, в F_1 50% особин матиме генотип $AB//ab$, а 50% $ab//ab$.

Відповідь. У нащадків половина особин буде з фенотипом матері, а половина — з фенотипом батька.

Відсоток кросинговера визначає відстань між генами і дає можливість скласти генетичну карту, тобто встановити розміщення і локуси генів у хромосомі. За генетичною картою, коли вже відома відстань між зчепленими генами, можна визначити кількість рекомбінантів серед нащадків. Цим питанням також присвячуються задачі з даної теми.

Приклад 4. Визначте генотип батьківської форми, порядок розташування генів і величину перехреста (у %), якщо в аналізуючому схрещуванні одержані такі результати:

AvC — 104	aBC — 5	abc — 180	Av — 5
aVc — 109	abC — 191	AVc — 221	ABC — 169

Розв'язок

1. Нерівне співвідношення різних фенотипів свідчить про неповне зчеплення генів і перехрест хромосом, що відбувся.

2. Оскільки форм AVc і avC найбільша кількість, то можна зробити висновок, що вони є основними (утворилися з некросоверних гамет), решта форм — рекомбінанти. Отже, генотип вихідної тригетерозиготи — $AVc//avC$.

3. Форми aBC і Abc , оскільки їх дуже мало, утворилися внаслідок подвійного кросинговеру.

4. Унаслідок перехресту хромосом між генами A і V утворюються генотипи aVc і AbC , таким чином, відстань між цими генами, враховуючи подвійний кросинговер, буде: $(109 + 104 + 10) : 984 \times 100\% = 22,66\%$.

5. Від кросинговеру між генами V і C утворюються генотипи AVC і abc . Знаходимо відстань між цими генами:

$$(169 + 180 + 10) : 984 \times 100\% = 36,48\%.$$

Відповідь. Генотип вихідної гетерозиготної форми: $AVc//avC$. Відстань між генами A і V дорівнює 22,66%, а між генами V і C — 36,48%.

Запитання для самоконтролю

1. Які гени називаються зчепленими? Що таке група зчеплення?
2. Які факти, отримані при вивченні зчеплення і кросинговеру між генами, підтверджують хромосомну теорію спадковості?
3. Опишіть основні принципи побудови генетичних карт.
4. Чи впливає проходження кросинговеру на одній ділянці на кросинговер в інших ділянках? Що таке інтерференція?
5. Від чого залежить число кросоверного потомства?

Задачі і вправи

1. Із 1000 клітин-попередників статевих клітин у процесі мейозу кросинговер відбувся у 100 вихідних клітинах. Який відсоток кросоверних гамет дає особина з генотипом $AB//ab$?

2. У чотирьох гетерозиготних особин утворюються такі типи гамет:

а) AB — 40%, Ab — 10%, aB — 10%, ab — 40%;

б) AB — 50%, ab — 50%;

в) AB — 25%, Ab — 25%, aB — 25%, ab — 25%;

г) AB — 15%, Ab — 35%, aB — 35%, ab — 15%.

Який тип успадкування в кожному з випадків?

3. Самка і самець дрозофіли мають однакові генотипи $AB//ab$. Гени A і B дають 12% кросинговера. Випишіть типи гамет самки і самця і вкажіть кількісні співвідношення їх.

4. У кролів плямистість домінує над суцільним забарвленням, а нормальна шерсть — над ангорською. Схрещено плямистого нормальношерстого кроля з суцільно забарвленою ангорською кролицею. Гібридів першого покоління знову схрестили з суцільними ангорськими кролями. Від цього одержано 26 плямистих ангорських кроленят, 144 суцільних ангорських, 157 плямистих з нормальною шерстю і 23 суцільних нормальношерстих. Як успадковуються плямистість і довжина шерсті по відношенню одна до одної?

5. Схрещено дві лінії мишей: в одній тварини мають хвилясту шерсть нормальної довжини, у другій — пряму й довгу. Гібриди першого покоління мають шерсть пряму і нормальну. В аналізуючому схрещуванні цих гібридів одержали таке розщеплення: 27 мишенят мали шерсть нормальну пряму, 99 — нормальну хвилясту, 98 — довгу пряму, 24 — довгу хвилясту. Як успадковуються ці дві пари ознак?

6. У кукурудзи гени скрученого листя (*c*) і карликовості (*d*) розміщені в локусах 0 і 18 третьої хромосоми. Схрещували рослини *CCdd* і *ccDD*. Визначити: а) генотипи і фенотипи рослин F_1 ; б) очікуване співвідношення фенотипових класів в F_2 .

7. Рослина кукурудзи, гетерозиготна по трьох парах генів, схрещена з рослиною, гомозиготною за рецесивними алелями цих генів. В одержаному потомстві спостерігалось наступне співвідношення фенотипів:

A-B-C- - 113, *aabbC-* - 64, *aabbcc* - 105,

A-B-cc - 70, *A-bbC-* - 17, *aaB-cc* - 21.

Визначити порядок розміщення цих генів в хромосомі і відстань між ними в одиницях перехресту.

8. В результаті аналізуючого схрещування одержано наступне співвідношення фенотипів: *X-Y-Z-* - 30, *xxY-zz* - 15, *X-Y-zz* - 172, *xxууZ-* - 172, *X-ууZ-* - 17, *xxууzz* - 28, *X-ууzz* - 2, *xxY-Z-* - 3.

Вкажіть порядок розміщення генів в хромосомі і відстань між ними в одиницях перехресту.

9. Гени *B* і *C* зчеплені і перехрест між ними становить 24%, ген *D* знаходиться в другій групі зчеплення. Які гамети і в якому співвідношенні утворюються в особин з такими генотипами: а) *BC//bc Dd*; б) *Bc//bC dd* ?

10. У здорової жінки народилося чотири сини: один — гемофілік і дальтонік, два — гемофіліки, але розрізняють кольори нормально, а один — нормальний за двома ознаками. Який найбільш ймовірний генотип цієї жінки?

Лабораторна робота №9

Тема: Генетика статі. Успадкування ознак, зчеплених зі статтю

Мета: Сформувати поняття про стать, нестатеві (аутосоми) і статеві хромосоми, а також хромосомний механізм визначення статі. Ознайомитись з особливостями успадкування ознак, гени яких локалізовані в статевих хромосомах. Сформувати уявлення про гемізіготний стан гену. Оволодіти методикою визначення статі за наявністю статевого хроматину. Закріпити теоретичні знання шляхом розв'язування задач.

Робота 1. Визначення статі за наявністю статевого хроматину.

Матеріал і обладнання: мікроскоп, маленькі шпатель, предметні і накривні стекла, марлеві серветки, вата, фіксатор Карнуа, ацетоорсеїн.

Основні теоретичні відомості та методичні поради

Стать - це сукупність ознак і властивостей організму, що забезпечують відтворення нащадків і передачу спадкової інформації. Стать, як і будь-яка інша ознака організму, спадково детермінована. Важлива роль у генетичній детермінації статі і в підтриманні закономірного співвідношення статей належить хромосомному апарату. Для кожного виду тварин і дводомних рослин властива приблизно рівна кількість особин чоловічої і жіночої статей, тобто співвідношення статі близьке до розщеплення 1:1.

У хромосомному наборі соматичних клітин переважної більшості організмів розрізняють **нестатеві** і **статеві** хромосоми. *Нестатеві хромосоми* — це парні (гомологічні) хромосоми, однакові в кількісному і якісному відношенні у жіночої і чоловічої статі кожного виду. Вони одержали назву **аутосом** і позначаються великою літерою А. Хромосоми, за якими відрізняються особини чоловічої і жіночої статей, мають назву *статевих хромосом*. Виявлено два різновиди статевих хромосом, із яких один різновид позначається як **X**-хромосома, а другий — як **Y**-хромосома. У певної статі такі хромосоми можуть бути однаковими або різними, як у якісному, так і в кількісному відношенні.

Залежно від співвідношення статевих хромосом у соматичних клітинах, а отже, і типів гамет, розрізняють **гомо- і гетерогаметну** стать. Стать, яка в хромосомному наборі має дві однакові статеві хромосоми і продукує один тип гамет, називається *гомогаметною* статтю. Стать, яка в хромосомному наборі має дві різні статеві хромосоми або тільки одну статеву хромосому і продукує два

типи гамет, називається *гетерогаметною* статтю. Гомогаметність жіночої статі (XX) характерна для всіх ссавців, більшості земноводних, певної частини риб, ракоподібних, більшості комах, черв'їв, більшості дводомних рослин. Чоловіча стать у них є гетерогаметною XY.

У птахів, плазунів, деяких земноводних, частини риб, комах (метелики, волохокрильці), небагатьох дводомних рослин жіноча стать — гетерогаметна, а чоловіча стать — гомогаметна. У таких випадках X-хромосому позначають літерою Z; а Y-хромосому — літерою W. Жіноча стать позначається в такому випадку ZW, чоловіча— ZZ.

Відмінності за статевими хромосомами у представників одного і того ж виду можуть бути не тільки якісними, але і кількісними. Так, у самців деяких морських черв'їв, клопів, сімейних перетинчастокрилих у хромосомному наборі відсутня Y-хромосома. Проте, і у цих тварин, як і в більшості організмів, гомогаметною є жіноча стать (XX), а гетерогаметною — чоловіча стать (XO).

У роздільностатевих організмів домінуючим типом визначення статі є сингамний тип при якому стать майбутнього організму визначається в момент запліднення і найчастіше залежить від типу гамет, що зливаються.

У організмів із сингамним типом визначення статі ознака статі є менделюючою і підпорядковується закономірностям аналізуючого схрещування:

P: ♀XX × ♂XY

Гамети: ♀ X ♂ X, Y

F: XX; XY

1 : 1 (50% самок і 50% самців)

Роботами американського вченого Т. Моргана та його співробітниками доведено, що в статевих хромосомах можуть бути локалізовані гени будь-яких ознак, не пов'язаних із визначенням статі. Характер успадкування цих генів зумовлений поведінкою статевих хромосом у мейозі та при заплідненні.

Успадкування ознак, гени яких знаходяться в статевих хромосомах, називається *успадкуванням, зчепленим із статтю*. Ознаки, зчеплені з X-хромосомою, успадковуються за принципом „хрест-нахрест" (кріс-крос): синам — від матері, дочкам — від батька, оскільки X-хромосому батько передає лише дочкам. Ознаки, зчеплені з Y-хромосомою, зустрічаються винятково в осіб чоловічої статі, бо Y-хромосому від батька успадковують лише сини (за умов гетерогаметності чоловічої статі). Ознаки, зчеплені з Y-хромосомою, називаються

голандричними. Серед них — людина-дикобраз, синдактилія, безплідність, поява гонадобластом тощо.

Незбалансованість за статевими хромосомами виявляється на основі аналізу статевого хроматину. Статевий хроматин (тілець Барра), який має вигляд брилок (у людини розміром $0,7 \times 1,2$ мкм), що зосереджені під ядерною оболонкою, вперше виявив у 1949 році **М. Барр** в ядрах нервових клітин кішок. У котів таких брилок не було, через що ця структура і одержала назву **статевого хроматину** або **тільця Барра**. Пізніше він був знайдений у різних тканинах і органах хребетних тварин, в т. ч. людини, в безхребетних і навіть у рослин. Виявлено, що у хребетних він появляється в онтогенезі не раніше стадії гастрული, але до того як закладаються гонади. Важливою особливістю статевого хроматину є те, що між кількістю тілець Барра і кількістю X хромосом в ядрі існує прямий взаємозв'язок: кількість тілець завжди на одиницю менша кількості X-хромосом.

Через 10 років **С. Оно** прийшов до висновку, що тілець Барра формується з однієї X-хромосоми в кожній соматичній клітині в самок ссавців.

У 1961 році **М. Лайон** встановила, що статевий хроматин в інтерфазних ядрах обумовлений спіралізацією однієї з X хромосом, інактивация якої є механізмом, що вирівнює баланс генів статевих хромосом в особин жіночої і чоловічої статі. Одна з X-хромосом інактивується: вона набуває компактний стан у результаті чого число доз X- хромосомних генів у самців і самок зрівнюється і складає одну дозу. Інактивована X-хромосома гетерохроматизована і транскрипційно неактивна протягом усього клітинного циклу; вона реплікується в пізній S-фазі, пізніше аутосом і активної X-хромосоми.

Цей процес інактивации X-хромосом у самок ссавців був названий **лайонізацією**. Лайонізація X-хромосоми, тобто її перетворення в тілець Барра відбувається в ранньому ембріональному розвитку.

Якщо у жінок в ядрі клітини декілька X-хромосом, то в клітинах декілька тілець Барра і активною залишається лише одна X-хромосома. (XXX - два тільця Барра; XXXY - два тільця Барра.) X-хромосома інактивується не вся. Частина короткого плеча залишається генетично активною.

Цікаво, що у дрозофіли існує інший механізм компенсації дози генів; у самця дрозофіли додатково активується єдина X-хромосома до рівня двох X-хромосом самки.

Статевий хроматин легко виявляється під мікроскопом, а тому по наявності чи відсутності тільця Бара можна діагностувати деякі випадки спадкових захворювань (синдроми Шерешевського - Тернера, Клайнфельтера, трисомії X). Зробити це можна шляхом *амніоцентезу* — дородового діагнозу,

який дозволяє встановити стать плоду і наявність у нього цитологічного або біохімічного дефекту, що є причиною важких спадкових захворювань. Плід розвивається в амніотичній рідині. З нього злущуються клітини, які можна з допомогою шприца відсмоктати разом з рідиною. Після цього їх розмножують в стерильному поживному середовищі і використовують для цитоаналізів та біохімічних досліджень.

Якщо діагноз важкого захворювання плоду поставлений, жінка може прийняти рішення про аборт, адже амніоцентез проводиться тоді, коли вік плоду не перевищує двох-трьох місяців.

Статевий хроматин у людей також визначають методом вивчення ацетоорсеїнових препаратів епітеліальних клітин ротової порожнини.

Хід роботи

1. Видалити зі слизової оболонки щоки клітини, у яких статевий хроматин не виявляється. Для цього обстежуваний має обкусати щоку і сполоснути рот водою. Якщо з якихось причин він не може цього зробити, слід протерти йому рот марлевою серветкою.
2. Взяти зіскоб епітелію слизової оболонки щоки. Роблять це бічною стороною шпателя, попередньо простерилізованого кип'ятінням або спиртом. Найкраще для цього підходить гістологічний шпатель, що має загнутий і злегка відточений кінець.
3. Розподілити зіскоб (білуватий наліт) коловими рухами шпателя по поверхні чистого сухого предметного скла, так щоб клітини розташувались рівномірно, тонким шаром.
4. Не даючи мазку підсохнути, занурити предметне скло у фіксатор Карнуа. Фіксувати півгодини.
5. Мазок вийняти і підсушити на повітрі. Такий мазок можна зберігати невизначено тривалий час.
6. Нанести на мазок краплю ацетоорсеїну, накрити накривним скельцем. Витримати препарат близько хвилини, покрити його фільтрувальним папером і злегка натиснути на накривне скельце для видалення надлишку барвника.
7. Помістити препарат під мале збільшення мікроскопу і знайти скупчення клітин, після чого перейти на імерсійний об'єктив зі збільшенням 90×.

8. Виконати облік ядер з брилками статевого хроматину. Тільця Барра прилягають до ядерної мембрани і помітні у вигляді її потовщення. Вони можуть мати трикутну, овальну, прямокутну, сочевицеподібну та іншу форму.

9. Установити відсоток клітин, які містять статевий хроматин. При цьому слід підрахувати не менше 100 інтерфазних ядер.

10. Отримані результати занести в таблицю:

№ п/п	Препарат	Знайдено клітин		Частота клітин зі статевим хроматином, %
		Всього	З тільцями Барра	

У жінок статевий хроматин буває в 20-60% ядер. У решті ядер він не виявляється у зв'язку з певним станом клітин. Кількість брилок статевого хроматину в клітинах дорівнює числу X-хромосом без однієї. Отже, у жінок в нормі в кожному ядрі повинно бути одне тільце статевого хроматину. У чоловіків статевого хроматину практично немає (в окремих випадках буває незначна кількість).

Робота 2. Розв'язування задач на зчеплене зі статтю успадкування

При розв'язуванні задач на успадкування ознак, зчеплених зі статтю, треба пам'ятати, що Y-хромосома є генетичне інертною, тобто здебільшого не містить алелей генів, які перебувають в X-хромосомі. Такий стан (X^AY або X^aY), як уже вказувалося, називається гемізіготним. Він спричинює цікаве явище, яке дістало назву кріс-крос успадкування, коли ознака від матері передається синові, а від батька — дочці. Не треба забувати також, що у птахів гомогаметною статтю є чоловіча, а гетерогаметною — жіноча.

Приклад 1. Дочка гемофіліка виходить заміж за сина іншого гемофіліка, причому наречена і наречений не хворіють на гемофілію. Визначте ймовірність народження хворої дитини.

Розв'язок

1. У людини жіноча стать визначається наявністю двох X-хромосом (XX), одна з яких успадковується від батька, а друга від матері. Оскільки батько нареченої був гемофіліком, то дівчина успадкувала від нього X-хромосому з

рецесивним геном гемофілії. Оскільки вона не є хворою, значить, її друга хромосома містить доміантний алель H . Таким чином, генотип дівчини гетерозиготний, тобто вона є носієм гена гемофілії.

2. Наречений здоровий, він отримав від матері X-хромосому з доміантним алелем H , а від батька-гемофіліка — Y-хромосому. Отже, генотип хлопця X^HY .

$$3. P: \text{♀ } X^HX^h \quad \times \quad \text{♂ } X^HY$$

$$\text{Гамети: } \text{♀ } X^H, X^h \quad \text{♂ } X^H, Y$$

$$F_1: X^HX^H, X^HX^h, X^HY, X^hY$$

4. У цього подружжя може народитися здорова дівчина, дівчина-носій (але фенотипово здорова), хлопчик здоровий і хлопчик - гемофілік, причому ймовірність народження будь-якої дитини однакова (25%).

Відповідь. Імовірність народження хворої дитини 25%.

Приклад 2. У курей зчеплений зі статтю ген A в рецесивному стані має летальну дію. Яка частина потомства загине, якщо схрестити курку з гетерозиготним півнем?

Розв'язок

1. У птахів самка є гетерогаметною, а самець — гомогаметною статтю. Отже генотип курки X^AY , а генотип півня — X^AX^a .

$$2. P: \text{♀ } X^AY \quad \times \quad \text{♂ } X^AX^a$$

$$\text{Гамети: } \text{♀ } X^A, Y \quad \text{♂ } X^A, X^a$$

$$F_1: X^AX^A, X^AX^a, X^AY, X^aY$$

3. У особин з генотипом X^aY проявиться летальна дія рецесивного гена, і вони загинуть.

Відповідь. Загине 25% потомства, а саме: жіночі особини з генотипом X^aY .

Запитання для самоконтролю

1. Скільки аутосом в соматичних клітинах людини?
2. Скільки типів гамет утворює гомогаметна стать (стосовно гетерохромосом), гетерогаметна стать?
3. Що таке успадкування ознак зчеплене зі статтю?

4. У чому особливість передавання в поколіннях Х-зчеплених генів (ознак)?

5. У чому особливість передавання в поколіннях Y-зчеплених (або голандричних) генів?

6. Який стан гена називається гемізіготним?

7. Чому рецесивні гени, що містяться в Х-хромосомі гетерогаметної статі, можуть виявити свою дію?

Задачі і вправи

1. Від схрещування червонооких гетерозиготних самок дрозофіли і червонооких самців одержано потомство з 1384 особин. Скільки серед них червонооких і білооких мушок? Червоний колір очей детермінується домінантним, зчепленим з Х-хромосомою геном, а білий колір очей — рецесивним геном.

2. Золотисте (коричневе) забарвлення оперення у певних порід курей успадковується як зчеплена з Z-хромосомою домінантна ознака. Сріблясте (біле) забарвлення оперення — рецесивна ознака. На птахофермі провели схрещування золотистих курок із сріблястими півнями. Визначити фенотип потомства від цього схрещування.

3. У людини відсутність потових залоз детермінується рецесивним геном, локалізованим у Х-хромосомі. В сім'ї здорових чоловіка і жінки відносно вказаної ознаки народилася дитина без потових залоз. Чи можна пояснити причину народження такої дитини?

4. До медико-генетичної консультації звернулося подружжя, стурбоване загрозою народження дитини-гемофіліка. Підставою є те, що рідна сестра чоловіка має хлопчика, який страждає на гемофілію. Наскільки реальна загроза народження в цій сім'ї хворої дитини? Відповідь пояснити. Спадкова гемофілія (знижена згортальна здатність крові) успадковується як зчеплена з Х-хромосомою рецесивна ознака.

5. Пігментний дерматоз, одним із проявів якого є „мармурова" пігментація шкіри, успадковується через Х-хромосому як домінантна ознака, летальна для чоловіків-гемізігот. У сім'ї здорового відносно цієї ознаки чоловіка і жінки, яка має «мармурову» шкіру, росте здорова донька. В родині знову чекають на дитину. Яким може бути прогноз, якщо мати жінки не мала цієї вади?

6. Відсутність зубів — рецесивна, зчеплена з Х-хромосомою ознака. В сім'ї чоловіка і жінки, які мали зуби, росте хлопчик без зубів. Від кого він успадкував цю ваду? Відповідь підтвердити розв'язком.

7. Одна із форм агамаглобулінемії (відсутність імуноглобулінів у сироватці крові) успадковується як рецесивна, зчеплена з X-хромосомою ознака. Здорова жінка, батько якої страждає на агамаглобулінемію, вийшла заміж за здорового чоловіка. Від їх шлюбу народився хворий хлопчик. Яка ймовірність, що і друга їхня дитина теж буде страждати на агамаглобулінемію?
8. У дрозофіли рецесивний ген *lethal-50*, локалізований в X-хромосомі, що володіє летальною дією (викликає загибель особини до вилуплення з яйця). Від самки, гетерозиготної за геном *lethal-50*, одержано 60 потомків. Скільки з них чекають самок і скільки самців?
9. У курей зчеплений зі статтю ген *k* володіє рецесивною і летальною дією, що викликає загибель курчат до вилуплення, а) Генотипи батьків Z^KZ^k і Z^KW . З якої частини яєць потомство не вилупиться внаслідок генетично обумовленої загибелі курчат в яйці? Напишіть генотипи цих яєць.
10. Гіпертрихоз передається Y-хромосомою, а полідактилія — як домінантна аутосомна ознака. В сім'ї, де батько мав гіпертрихоз, а мати — полідактилію, народилася нормальна стосовно обох ознак дочка. Яка вірогідність того, що наступна дитина в цій сім'ї також буде без обох аномалій?
11. Карликовий зріст людини передається домінантно, а дальтонізм (загальна кольорова сліпота) — рецесивно і зчеплено зі статтю. Одружуються жінка карликового зросту і чоловік нормального зросту. Чоловік — дальтонік, жінка має нормальний зір. Якими будуть їхні діти?
12. У свійських котів домінантний ген *B* обумовлює жовте забарвлення шерсті, рецесивний — чорне. Жоден з цих алелей не домінує, тому гетерозиготні тварини мають плямисте забарвлення, його іноді називають «черепаховим». Ген міститься в X-хромосомі. Які будуть кошенята, якщо:
- Кіт чорний, кішка жовта?
 - Кіт чорний, кішка черепахова?
 - Чи може бути кіт черепаховим?
 - Чим пояснити, що дуже рідко, але трапляються коти черепахового забарвлення?

Лабораторна робота №10

Тема: Модифікаційна мінливість

Мета: Ознайомитися з поняттям модифікаційної мінливості і норми реакції. Оволодіти біометричним методом вивчення модифікаційної мінливості. Впевнитись, що розвиток ознак організмів відбувається на основі взаємодії генотипу і умов середовища.

Робота 1. Вивчення безперервної і дискретної мінливості у рослинних об'єктів

Матеріали і обладнання: колоски ячменю чи пшениці, листки дуба, берези, вишні, яблуні, горобини, робінії білої, лінійки.

Основні теоретичні відомості та методичні поради

Давно помічено, що багато відмінностей між особинами одного виду знаходяться у значній залежності від умов навколишнього середовища. Навіть при цілком тотожному генотипі два організми можуть бути фенотипово несхожими, якщо вони протягом свого розвитку по-різному харчувалися, знаходилися при різній температурі або вологості, хворіли на різні хвороби. Такі фенотипові розходження, що викликаються зовнішніми факторами в однакових у спадковому відношенні організмів, називаються **модифікаціями**, а мінливість, яка при цьому виникає отримала назву **модифікаційної**.

Розмах модифікаційної мінливості, тобто амплітуда коливання ознаки, залежить від **норми реакції** організму. Це означає, що ступінь варіювання кожної ознаки знаходиться в певних межах. Визначаються ці межі спадковістю.

Різні ознаки мають різну широту норми реакції. Так, наприклад, у ВРХ колір шерсті не змінюється ні при яких умовах, тобто має *однозначну норму реакції*. В той же час досить *широку норму реакції* має молочна продуктивність, яка в значній мірі залежить від умов годівлі. Значно меншу (*вузьку*) норму реакції має така ознака як жирність молока. Хоч вона і залежить від умов годівлі, але не в такій степені як удої.

Норму реакції спостерігати найкраще в організмів з однаковим генотипом, наприклад у рослин, що вегетативно розмножуються, і однойцевих близнюків. У цьому випадку можна виявити норму реакції генотипу в найбільш «чистому» вигляді.

Знання норми реакції має важливе практичне значення. У селекції, яка спрямована на створення нових або удосконалення існуючих форм корисних людині організмів, постійно виникає потреба вивчити реакцію тих або інших сортів вирощуваної рослини на якість ґрунту, терміни посіву, наявність добрив тощо. Чим ширша норма реакції рослин даного сорту, тим більша можливість вирощування його в різноманітних ґрунтово-кліматичних умовах із збереженням основних господарсько-цінних ознак.

Залежно від характеру ознаки, що варіює, розрізняють мінливість **якісну** і **кількісну**.

При *якісній* мінливості різниця між об'єктами виражена якісним показником, який характерний для одних об'єктів і не характерний для інших. Наприклад, насіння гороху буває жовтим або зеленим, плоди томатів - червоні чи жовті тощо. Кількість об'єктів з певною якісною ознакою звичайно виражають у процентах від загальної кількості сукупності.

Кількісна мінливість характеризується різним ступенем прояву ознаки. Розрізняють два види кількісної мінливості: *переривчасту*, або дискретну, і *безперервну*.

При *переривчастій* мінливості ознака виражається в цілих абстрактних числах, між якими немає переходів (кількість насінин у бобах, кількість листків на рослині тощо). При *безперервній* мінливості варіююча ознака виражається у конкретних числах (см, мм, г, мг тощо), між якими можливі будь-які переходи.

При вивченні закономірностей модифікаційної мінливості використовується **статистичний** (біометричний) **метод**. При використанні цього методу необхідно дотримуватися таких умов.

1. Матеріал повинен бути генетично однорідним.
2. Виміри і підрахунки повинні проводитися з однаковою точністю.
3. Спостереження повинні бути багатократними, тобто аналізувати слід велике число рослин.

Всі рослини, що беруть участь у досліді, називають **генеральною сукупністю**. Якщо таких рослин дуже багато, і дослідити їх важко або навіть практично неможливо, беруть частину рослин генеральної сукупності - **вибірку**, за якою дається загальна характеристика (вибірковий метод). Дані варіюючих ознак одержані за вибірками, систематизують, розміщують у варіаційні ряди.

Складання варіаційного ряду. Щоб одержати уявлення про розмах модифікаційної мінливості досліджуваної ознаки (наприклад, числа колосків у колосі пшениці), необхідно скласти варіаційний ряд. З цією метою в головному колосі кожної із 100 рослин підраховують число колосків і одержують варіанти - можливі значення досліджуваної ознаки, що позначають літерою **x** (у

математичних працях різні автори неоднаково позначають показники, якими користуються у біометрії).

20, 18, 17, 22, 19, 19, 20, 21, 20, 21, 18, 19, 17, 22, 21, 18, 18, 20, 19, 21, 21, 19, 20, 18, 21, 20, 19, 19, 17, 20, 22, 18, 21, 19, 18, 21, 20, 18, 19, 18, 20, 21, 21, 18, 19, 21, 18, 20, 22, 17, 19, 20, 19, 18, 21, 20, 20, 19, 17, 22, 19, 20, 18, 19, 19, 20, 20, 17, 19, 21, 20, 19, 20, 18, 22, 20, 19, 19, 20, 20, 20, 17, 19, 18, 21, 20, 19, 19, 19, 20, 17, 18, 22, 18, 20, 20, 19, 20, 19, 20.

Отримані варіанти розташовують у порядку їхнього зростання (або убубання). Так, у наведеному прикладі число колосків у колосі варіює від 17 до 22, і в зростаючому порядку вони записані в таблицю (табл. 7). Кожне значення ознаки зустрічається неоднакове число разів. Число, що вказує, скільки разів повторюється кожне значення ознаки в даного варіаційного ряду, називається **частотою** і позначається літерою **f**. Сума всіх частот дорівнює числу об'єктів у варіаційному ряді, її позначають через **n**.

Таким чином, варіаційний ряд являє собою такий ряд даних, у якому наведені значення варіюючої ознаки у порядку зростання або убубання, а також відповідні їхні частоти.

Таблиця 7

Варіаційний ряд кількості колосків у колосі пшениці

Кількість колосків у колосі (варіанти x)	17	18	19	20	21	22
Кількість колосів (частоти f)	8	17	26	28	14	7

$$n = \sum f = 100$$

З поданих даних видно, що частіше усього зустрічаються варіанти, що знаходяться в середині ряду, рідше - на початку і наприкінці ряду.

Побудова кривої варіаційного ряду. Варіювання ознаки значно наочніше, ніж числовим рядом (або таблицею), ілюструється графічним зображенням - так званою варіаційною кривою, або полігоном розподілу.

Криву дискретного варіювання будують так: на горизонтальній осі (осі абсцис) відкладають у певному масштабі можливі значення варіюючої ознаки (**x**) у вигляді точок. З цих точок ставлять пунктиром перпендикуляри (ординати), довжина яких виражає частоти варіюючої ознаки (**f**). Верхні вільні кінці ординат з'єднують лінією - це і є варіаційна крива (Для прикладу див. рис. 8).

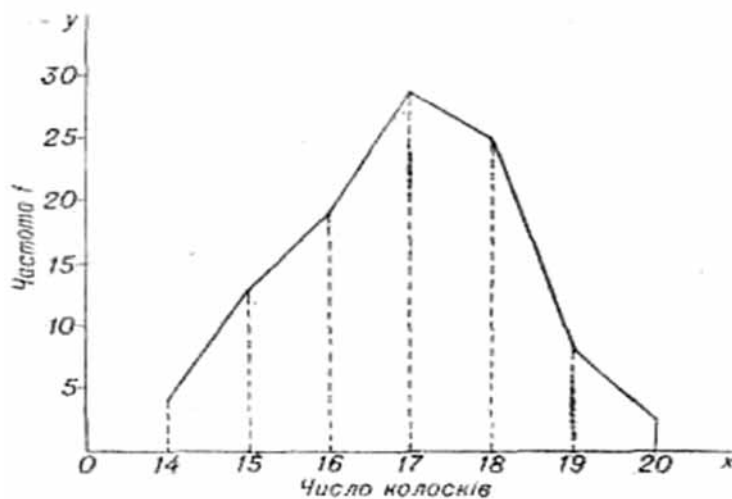


Рис. 8. Крива варіювання числа колосків у колосі пшениці

Маючи варіаційний ряд (наприклад, кількості колосків у колосі), можна одержати достатньо повну характеристику досліджуваної ознаки. Для цього необхідно обчислити такі статистичні показники: середню арифметичну, стандартне відхилення (або середнє квадратичне відхилення), коефіцієнт варіації, або мінливості, похибку середньої арифметичної.

Обчислення середнього арифметичного. Середнє арифметичне (**M**) є середнім, найбільш характерним для даної сукупності значенням ознаки. Обчислення середнього арифметичного варіаційного ряду проводять за формулою

$$M = \frac{\sum fx}{n}$$

де **M** — середня арифметична,

f — частота зустрічності варіанта,

x—варіанти,

Σ — знак суми,

n—сума частот, тобто загальний об'єм вибірки.

Для підрахунків варто скористатися таблицею (табл. 8).

Таблиця 8.

Обчислення середнього арифметичного числа колосків у колосі пшениці

Кількість колосків у колосі (x)	Число колосів (частоти f)	fx	x-M	(x-M) ²	(x-M) ² f
17	8	136	-2,44	5,95	47,6
18	17	306	-1,44	2,07	35,19
19	26	494	-0,44	0,19	4,94
20	28	560	0,56	0,31	8,68
21	14	294	1,56	2,43	34,02
22	7	154	2,56	6,55	45,85
		1944			176,28
n=∑ f = 100					

$$M = \frac{\sum Xf}{n} = \frac{1944}{100} = 19,44; M=19,44 \text{ колоска}$$

Таким чином, середнє арифметичне дорівнює 19,4 колоска. Ця величина найбільше характерна для даної вибірки рослин.

Обчислення стандартного відхилення. Середнє арифметичне не відбиває ступеня мінливості ознаки в даної групи особин, сорту і т.д. Для характеристики мінливості використовують стандартне (середнє квадратичне) відхилення. Воно позначається літерою δ ; це число виражається в тих же одиницях, що і середня арифметична. Стандартне відхилення обчислюють по формулі:

$$\delta = \pm \sqrt{\frac{\sum (x - M)^2 \cdot f}{n - 1}}$$

У нашому прикладі $\delta = \pm \sqrt{\frac{\sum (x - M)^2 \cdot f}{n - 1}} = \pm \sqrt{\frac{176,28}{99}} = \pm \sqrt{1,780} = \pm 1,34 \text{ колоска.}$

Це означає, що кожний колос у середньому відрізняється від середньої арифметичної **M** на 1,34 колоска.

Стандартне відхилення іноді називають помилкою окремого варіанта, тому що, знаючи значення M і δ для даного варіаційного ряду, можна визначити, чи відноситься дана особина до цього ряду. Вона може відноситися до даного ряду, якщо її відхилення від середньої арифметичної не перевищує 3δ . У аналізованому прикладі $M = 19,4$, $\delta = 1,34$, найбільше значення варіанта дорівнює 22, найменше—17. Відхилення складе: $22-19,4 = +2,6$; $17-19,4 = -2,4$.

Так як відхилення найбільшого і найменшого варіантів від середньої арифметичної не перевищують 3δ , тобто 4,02, то усі особини відносяться до даного варіаційного ряду. Отже, межі модифікаційної мінливості визначаються $M \pm 3\delta$.

Обчислення коефіцієнта варіації. Для порівняння варіювання ознак різної розмірності, наприклад, кількість зерен у колосі і довжина стебла рослин або мінливості однієї і тієї самої ознаки в різних сортів, а також, щоб мати можливість судити про ступінь вирівняності досліджуваного матеріалу, обчислюють коефіцієнт варіації (V). Роблять це за формулою:

$$V = \frac{\delta}{M} \cdot 100\%.$$

У нашому прикладі $V = \frac{1,34}{19,4} \cdot 100 = 6,9\%$.

Мінливість варіюючої ознаки у цьому випадку незначна, тому що коефіцієнт варіації менше 10%. Прийнято вважати мінливість середньою, якщо коефіцієнт варіації перевищує 10%, але нижче за 20%, і великою, якщо коефіцієнт варіації вищий за 20%.

Щоб порівняти розмах мінливості різноманітних ознак у рослин того самого сорту, варто обчислити стандартне відхилення (δ) і коефіцієнт варіації (V) для цих ознак. Наприклад, для трьох ознак рослин пшениці M , δ і V мають такі значення:

Ознаки	M	δ	$V\%$
Вага зернівок з однієї рослини (г)	3,2	1,4	43,8
Кількість зернівок у головному колосі	41	8,0	19,5
Кількість колосків у головному колосі	19,4	1,34	6,9

Найменше варіює число колосків у головному колосі ($V=6,9\%$). Найбільш мінлива ознака — вага зернівок з однієї рослини ($V=43,8\%$). Отже, число колосків у колосі мало змінюється під впливом зовнішніх умов; вага ж зернівок з рослини і кількість насінин у головному колосі в більшій мірі залежать від умов зростання і схильні до значної мінливості.

Обчислення похибки середньої арифметичної. Похибка середньої арифметичної позначається **m**. Вона показує, якої припустилися похибки, вважаючи, що середня арифметична вибірки дорівнює середній арифметичній генеральній сукупності.

Похибку середньої арифметичної обчислюють за формулою:

$$m = \frac{\delta}{\sqrt{n}}$$

У нашому прикладі $m = \frac{1,34}{\sqrt{100}} = 0,13$ колоска, тобто похибка середньої арифметичної дорівнює $\pm 0,13$ колоска.

Після обчислення **m** можемо сказати, що сорт пшениці, що вивчався нами, має середнє число колосків $19,4 \pm 0,13$.

Якщо виходити з того, що розмах мінливості середніх арифметичних вибірок підпорядковується правилу трьох δ , то аналізований сорт має середнє число колосків у колосі $19,4 \pm 3 \times 0,13$ колоска, тобто від 19,0 до 19,8 колоска.

Дані, отримані в результаті статистичного вивчення тих або інших ознак заносять у таблицю (табл. 9).

Таблиця 9

Мінливість елементів структури врожаю пшениці

№ п/п	Культу-ра, сорт	Ознаки, що вивчаються	Статистичні показники				
			M	δ	V	m	$M \pm m$
1.	Пшениця озима	Число колосків у головному колосі	19,4	1,34	6,9	0,13	$19,4 \pm 0,13$
		і т.д.					

Хід роботи

1. Провести статистичне опрацювання запропонованого матеріалу. Для дослідження дискретного варіювання підрахувати кількість колосків у колосі пшениці чи ячменю, кількість лопатей у листках дуба чи простих листків у складному листку горобини чи робінії білої. Для вивчення безперервної мінливості виміряти довжину чи ширину листків вишні, яблуні або берези.

2. Скласти варіаційний ряд та побудувати варіаційну криву для однієї із зазначених ознак.

3. Обчислити середнє арифметичне (M), стандартне відхилення (δ), коефіцієнт варіації (V) і помилку середнього арифметичного (m).

4. Порівняти ступінь мінливості статистично опрацьованих на занятті ознак і зробити висновок про розмах модифікаційної мінливості кожної із них.

Запитання для самоконтролю

1. Яка мінливість називається модифікаційною?
2. Що таке норма реакції?
3. Яким методом вивчають модифікаційну мінливість?
4. Яких умов необхідно дотримуватися при вивченні закономірностей модифікаційної мінливості?
5. Як скласти варіаційний ряд та побудувати варіаційну криву?
6. З якою метою обчислюють коефіцієнт варіації?
7. Що таке правило трьох δ ?
8. Що значить: різниця середніх арифметичних достовірна?
9. Якщо різниця середніх арифметичних недостовірна, то які є шляхи для того, щоб зробити її достовірною?

Задачі і вправи

1. З 100 вимірювань кількості колосків у колосі був побудований варіаційний ряд.

Кількість колосків у колосі	17	18	19	20	21	22
Частота випадків	10	14	27	28	13	8

Визначте середнє арифметичне і середнє квадратичне відхилення цього варіаційного ряду.

2. Якщо відомо, що в зразку № 105 у колосі пшениці $M=17,5$ колоска, а $\delta=\pm 1,50$ колоска, то чи міг належати цьому ж зразку колос, що мав 28 колосків?

3. Якої висоти може бути найвища сосна, якщо $M=22,5\text{ м}$, а $\delta=\pm 1,5\text{ м}$?
4. Визначте розмах мінливості по ознаці відсоток жиру в молоці, якщо відомо, що $M=3,6\%$, а $\delta=\pm 0,10\%$.
5. Розрахуйте помилку середнього арифметичного $M=5,0\text{ см}$, якщо відомо, що $\delta = \pm 1,5\text{ см}$, $n = 100$.
6. Якщо відомо, що маса самців тушканчиків (*Dipus aegyptius*) дорівнює $165,4\pm 5,20\text{ г}$, а самок - $160,0\pm 3,10\text{ г}$, то чи можна сказати, що вони розрізняються по масі?
7. Чи розрізняються по удоях і жирності молока матері (чорно-рябі корови) і дочки-помісі, якщо матері мали відсоток жиру $2,38\pm 0,06$ і удої $3784\pm 64,0\text{ кг}$, а дочки - відсоток жиру $4,97\pm 0,10$ і удої $3720\pm 46,0\text{ кг}$?

Лабораторна робота №11

Тема: Мутаційна мінливість

Мета: Ознайомитись з мутаційною мінливістю, методами індукування мутацій у рослин та відбору корисних мутацій. Впевнитись, що під впливом хімічних і інших мутагенів можна отримувати різноманітні мутації. Закріпити теоретичні знання шляхом розв'язування задач.

Робота 1. Методи одержання мутацій

Матеріали і обладнання: Насіння ячменю, районованого сорту, хімічний мутаген (азотна кислота, перекис водню та ін.), витяжна шафа, посудина для обробки насіння мутагеном.

Основні теоретичні відомості та методичні поради

Мутаційна мінливість — це результат появи **мутацій** — *відносно стійких структурних змін нуклеїнових кислот, що призводять до виникнення нових алелей генів і навіть більш істотних перебудов у генетичному апараті клітин.* Ці перебудови можуть здійснюватися на рівні хромосом та інших носіїв генетичної інформації. В усіх випадках вони мусять бути незворотними і передаватися із покоління у покоління.

Термін мутація вперше був запропонований Г. де Фрізом в його мутаційній теорії, яка зародилася на початку 20-го сторіччя (1901-1903). По де Фрізу мутація - це стрибкоподібна, переривчаста зміна спадкової ознаки.

Згідно з сьогоденніми уявленнями мутації - це якісні і кількісні зміни генетичного матеріалу певного організму. Організми з мутаційними змінами названі **мутантами**.

Розрізняють мутації *генні* або *точкові*, що цитологічно не виявляються, *внутрішньо- і міжхромосомні*, при яких спостерігаються різноманітні *перебудови хромосом*, і мутації, *пов'язані зі зміною числа хромосом (поліплоїдія).*

Внутрішньохромосомні перебудови поділяють на **делеції**, **дуплікації** та **інверсії**. Делецією називають утрату якоїсь ділянки хромосоми. Якщо це кінцева ділянка, то така делеція називається **дефішенсі**. Дуплікація - це подвоєння певної ділянки хромосоми. Інверсія – це зміна на 180° порядку розташування групи генів у хромосомі. Делеції і дуплікації призводять до змін дози (кількості копій) алельних генів або незначущих послідовностей ДНК у геномі, інверсія лише до зміни локалізації генів.

До міжхромосомних перебудов належать **транслокації** – реципрокні обміни між не гомологічними хромосомами, і **транспозиції** - нерципрокні переміщення генетичного матеріалу між хромосомами або в межах однієї хромосоми.

Мутаційні зміни надзвичайно різноманітні. Вони можуть торкатися буквально всіх морфологічних, фізіологічних і біохімічних ознак організму, можуть викликати різкі або, навпаки, ледь помітні фенотипові відхилення від норми.

Мутації, що виникають без видимих причин або зусиль зі сторони експериментатора називають **спонтанними**, а ті, що виникли в результаті якогось впливу - **індукованими**.

Фактори, що викликають мутації називають **мутагенами**. Як мутагени використовують фізичний вплив (іонізуючі випромінювання, ультрафіолетові промені й ін.) і вплив хімічними речовинами (етиленімін, диетилсульфат, етилметансульфонат і ін.). Для мутаційної селекції найбільше значення мають такі мутагени, які викликають багато генних мутацій і відносно мало хромосомних.

У результаті впливу мутагенами можна одержувати різноманітний вихідний матеріал для створення сортів відбором і гібридизацією.

Для успішного одержання мутацій важливо підібрати оптимальні для процесу мутування умови (вид мутагену, його доза, фізіологічний стан організму й т.д.). З'ясовано, що більш високі дози мутагенів (як фізичних, так і хімічних) знижують частку господарсько-корисних мутацій. Оптимальні дози мутагену специфічні не тільки для різних видів рослин, але й для окремих сортів.

Варто зазначити, що за допомогою хімічних мутагенів можна одержувати більше число корисних мутацій, чим при використанні іонізуючих випромінювань.

Хімічними мутагенами обробляють живці, бульби, цибулини, коренеплоди, кореневища, але найчастіше сухе і проросле насіння. Перше покоління рослин, отримане від обробленого будь-яким мутагеном насіння, позначається M_1 друге покоління - M_2 і т.д..

Методика одержання мутацій приводиться в табл. 10.

Під час роботи слід **дуже обережно користуватися мутагенами**, що представляють собою сильні отрути, і використовувати витяжну шафу. Кількість оброблюваного насіння у кожному варіанті повинно бути таким, щоб у полі

вижило близько 1000 рослин. Насіння краще помістити в мішечок і в такому вигляді обробляти.

Рослини (M_1), вирощені з обробленого мутагеном насіння, часто пригнічені, частково або повністю стерильні, але зустрічаються рослини, зовні цілком нормальні. Для рослин M_1 варто створювати найбільш сприятливі умови. Відбирають цінні мутанти в другому поколінні (M_2), тому що більшість мутацій будучи рецесивними, виявляються лише в M_2 .

У пшениці, ячменю й інших злаків в M_1 колосся можуть розрізнятися в генетичному відношенні, і тому для одержання сімей в M_2 насіння кожного колосу M_1 висівають окремо. Насіння виявлених у M_2 мутантних рослин висівають окремо для перевірки успадкування змінених ознак у M_3 . Для виявлення так званих *малих мутацій*, тобто мутацій, які фенотипово не відрізняються, насіння від окремих рослин M_2 висівають для одержання M_3 і сім'ї M_3 піддають біометричній обробці по тих або інших показниках. Тільки в результаті такої обробки вдається виділити малі мутації, які мають більшу цінність, тому що вони стосуються таких кількісних ознак, як урожайність, білковість, олійність і ін. Відбирають кращі, за малими мутаціями сім'ї починаючи з M_4 . Бажано в M_2 мати 400-500 сімей. Кількість насіння, що піддають впливу мутагену, повинно бути в 2-3 рази більше, ніж бажано мати сімей у M_2 , оскільки необхідно враховувати часткову загибель рослин в M_1 .

Таблиця 10.

Деякі методи одержання мутацій у рослин

Культура	Метод оброблення
Ячмінь посівний	Насіння в марлевих мішечках витримують у розчині нітрозометилсечовини, нітрозоетилсечовини чи етиленіміну за концентрації 0,02% протягом 18 годин, промивають (15-20 хвилин) у чистій воді й відразу висівають у поле.
Пшениця м'яка	Повітряно-сухе насіння опромінюють гамма-променями Co^{60} при дозі 10000 рентгенів; оброблене насіння висівають у поле.
Кукурудза	Насіння в марлевих мішечках витримують у розчині етиленіміну (0,05%) протягом 24 годин, промивають (15-20 хвилин) у чистій воді й відразу висівають у поле.
Картопля	Бульби обробляють: нітрозометилсечовиною у концентрації 0,012; 0,01; 0,006%; нітрозоетилсечовиною у концентрації 0,05;

	0,016; 0,012%; диметилсульфатом у концентрації 0,05; 0,016; 0,25%. У всіх випадках час обробки - 24 години.
Горох	Насіння в марлевих мішечках поміщають на 11-12 годин у розчини мутагенів наступних концентрацій: етиленімін - 0,01; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,30%. Такі ж концентрації беруть для диетилсульфату і диметилсульфату. Насіння промивають 10-15 хвилин у посудині й далі у водопровідній воді.

Мутабельність сортів різна й залежить від їхніх спадкових особливостей. Звичайно рекомендується використовувати як вихідний матеріал для одержання мутацій районовані сорти.

Хід роботи

1. Відібрати 3 порції насіння супереліти запропонованого сорту ячменю.
2. Приготувати розчини мутагену трьох різних концентрацій, близьких до оптимальної для даного мутагену і даної культури (при виборі концентрації спиратися на дані, що приведені в табл. 10).
3. Помістити кожну порцію насіння у відповідний розчин.
4. Насіння через 24 години ретельно промити протягом 15-20 хвилин у проточній воді й висіяти в поле.

Робота 2. Опис мутантів

Матеріал: Рослини ячменю вихідного сорту та рослини M_1 і M_2 .

Пояснення до завдання. У результаті впливу на ячмінь хімічними й іншими мутагенами можуть виникнути різноманітні мутації; це можуть бути хлорофільні зміни різного типу (наприклад, *albina* - листки позбавлені зеленого зафарбування, *striata* - на листах є світлі безхлорофільні смуги, *maculata* - на листах світлі безхлорофільні плями), зміни морфологічних ознак - поява серед дворядних ячменів мутацій з багаторядним колоссям, зміни довжини остей, зафарбування колосся, його щільності і т.д. Зміни можуть стосуватися й таких ознак, як стійкість до полягання, до хвороб, скоростиглість, продуктивність рослин, маса 1000 зернівок і т.д.

Хлорофільні мутації можна іноді спостерігати вже в M_1 . Інші мутації можна частіше виявити в M_2 і M_3 .

Хід роботи

1. В польових і лабораторних умовах уважно переглянути кожну рослину ячменю, виявити наявні мутації і подати їх опис у вигляді таблиці (форма 1). Зробити відповідні висновки.

Форма 1

Опис хлорофільних мутацій у ячменю в M₂

Сорт	Варіант досліджу	Число рослин		Типи хлорофільних мутацій (к-ть рослин)					Кількість рослин інших різновидностей
		Висаджених у ґрунт	Збереглося до збирання, шт./%	albina	striata	maculata	інші	мутацій від загального числа рослин, %	

Робота 3. Розв'язування задач і вправ по темі «Спадкова мінливість»

Приклади

Приклад 1. Як зміниться структура білка, якщо з кодуючої його ділянки ДНК - ААТАЦАГГТТАААГТЦ - під впливом іонізуючої радіації вилучені 5 і 13-й зліва нуклеотиди?

Розв'язок

Спочатку будемо і-РНК, відразу розбивши її на триплети: УУА - УГУ – ААА – УУУ - ЦАГ.

Тепер за допомогою таблиці генетичного коду будемо ділянку досліджуваного білка в нормі: лейцин-цистеїн-лізін-фенілаланін-глутамін.

За умовою задачі, з нитки ДНК вилучаються п'ятий і тринадцятий (зліва) нуклеотиди. Залишається: ААТ – ААТ – ТТА – ААТ - Ц. За одержаною ділянкою будемо нитку і-РНК: УУА-УУА-ААУ-УУА-Г..., знову розбивши її на триплети, знаходимо будову ділянки білка після змін, що відбулися в ДНК: лейцин-лейцин-аспарагін-лейцин. Порівнюючи будову ділянки білка до і після зміни в ДНК

бачимо, що відбулася заміна всіх амінокислот, крім першої, а довжина ланцюга скоротилася на одну амінокислоту.

Відповідь. Відбулися заміна амінокислот і зменшення їх кількості в ланцюгу.

Запитання для самоконтролю

1. Яка основна відмінність між мутаційною і модифікаційною мінливістю?
2. Чому мутаційну мінливість вважають джерелом появи нових ознак?
3. Яке значення мають мутації в еволюційному процесі і селекції?
4. Що таке точкові мутації?
5. Назвіть види хромосомних перебудов. Як вони виникають?
6. Що таке мутагени?
7. Перечисліть методи одержання мутацій.
8. Чому кожен насінина, зібрану з колосу в рослин M_1 , потрібно висівати окремо?
9. У якому поколінні у рослин і чому здійснюють відбір цінних мутацій?
10. Чому мутації, які називають малими мають найбільшу цінність для селекції? Як їх виявити?

Задачі і вправи

1. Радіоактивне випромінювання може «вибивати» нуклеотиди із молекул нуклеїнової кислоти без порушення її цілісності. Припустімо, що в одному випадку з молекули вилучений тільки один нуклеотид, у другому - три нуклеотиди підряд, а в третьому - також три нуклеотиди, але розташовані на деякій відстані один від одного. Як це відіб'ється на білку, синтезованому на основі спадкової інформації, закодованої у такій пошкодженій молекулі? В яких з вказаних трьох випадків фактично утворений білок буде відрізнятися від нормального сильніше, а в яких - слабкіше?
2. Ділянка гена мала такий склад нуклеотидів: ТГГ ТЦГ ЦАГ ГАГ ГГГ ТТТ. Визначити, як зміниться склад амінокислот, що ним кодується, якщо під впливом іонізуючої радіації: а) вибитий десятий зліва нуклеотид; б) вибиті 10, 11 і 12-й нуклеотиди.

3. В молекулі ДНК, на базі якої утворилась молекула і-РНК такої структури (АУГ УУУ УЦУ ГГУ) відбулась мутація, внаслідок якої була втрачена азотиста основа, з якої починався ген. Чи приведе дана мутація до значних змін в молекулі білка, що має синтезуватися на базі даного гена? (Див. таблицю генетичного коду).
4. Які зміни відбудуться в будові білка, якщо в кодуючій його ділянці ДНК – ТААЦАААГААЦАААА між 10 і 11 нуклеотидами включився цитозин, між 13 і 14 - тимін, а на кінці приєднався ще один аденін?
5. У хромосомі така послідовність лінійно розташованих генів: *ABCDEHKTM*. Після мутації хромосома має такий вигляд: *CDEHKTM*. Які зміни тут відбулись? Дайте назву такій зміні.
6. У хромосомі таке розташування генів: *ABCDEFNKIM*. Відбулася перебудова, в результаті якої ділянка, що включає гени *DEF*, повернулася на 180°. Який вигляд має хромосома після перебудови? Який вид мутації відбувся в даному випадку?
7. Ділянка хромосоми №22 перемістилася до хромосоми № 14. Який це вид мінливості?
8. Молекула ДНК має таку будову: *АТГЦЦАА*. Після мутації послідовність нуклеотидів змінилась на таку: *АТЦЦЦАА*. До якого виду мутації належить ця зміна?
9. У вихідній хромосомі гени розташовані таким чином: *ABCDEFHKNKIM*. Після мутації хромосома набула такого вигляду: *ABFHKNKIM*. Яка зміна тут відбулася і як вона називається?
10. У хромосомі, що має таке розташування генів *ABCDEFHKNKIM*, відбулася зміна. Ділянка, що включає ген D, подвоїлась. Як називається такий вид мутації? Визначте послідовність генів після мутації.
11. Прояв якого закону спадковості можна виявити в таких явищах: а) мутації альбінізму (відсутності забарвлення покриву), що спостерігається у людини, ссавців— кішки, собаки, тигра, миші, птахів тощо; б) короткопалості, що зустрічається у людей, овець, собак, птахів; в) гемофілії, на яку хворіють люди, миші, кішки, собаки; г) природженій глухоті, що зустрічається у людей, гвінейських свинок, мишей, собак?
12. У районах Південної Африки у людей розповсюджена серпоподібно-клітинна анемія, при якій еритроцити мають форму серпа внаслідок заміни в молекулі гемоглобіну амінокислоти глютаміну на валін. Прикладом якої мінливості є це захворювання?

13. Який тип мутацій, що відбувається у людини, має найбільшу ймовірність виявитись у наступному поколінні: а) рецесивна зчеплена із статтю, що виникає в Х-хромосомі; б) рецесивна, що виникає в аутосомах; в) домінантна аутосомна мутація?

14. У медико-генетичній консультації дослідили каріотип дитини, що мала фенотип характерний для хворих на синдром Дауна. Виявлено не 47 хромосом, які характерні для хворих на це захворювання, а 46. В той же час одна з хромосом 15-ї пари була довша від звичайної. Поясніть що відбулося з хромосомами. Як називається така мутація?

15. У жінки, яка працює на хімічному підприємстві, в шкірі появились клітини з 47 хромосомами. Про який вид мутації (соматичної чи генеративної) йде мова в даному випадку? Чи може успадковуватися ця мутація?

16. Висока мутагенна активність виявлена у копченостей, пересмаженого м'яса, чорного перцю, ваніліну, алкоголю, речовин тютюнового диму. Навпаки, яскраво виявлену антимутагенну дію мають вітаміни, амінокислоти, що містять сірку, овочеві та фруктові соки. Які висновки можна зробити з цих даних для здорового способу життя?

Лабораторна робота №12

Тема: Поліплоїдія

Мета: Сформувати уявлення про поліплоїдію як специфічний тип мутацій. Познайомитися з методами одержання поліплоїдів. Вивчити особливості мітозу, викликані дією поліплоїдизуючих речовин. Шляхом проведення порівняльного аналізу морфологічних особливостей вихідних диплоїдних та поліплоїдних рослин переконатися, що поліплоїдизація може приводити до збільшення розмірів їх вегетативних та генеративних органів. Закріпити теоретичні знання шляхом розв'язування задач.

Робота 1. Вивчення К-мітозу на тимчасових препаратах корінців ячменю, оброблених 0,025%-ним розчином колхіцину або аценафтену

Матеріали і обладнання: чашки Петрі з пророслим насінням ячменю, що оброблене розчином колхіцину за концентрації 0,25% або парами аценафтену, мікроскопи, предметні і накривні скельця, леза, ацеталкоголь, ацетокармін чи ацетоорсеїн, крапельниці з 45% оцтовою кислотою, препарувальні голки, фільтрувальний папір.

Основні теоретичні відомості та методичні поради

Поліплоїдія — це явище збільшення в клітині кількості хромосом, кратне гаплоїдному наборові. Розрізняють триплоїди ($3n$), тетраплоїди ($4n$), пентаплоїди ($5n$) тощо. Поліплоїди поділяють на **автополіплоїди**, у яких декілька разів повторюється один і той же набір хромосом, і **алополіплоїди**, які виникають внаслідок міжвидових схрещувань і тому містять повтори двох (або більшої кількості) різних геномів.

Автополіплоїдія виникає при поділі ядра без поділу клітини та при подвоєнні хромосом без їхнього поділу через втрату центромерами властивості взаємного відштовхування.

Якщо організм мав $n=4$ хромосоми, $2n=8$, то тетраплоїд має 16 хромосом. Якщо диплоїд був гомозиготним, тетраплоїд теж буде гомозиготою. Якщо диплоїд був гетерозиготним, тетраплоїд - теж гетерозиготний.

Поліплоїдизація може відбутися під час мітозу - це **соматична поліплоїдія**. При цьому можуть виникати **мозаїки** або **химери** — організми, що містять диплоїдні і поліплоїдні клітини. Якщо подвоєння геномів відбувається під час першого поділу зиготи - така поліплоїдія називається **зиготичною поліплоїдією**.

Автополіплоїдія найчастіше буває у покритонасінних рослин (біля 47% усіх квіткових рослин — це поліпоїди), хоча відомі поліплоїдні гриби і водорості. У тварин поліплоїди відомі головним чином серед гермафродитів, наприклад, у земляних черв'яків, і у видів з **апоміктичним** типом розмноження, за якого організми розвиваються із статевих клітин, але без акту запліднення. Зокрема, партеногенетичні самки (тобто самки, що дають життєздатних нащадків без запліднення) і поліплоїдні форми відомі у деяких жуків, метеликів, клопів, риб, саламандр, ракоподібних.

Поліплоїдія серед тварин зустрічається рідше через те, що вона порушує баланс між аутосомами і статевими хромосомами, необхідний для визначення статі; більшість тварин розмножується за допомогою перехресного запліднення, а отже одиничний мутант - поліплоїд не може розмножуватися сам по собі; процес онтогенетичного розвитку тварин більш складний, і поліплоїдія може порушувати його.

Оскільки мейоз у автополіплоїдів часто дуже утруднений, їх плодючість у більшості випадків коливається в межах від 95 до 5%. Тому практично цінними є ті форми, які розмножуються апоміктичним або вегетативним шляхом.

Поліплоїди з парним числом хромосомних наборів називаються **збалансованими**. У них під час мейозу гомологічні хромосоми кон'югують, утворюючи або біваленти або поліваленти, якщо кон'югує відразу декілька хромосом. У **незбалансованих** поліплоїдів, тобто таких, що мають непарну кількість наборів, мейоз завжди дуже порушений, тому що за кон'югації непарної кількості гомологічних хромосом їх розподіл між дочірніми клітинами здійснюється випадково і нерівномірно.

У поліплоїдів потрібно розрізнити число хромосом в соматичних клітинах і *основне число хромосом*, що позначається x . Сукупність останніх називається геномом. У роді *Triticum* відомі види з $2n=14$ (пшениця однозернянка *T. monococtum* L.), з $2n=28$ (тверда пшениця *T. durum* Desf.) і з $2n=42$ (м'яка пшениця *T. aestivum* L.). Всі вони утворюють один поліплоїдний ряд. Всі числа хромосом цих видів пшениці кратні основному числу - 7. Гаплоїдний набір хромосом однозернянок (n) і основне число хромосом (x) складаються із семи хромосом, тобто гаплоїдний набір однозернянки складається з одного геному, диплоїдний - із двох геномів по 7 хромосом. Для визначення плоїдності клітин число хромосом у соматичних клітинах ділять на основне число (x). Так в однозернянки показник плоїдності дорівнює $14:7=2$, у твердої пшениці - $28:7=4$, у м'якої - $42:7=6$, тобто однозернянка - диплоїд, тверда пшениця - тетраплоїд, м'яка пшениця - гексаплоїд. Гаплоїдний набір хромосом (n) у гаметах твердої пшениці складається із двох геномів ($14:7=2$), м'якої пшениці - із трьох геномів ($21:7=3$).

Поліплоїдія має практичне значення. Так, поліпоїди особливо збалансовані, нерідко відрізняються від своїх диплоїдних попередників більшою могутністю: мають крупніші вегетативні і генеративні органи. Клітини і їх ядра у поліплоїдів теж більші за розмірами, хоч їх менше на одиницю маси тканини. Це явище, відоме під назвою **гігантизму**, властиве не всім поліплоїдам. У samozапильних рослин, наприклад у томатів, гігантизму не буває. Гігантизм супроводжується зміною ряду фізіологічних і біохімічних властивостей клітин, що забезпечує більш високу стійкість поліплоїдів до несприятливих умов, захворювань тощо. Стійкість поліплоїдів до негативних впливів середовища пояснюється тим, що в їх клітинах кожен ген має декілька копій і тому ймовірність прояву рецесивних мутацій значно менша, ніж у диплоїдів. Крім того, поліплоїдам у переважній більшості властива гетерозиготність, яка забезпечує високі адаптаційні здібності.

В деяких випадках поліплоїдія перешкоджає схрещуваності нових форм з вихідним диплоїдом і виконує роль ізолюючого фактора.

Поліплоїдні форми рослин можна отримувати штучно за допомогою хімічних сполук, що блокують розходження подвоєних хромосом. Особливо популярним є колхіцин, який зашкоджує утворенню в клітині волокон веретена поділу. Для індукції поліплоїдії застосовують слабкі (0,1-0,5%) водні розчини колхіцину. Концентрація залежить від виду. Ними обробляють сухе чи проросле насіння, вегетативні органи, надземну частину.

Колхіцин паралізує механізм розходження хромосом до полюсів, але не перешкоджає їхній репродукції. Коли дія колхіцину припиняється, клітина відновлює здатність до нормального поділу і дає початок дочірнім поліплоїдним клітинам. При колхіцинуванні значна частина рослин гине; це потрібно враховувати й брати для досліду насіння в достатній кількості.

Поліплоїдизуючий вплив мають також інші сполуки (аценафтен та деякі його похідні, закис азоту, цитохалазин, етилмеркурхлорид та ін.).

Аценафтен діє слабкіше і не викликає такої сильної депресії в рості в оброблених рослин, як колхіцин. Він погано розчинний у воді, тому рослини обробляють переважно такими способами.

1. Насіння покривають вологим фільтрувальним папером, на який зверху насипають порошок аценафтену, витримують 2-4 дні, а потім висаджують у поле.

2. Молоді сіянці, вирощені в горщиках у теплиці, прикривають хімічною склянкою, змазаною усередині ланоліном, на який насипано 2-4 г аценафтену. Через день склянку знімають.

Під дією колхіцину і інших поліплоїдизуючих речовин виникають порушення мітозу, які отримали назву К-мітозу. При цьому спостерігається ушкодження хромосом, мітотичного апарату, порушення цитокінезу. Це приводить до фрагментації, злипання, нерозходження хромосом, утворення мостів, мікроядер, багатополюсності, асиметрії в мітозі, запізнювання або відсутності цитокінезу. Під дією колхіцину хромосоми спіралізуються сильніше.

Після дії невеликих доз колхіцину мітоз може відновитися; при цьому не виключене утворення поліплоїдних клітин. При більших дозах отрути клітини гинуть.

Інший шлях штучного отримання автополіплоїдів у рослин — це злиття нередукованих мікро- і макроспор. Останні можуть утворюватись за дії на рослин тепла або холоду, наркотичних речовин тощо.

В Україні і за її межами створено чимало поліплоїдних сортів, які сьогодні районовані.

Хід роботи

1. У чашці Петрі на фільтрувальному папері проростити близько 100 насінин ячменю.
2. Через 1,5-2 доби видалити насіння, яке не проросло, а те що залишилося розділити у дві чашки Петрі.
3. На годинникове скельце помістити 5-10 мг кристалічного аценафтену.
4. Поставити годинникове скельце з аценафтеном в одну з чашок Петрі на фільтрувальний папір, на якому пророщується насіння, інша - буде контрольною.
5. Через добу під витяжною шафою провести порівняльний аналіз морфологічних ознак корінців в обох чашках Петрі і зробити відповідні висновки.
6. Оброблені і контрольні корінці зафіксувати в ацеталкоголі (не менше 30 хв.).
7. Приготувати ацетокармінові чи ацетоорсеїнові препарати.
8. Вивчити препарати під мікроскопом. Замалювати і описати всі особливості К-мітозу в порівнянні з нормальним мітозом.

Робота 2. Облік продуктивності диплоїдного і тетраплоїдного жита

Матеріали і обладнання: рослини диплоїдного і тетраплоїдного жита, лінійки, терези, важки.

Хід роботи

1. Кожному студенту взяти по п'ять рослин диплоїдного і тетраплоїдного жита. Провести аналіз диплоїдного жита за основними елементами структури врожаю. Визначення показників структури врожаю виконують таким чином:

а) вимірюють висоту рослини. Її встановлюють, вимірюючи в сантиметрах найдовше стебло (від його основи до верхівки колоса без остей);

б) підраховують загальну кількість стебел і з них — кількість продуктивних. Продуктивними вважають стебла, що мають нормально розвинуті колоси;

в) вимірюють довжину (стрижень) колоса. Її вимірюють від основи нижнього колоска до основи верхнього.

г) підраховують кількість колосків у колосі (враховують нормально розвинуті і недорозвинуті);

д) встановлюють щільність колоса (кількість колосків на 10 см довжини стрижня). Її визначають за формулою:

$$D = \frac{(A-1) \times 10}{B}.$$

де A — кількість колосків, в тому числі і недорозвинутих; B — довжина стрижня в сантиметрах; D — щільність колоса.

Наприклад, на колосі пшениці завдовжки 8 см налічується 21 колосок. Підставляємо у формулу дані і обчислюємо:

$$D = \frac{(A-1) \times 10}{B} = \frac{(21-1) \times 10}{8} = 25.$$

е) обмолочують головний колос і підраховують кількість зернівок у ньому;

є) обмолочують всі колоси рослини і встановлюють кількість і вагу зернівок, їх вирівняність, абсолютну вагу.

Вирівняність зернівок за величиною визначають окоміром: зерно вирівняне, середнє за вирівняністю, не вирівняне.

Одержані дані занести в таблицю (Форма 2.), що приведена нижче.

2. Вивести середні показники за п'ятьма рослинами.

3. Провести аналіз рослин тетраплоїдного жита за основними елементами структури врожаю і також вивести середні показники.

4. Порівняти середні показники диплоїдного і тетраплоїдного жита та зробити висновки.

Форма 2

№ рослини	Плоїдність	Висота рослини, см	Кущистість		Головний колос						Вага, г		
			Загальна	Продуктивна	Довжина, см	Число колосків, шт	Щільність	Число зернівок у колосі, шт	Число зернівок у однієї рослини, шт	Озерненість колосу	1000 зернівок	Зернівок з однієї рослини	

Робота 3. Розв'язування задач по темі «Спадкова мінливість»

Приклади

Приклад 1. Тетраплоїдна тверда пшениця має в соматичних клітинах 56 хромосом і відрізняється від вихідної диплоїдної форми високою врожайністю. Скільки хромосом міститься в соматичних і статевих клітинах диплоїдної твердої пшениці.

Дано:

Тверда пшениця: $4n=56$

$n=?$

$2n=?$

Розв'язок

Тетраплоїдія є проявом такої геномної мутації як поліплоїдія, а отже тетраплоїди в соматичних клітинах мають $4n=56$ хромосом. Звідси диплоїдні тверді пшениці містять: $2n=56:2=28$ хромосом. Ця кількість і міститься в

соматичних клітинах. В гаметах набір хромосом вдвічі менший ніж у соматичних клітинах: $n=28:2=14$ хромосом.

Відповідь. В соматичних клітинах міститься 28, а в гаметах 14 хромосом.

Приклад 2. Певні сорти цукрових буряків є триплоїдними. Диплоїдне число хромосом 18. Злиття яких гамет (за кількістю хромосом) зумовлює триплоїдність?

Дано:

Цукровий буряк: $2n=18$

$3n=?$ Гамети ?

Розв'язок

Триплоїдія є проявом поліплоїдії, і в соматичних клітинах таких рослин цукрового буряка міститься $3n$ набір хромосом, який може утворитися при злитті гамет з $2n$ і n набором. Диплоїдні гамети повинні містити 18 хромосом, гаплоїдні - $18:2=9$. Звідси, $2n + n = 18 + 9 = 27$ хромосом.

Відповідь. Триплоїдність виникає в результаті злиття диплоїдних ($2n=18$) і гаплоїдних ($n=9$) гамет.

Приклад 3. Основою поліплоїдного ряду певних видів пшениці, які еволюційно пов'язані між собою, є число 7. Скільки хромосом у соматичних клітинах диплоїдів, тетраплоїдів і гексаплоїдів:

Дано:

Пшениця: $x=7$

$2n$ -? $4n$ -? $6n$ -?

Розв'язок

1. Гаплоїдний набір у пшениці $n=x=7$. Диплоїди мають $2n$ набір хромосом, звідси $7 \times 2=14$ хромосом.

2. У тетраплоїдів $4n$ набір хромосом - $7 \times 4=28$ хромосом.

3. Гексаплоїди мають $6n$ набір хромосом - $7 \times 6=42$ хромосоми.

Відповідь. $2n=14$; $4n=28$; $6n=42$ хромосоми.

Приклад 4. У соматичних клітинах кішки 38 хромосом. Злиття яких гамет обумовило появу кошенят з 39 хромосомами?

Дано:

Кішка: $2n=38$, $2n=39$

Гамети -?

Розв'язок

У кішки з диплоїдним набором хромосом $2n=39$ спостерігається анеуплоїдія – зміна кількості хромосом не кратна гаплоїдному наборові. Вона могла виникнути через утворення у одного з батьків гамети з $n+1$ кількістю хромосом.

1. Підраховуємо, яка кількість хромосом міститься в нормальних гаметах – $n=38:2=19$ хромосом.

2. Визначаємо скільки хромосом мала анеуплоїдна гамета – $n+1 = 19+1=20$ хромосом.

3. Запишемо, який хромосомний набір утвориться при злитті гамет нормальної і анеуплоїдної – $19+20=39$.

Відповідь. Такі кошенята могли з'явитися через злиття нормальної гамети ($n=19$) і анеуплоїдної ($n=20$).

Запитання для самоконтролю

1. Що таке поліплоїдія?
2. Які поліплоїди називаються автополіплоїдами, алополіплоїдами?
3. Назвіть методи штучного отримання поліплоїдів.
4. Чому деякі поліплоїди більш стійкі до негативних впливів середовища?
5. Чому поліплоїдія серед тварин зустрічається рідше ніж серед рослин?
6. Що є основною причиною не використання автополіплоїдії в селекції переважної більшості зернобобових культур?
7. Назвіть кілька видів рослин вашої місцевості, які є природними поліплоїдами.
8. Яке значення має поліплоїдія в природі і житті людини?
9. Чому міжвидові гібриди звичайно стерильні?
10. Чи можна відновити плодючість віддалених гібридів?

11. Що таке анеуплоїдія або гетероплоїдія?

Задачі і вправи

1. Топінамбур (*Helianthus tuberosus*) — гексаплоїдний вид ($2n=102$). Визначити гаплоїдне (n) і основне (x) числа хромосом.
2. Види щавлю (*Rumex*) складають поліплоїдний ряд з основним числом x , рівним 10. Користуючись значками x і n , позначити диплоїдне число: а) диплоїдного; б) тетраплоїдного; в) гексаплоїдного; г) октаплоїдного видів.
3. Визначити, які типи гамет утворять тетраплоїди: а) $AAAA$; б) $Aaaa$; в) $AAaa$.
4. У культурної сливи (*Prunus domestica*), що є гексаплоїдним видом, основне число хромосом $x=8$. Визначити гаплоїдне число n і, користуючись значками x і n , позначити диплоїдне число хромосом цього виду.
5. У с/г практиці використовують поліплоїдні сорти цукрових буряків. Скільки хромосом мають триплоїдні, тетраплоїдні, гексаплоїдні сорти, якщо вихідні диплоїдні форми мають 18 хромосом?
6. У садівництві вирощують безліч сортів ромашки, більшість яких — поліплоїди. Скільки хромосом буде у тетраплоїдних і гексаплоїдних сортів, якщо вихідні диплоїдні форми мають 16 хромосом?
7. Певні види хризантем, які еволюційно пов'язані між собою, утворюють поліплоїдний ряд кратний 9. Напишіть послідовно хромосомні числа цього ряду, якщо рослини можуть мати від 9 до 90 хромосом.
8. Яке число хромосом буде у гібрида, одержаного від схрещування м'якої пшениці ($2n=42$) і жита ($2n=14$)? Чому житньо-пшеничні гібриди безплідні? Як можна одержати плодовиті житньо-пшеничні гібриди? Який набір хромосом буде в соматичних клітинах цих гібридів?

Лабораторна робота № 13

Тема: Генетична структура популяції

Мета: Сформувати поняття про популяцію як елементарну одиницю мікроеволюції, усвідомити, що зародження нових видів починається з генетичних перебудов, що відбуваються в окремих популяціях.

З'ясувати закономірності поширення генів у популяціях алогамних, автогамних та організмів, що розмножуються вегетативно. Простежити як змінюється частота генотипів у популяції залежно від змінених частот алелей.

Сформувати навички визначення частоти генів у популяції людини. Закріпити теоретичні знання шляхом розв'язування задач.

Основні теоретичні відомості та методичні поради

Популяцією називають *групу організмів одного виду, що заселяють певну територію і розмножуються ізольовано від інших популяцій того ж виду.*

Виділяють **ідеальні** і **реальні** популяції. **Ідеальна** популяція складається із безмежної кількості особин, між якими можливі вільні випадкові схрещування без будь-яких обмежень, тобто в такій популяції здійснюється вільне схрещування або **панміксія**. Така популяція повністю ізольована і на неї не діють ніякі фактори, що можуть змінювати її структуру. Але ідеальних популяцій у природі не існує. На популяції завжди діють фактори зовнішнього середовища, вони завжди обмежені як чисельністю особин, так і ступенем вираженості панміксії. Панміксія може бути *повною, частково обмеженою і відсутньою* у випадку самоzapліднення та безстатевого розмноження. Однак поняття ідеальної популяції дуже важливе, бо його використовують для порівняльних оцінок, а також як модель для математичних розрахунків, що так необхідні в генетиці популяцій.

Природні популяції мають назву **реальних**. Саме вони і є об'єктом безпосереднього вивчення як генетиками, так і іншими спеціалістами. Такі популяції в залежності від способу розмноження особин поділяють на три типи:

- 1) популяції самоzapильних рослин і автогамних тварин;
- 2) популяції перехресноzapильних рослин і алогамних тварин;
- 3) популяції форм, що розмножуються вегетативно (апогамне розмноження).

Популяції автогамних рослин і тварин складаються із чистих, але генетично різноманітних ліній, які не схрещуються між собою і не обмінюються генетичною інформацією. Зміна генетичної структури таких популяцій

здійснюється головним чином за рахунок мутаційного процесу й добору спадково відмінних ліній і клонів, які мають певні адаптивні переваги за даних умов.

Популяція організмів, які розмножуються лише вегетативним способом, складається із окремих клонів. Генетична структура кожного клону, ступінь його гомозиготності чи гетерозиготності визначаються особливостями генотипу вихідної батьківської форми. Цілком зрозуміло, що особини кожного окремого клону в ідеалі повинні мати однакові генотипи, в той час як генотипи різних клонів можуть істотно відрізнятися. Але у зв'язку з виникненням мутантних форм навіть у межах одного клону можлива генетична неоднорідність організмів.

Популяції, що розмножуються статевим способом і в межах яких здійснюються вільні випадкові схрещування, називаються панміктичними або менделівськими.

Генетична структура панміктичної популяції підпорядковується певним закономірностям спадковості, які виявляються не в межах окремого схрещування, а в цілій сукупності особин. Здебільшого панміктичні популяції складаються з різного числа домінантних AA і рецесивних aa гомозигот та гетерозигот Aa . Згідно з законом Гарді-Вайнберга, гомозиготи і гетерозиготи перебувають у певному співвідношенні. Закономірне співвідношення генів устанавлюється на основі їх частоти, або концентрації за формулою:

$$p^2AA + 2pqAa + q^2aa = 1,$$

де p^2 — частота домінантних гомозигот AA ;

$2pq$ — частота гетерозигот Aa ;

q — частота рецесивних гомозигот aa .

Формула випливає з того, що при однаковому розподілі генів серед самців і самок у популяції утворюється p чоловічих гамет з геном A і q — з геном a ; так само і жіночих гамет — p з геном A і q з геном a . Отже, частота чоловічих гамет дорівнює двочлену $(pA + qa)$ і жіночих — теж двочлену $(pA + qa)$. В результаті довільного злиття гамет утворюються такі комбінації: $(pA + qa)(pA + qa) = p^2AA + 2pqAa + q^2aa$.

Частота генів виражається у відсотках або частках одиниці, а суму частот алелей у гомо- і гетерозиготному стані приймають відповідно за 100% чи одиницю:

$$p^2AA + 2pqAa + q^2aa = 100\%;$$

$$p^2AA + 2pqAa + q^2aa = 1$$

Звідси $p = 1 - q$; $q = 1 - p$.

Закономірної рівноваги популяція досягає за одне покоління і в подальшому залишається в такому самому стані. Зберігання відносної постійності частоти генів зумовлює рівновагу генотипів у панміктичній популяції.

Закон Гарді-Вайнберга поширюється на популяції при певних умовах:

- 1) якщо популяції багаточисленні;
- 2) схрещування в них відбувається випадково, без вибору;
- 3) немає процесу мутагенезу, або ж мутації виникають настільки рідко, що їх частоту можна не брати до уваги;
- 4) гомозиготні та гетерозиготні особини однаково життєві і не підлягають добору.

У природних популяціях ці умови далеко не завжди здійснюються, тому генетична структура популяції у більшій чи меншій мірі динамічна.

Запитання для самоконтролю

1. Що таке популяція? Чи є вона функціональною елементарною одиницею еволюції? Чому?
2. На які типи поділяють популяції в залежності від способу розмноження?
3. Чим відрізняється генетична структура популяцій агамних, алогамних і автогамних організмів?
4. В чому полягає значення закону Гарді-Вайнберга?
5. За яких умов закон Гарді-Вайнберга поширюється на популяції?
6. Перерахуйте фактори динаміки популяції.

Робота 1. Установлення частоти генотипів у популяції при різних частотах (p і q) алелей

Завдання. Простежити зміну частоти генотипів у популяції залежно від змінених частот алелей. З цієї метою:

1. Накреслити таблицю з різними частотами алельних генів:

p	Частота генотипів			q
	AA (p ²)	Aa (2pq)	aa (q ²)	
0,95	0,9025	0,0950	0,0025	0,05
0,85				0,15
0,75				0,25
0,65				0,35
0,50				0,50
0,45				0,55
0,30				0,70
0,20				0,80
0,10				0,90

2. Обчислити частоти гомозиготних і гетерозиготних генотипів для кожного випадку.

Приклад. У першому рядку таблиці частота домінантної алелі гена *A* становить 0,95, а рецесивної алелі — 0,05. Частоти генотипів для цього випадку визначаємо таким обчисленням: $AA=p^2$, тобто $(0,95)^2=0,9025$; $aa=q^2=(0,05)^2=0,0025$; гетерозиготи $Aa=2pq=(0,95 \times 0,05) \times 2=0,0950$. Знайдені числа ставимо у відповідні графи. Перевіряємо обчислення, підставляючи у формулу $p^2 + 2pq + q^2=1$ відшукані дані: $0,9025 + 0,0950 + 0,0025=1$.

3. Порівняти частоти домінантних гомозигот, гетерозигот, рецесивних гомозигот по рядках таблиці. Впевнитися в тому, що частота генотипів у популяції змінюється із зміною частоти алелей.

Робота 2. Визначення частоти генів у популяції людини

Завдання. У групі студентів, прийнятій за популяцію, підрахувати частоту генів, що зумовлюють колір очей.

Хід роботи

1. Підрахувати кількість особин у групі, які мають карі й блакитні очі.

2. Обчислити відсоток відношення домінантної (карі) і рецесивної (блакитні) ознак. Результати записати в зошит за формою:

Фенотип	Кількість особин	%	Частота генів	
			Домінантного	Рецесивного
Карі очі				
Блакитні очі				

3. Визначити частоту домінантних і рецесивних генів у популяції.

Частота рецесивного гена дорівнює кореню квадратному з числа гомозиготних рецесивних особин, вираженому в частках одиниці. Наприклад, $aa = 25\% = 0,25$; $a = \sqrt{aa} = \sqrt{0,25} = 0,5 = 50\%$.

Частоту домінантного гена визначають відніманням частоти рецесивного гена від 100%; $A = 100\% - a\%$.

У наведеному прикладі відсоток домінантного гена A дорівнює: $100\% - 50\% = 50\%$.

Робота 3. Розв'язування задач по темі: «Генетика популяцій»

Приклад 1. Серед жителів Лондона частота зустрічання альбіносів $1/20000$. Визначити насичення популяції геном альбінізму (тобто резерв мутаційної мінливості). *Примітка:* альбінізм детермінує рецесивна алель.

Згідно закону Харді-Вайнберга, частота з якою зустрічаються домінантні і рецесивні алелі в ідеальній популяції описується формулою $p + q = 1$ (де p - частота з якою зустрічається домінантна алель, а q - рецесивна). Частоту з якою трапляються гомозиготи і гетерозиготи можна визначити за формулою: $p^2(AA) + 2pq(Aa) + q^2(aa) = 1$. Отже, якщо альбіноси (aa) зустрічаються з частотою $1/20000$, то $q^2 = 1/20000$.

$$\text{Звідси: } q = \sqrt{\frac{1}{20000}} = \frac{1}{140}; \quad p = 1 - q, \text{ тобто } p = 1 - 1/140 = 139/140;$$

$$2pq = 2 \times 1/140 \times 139/140 = 1/70.$$

Отже, кожний сімдесятий житель Лондона несе в собі ген альбінізму.

Відповідь. Кожний сімдесятий житель Лондона є носієм гену альбінізму.

Приклад 2. Популяція містить 400 особин. Із них з генотипами AA - 20; Aa - 120; aa - 260. Визначити p і q .

Задачу можна подати в такому вигляді:

n - загальне число особин;

D - число гомозигот за домінантною алеллю;

H — число гетерозигот;

R — число гомозигот за рецесивною алеллю.

$$p = (D+0,5H) : n, \quad p = (20 + 60) : 400 = 0,2.$$

$$q = (R+0,5H) : n, \quad q = (260 + 60) : 400 = 0,8.$$

Відповідь. $p=0,2$; $q=0,8$.

Приклад 3. Вчисліть частоту генотипів AA , Aa та aa (у %), якщо гомозиготні особини aa складають у популяції 1%.

$$\text{Частота генотипу } aa (q^2) = 1\% = 0,01.$$

$$\text{Звідси частота алеля } a (q) = \sqrt{q^2} = 0,1.$$

$$\text{Частота гена } A(p) = 1 - 0,1 = 0,9.$$

$$\text{Частота генотипу } AA (p^2) = 0,9^2 = 0,81.$$

$$\text{Частота генотипу } Aa (2pq) = 2 \times 0,9 \times 0,1 = 0,18.$$

У відсотках популяція складається з 81% AA , 18% Aa , 1% aa .

Відповідь. Популяція складається з 81% AA , 18% Aa , 1% aa .

Приклад 4. У сорту кукурудзи альбіносні рослини (rr) зустрічаються з частотою 0,0025. Визначте число алелей R і r та частоту генотипів RR і Rr цього сорту.

Знаючи частоту особин з генотипом rr , тобто q^2 , можна визначити частоту q гена r у цій популяції:

$$q = \sqrt{q^2} = \sqrt{0,0025} = 0,05. \quad p + q = 1; \quad p = 1 - q; \quad p = 1 - 0,05 = 0,95.$$

$$p^2RR + 2pqRr + q^2rr = 1.$$

Частота генотипу $RR = 0,95^2 = 0,9025$, або 90,25%. Частота генотипу $Rr = 2 \times 0,95 \times 0,05 = 0,095$, або 9,5%.

Відповідь. $p = 0,95$; $q = 0,05$; частота генотипу: $RR = 90,25\%$, $Rr = 9,5\%$.

Приклад 5. При визначенні MN груп крові в популяції ескімосів Гренландії встановлено, що з 3000 обстежених 2505 мали генотип $I^M I^M$, 27 - генотип $I^N I^N$, 468 - генотип $I^M I^N$. Визначити частоту всіх трьох генотипів: 1) у відсотках:

2) у частках одиниці.

Всі генотипи відомі. Частоту їх у відсотках і частках одиниці визначаємо за допомогою математичних обчислень.

1. Загальну кількість обстежених (3000) беремо за 100%. Люди з генотипом $I^M I^M$ становитимуть: $I^M I^M = 2505 : 3000 \times 100\% = 83,5\%$;

з генотипом $I^N I^N = 27 : 3000 \times 100\% = 0,9\%$;

з генотипом $I^M I^N = 468 : 3000 \times 100\% = 15,6\%$.

2. Для того, щоб частоту генотипів виразити у частках одиниці, треба загальну кількість обстежених взяти за одиницю й визначити відносні величини:

$$I^M I^M = 2505 : 3000 = 0,835;$$

$$I^N I^N = 27 : 3000 = 0,009;$$

$$I^M I^N = 468 : 3000 = 0,156.$$

Перевіряємо відповідь: $0,835 + 0,009 + 0,156 = 1$.

Відповідь. 1. Частота $I^M I^M = 83,5\%$, частота $I^N I^N = 0,9\%$, частота $I^M I^N = 15,6\%$.

2. Частота $I^M I^M = 0,835$, частота $I^N I^N = 0,009$, частота $I^M I^N = 0,156$.

Приклад 6. Серед обстежених 3500 людей групи крові 0 мали 1634, A - 1466, B - 291, AB - 109 особин. Яка частота алелей A, B, 0 у вивченій популяції? Позначимо pA, qB, r0. З рівняння $(p + q + r)^2 = p^2 + q^2 + r^2 + 2pq + 2pr + 2qr$,

$$A \quad p^2 + 2pr = 1466 : 3500 = 0,419 \quad (1); \quad A_B \quad 2pq = 109 : 3500 = 0,031 \quad (3);$$

$$B \quad q^2 + 2qr = 291 : 3500 = 0,083 \quad (2); \quad 0 \quad r^2 = 1634 : 3500 = 0,467 \quad (4).$$

$$\text{Звідки } r = \sqrt{r^2} = \sqrt{\frac{1634}{3500}} = 0,638.$$

Підставимо значення r у рівняння (1) і (2).

$$p^2 + 1,367 - 0,419 = 0, \quad q^2 + 1,367q - 0,083 = 0.$$

Одержали квадратне рівняння $ax^2 + bx + c = 0$, корені якого

$$x^2 = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}; \quad p = \frac{-1,367 + \sqrt{1,869 + 1,676}}{2} = 0,258;$$

$$q = \frac{-1,367 + \sqrt{1,869 + 0,332}}{2} = 0,059.$$

$$r = 1 - (p + q); \quad r = 1 - (0,258 + 0,059) = 0,683.$$

Відповідь. pA = 0,258; qB = 0,059; r0 = 0,683.

Задачі і вправи

1. Вибірка рослин виявилася такою, що складалася із 128 гетерозигот Kk . Визначити частоту (p) домінантного алеля K і частоту (q) його рецесивного алеля в частках одиниці й у відсотках від загального числа алелей ($K+k$).
2. Обчислити частоту (p) домінантного алеля і частоту (q) рецесивного алеля в таких вибірках із популяцій: а) 400 особин CC і 100 особин cc ; б) 700 особин AA і 300 особин aa ; в) 180 особин MM і особин mm ; г) 60 особин NN і 40 особин nn .
3. У популяції відомі частоти алелей: $p = 0,8$; $q = 0,2$. Визначити частоту генотипів (AA , Aa , aa) за умови, що популяція знаходиться в стані рівноваги.
4. Популяція складається з 80% особин із генотипом AA і 20% — з генотипом aa . Визначити в частках одиниці частоти генотипів AA , Aa і aa після встановлення рівноваги в популяції.
5. У вибірці, що складається з 84000 рослин жита, 210 рослин виявилися альбіносами, тому що в них рецесивні гени rr знаходяться в гомозиготному стані. Визначити частоти алелей R і r і частоту гетерозиготних рослин, що несуть ознаку альбінізму.
5. Популяція складається з 60% особин із генотипом MM і 40% — з генотипом mm . Визначити в частках одиниці частоти генотипів MM , Mm і mm після встановлення в популяції рівноваги відповідно до закону Харді—Вайнберга.
6. Як зміниться рівноважний розподіл генотипів у популяції: ($AA = p^2 = 0,49$) + ($Aa = 2pq = 0,42$) + ($aa = q^2 = 0,09$) при встановленні нової концентрації алелей: $A = p = 0,6$, $a = q = 0,4$.
7. На одному з островів зареєстровано 10000 лисиць, серед яких було 9 білих, решта - руді. Рудий колір домінує над білим. Визначте концентрацію алелей рудого і білого кольорів у цій популяції.
8. У великої рогатої худоби породи шортгорн червона масть не повністю домінує над білою. Гібриди від схрещування червоних і білих особин мають чалу масть. У районі, який спеціалізується на розведенні шортгорнів, зареєстровано 4169 червоних, 3780 чалих і 756 білих тварин. Визначте частоту алелей червоного і білого забарвлень худоби в цьому районі.
9. У популяції морських свинок тварини із скуйовдженою шерстю (рецесивна ознака, зумовлена алеллю a) зустрічаються з частотою 36% , тобто становлять 0,36 усієї популяції. Тварини з гладкою шерстю трапляються з частотою 64% , що становить 0,64 всієї популяції. Визначити частоту гена A і частоту його алеля

a. Частоти p і q виразити у відсотках.

10. Альбінізм у жита спадкується як аутосомна рецесивна ознака. На обстеженій ділянці з 84000 рослин виявлено 210 альбіносів. Визначте частоту гена альбінізму в жита.

11. У популяції людей кароокі індивіди трапляються у 51%, а блакитноокі - у 49%. Карі очі домінують над блакитними. Визначте частота гетерозигот серед карооких людей.

12. В одній панміктичній популяції частота алеля в дорівнює 0,1, а в іншій - 0,9. У якій популяції більше гетерозигот?

Лабораторна робота №14

Тема: Генетика людини та медична генетика

Мета: Ознайомитися із особливостями вивчення закономірностей спадковості, успадкування і мінливості у людини. Впевнитись, що успадкування ознак у людини підлягає тим же самим законам, що встановлені і для решти організмів. Познайтеся з цитогенетичним та генеалогічним методами медичної генетики. Навчитесь складати і аналізувати родоводи.

Основні теоретичні відомості та методичні поради

Генетика людини (антропогенетика) — це розділ генетики, який вивчає спадковість і мінливість у людини.

Людина є складовою частиною біосфери і продуктом її еволюції, тому закономірності біологічних процесів, які мають універсальне значення, в повній мірі стосуються і людини. Отже, закономірності спадковості і мінливості можна повністю перенести на людину та її популяції.

В той же час, вивчення спадковості і мінливості у людини пов'язано з рядом труднощів, а саме: з неможливістю направлених схрещувань для генетичного аналізу та експериментального одержання мутацій; пізнім статевим дозріванням; малою кількістю потомства; неможливістю забезпечення однакових і строго контрольованих умов для розвитку нащадків від різних шлюбів; недостатньою точністю реєстрації спадкових ознак і невеликих родоводів; наявністю в каріотипі порівняно великого числа ($2n=46$) хромосом, що погано різняться.

Все це змушує шукати нетрадиційні шляхи та методи наукових досліджень генетики людини.

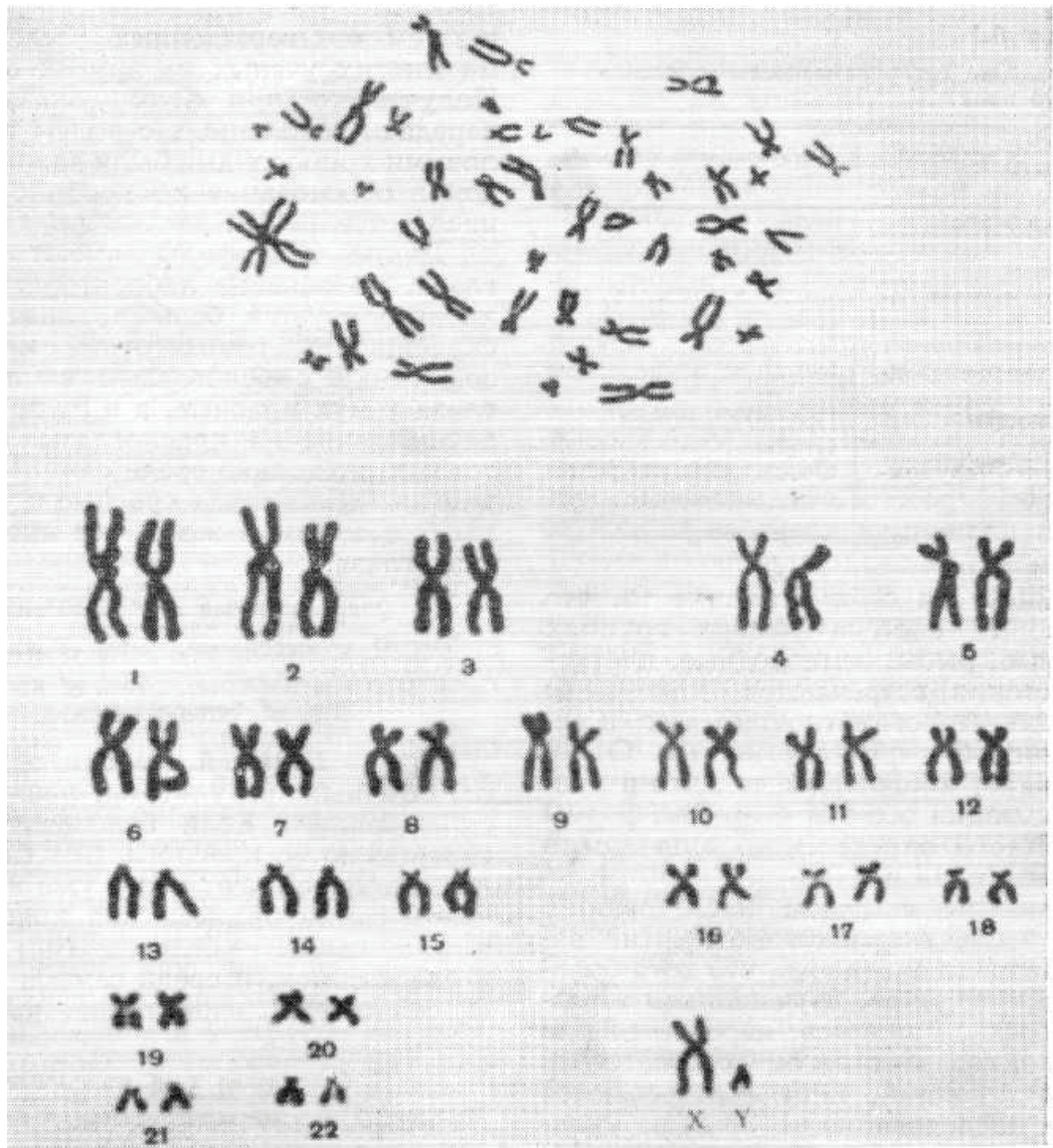
Основними методами генетики людини є генеалогічний, близнюковий, цитогенетичний, біохімічний, популяційно-статистичний, онтогенетичний, імунологічний. Всі вони відбивають її особливості як генетичного об'єкта.

Цитогенетичний метод дає можливість вивчити будову хромосом і каріотип людини в цілому. Каріотип — повний набір хромосом соматичної клітини, який характеризується певною кількістю, величиною та формою хромосом для кожного виду організмів. Основні методи цитогенетики: каріотипування і визначення статевого хроматину.

Каріотипування — вивчення каріотипу в соматичній клітині. Каріотип людини найчастіше досліджують у лімфоцитах периферичної крові. Для цього венозну кров центрифугують, виділяють лейкоцити. Потім їх вміщують у спеціальне поживне середовище з фітогемаглютиніном (ФГА), який стимулює поділ одного з видів лейкоцитів — лімфоцитів. Суспензію витримують у термостаті протягом 72 год. За 3 год до кінця інкубації додають колхіцин. Колхіцин затримує поділ лімфоцитів на стадії метафази. Потім до культури лімфоцитів додають гіпотонічний розчин КСІ, в якому клітини збільшуються в об'ємі, а хромосоми з області екватору розподіляються по всій клітині. Препарат забарвлюють ядерними барвниками і вивчають у світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом. Сукупність хромосом одного лімфоцита на стадії метафази називають *метафазною пластинкою*. Метафазну пластинку можна також сфотографувати і вивчити кількість і форму хромосом на мікрофотографії.

У соматичній клітині здорової людини 46 хромосом (44 аутосоми і 2 статеві хромосоми) (Див. Рис. 9.). Хромосомний набір жінки можна записати як 46, XX, а чоловіка — 46, XY. Для ідентифікації хромосом людини запропонована Денверська Міжнародна класифікація (1960), за якою всі хромосоми розподіляються попарно на 7 груп у порядку зменшення розміру (A — 1, 2, 3 пари; B — 4, 5 пари; C — 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12; D — 13, 14, 15; E — 16, 17, 18; F — 19, 20; G — 21, 22). Статеві хромосоми X і Y виділяють окремо.

Рис. 9. Хромосомний набір чоловіка. Метафаза і каріотип



Названі методики дозволяють вивчити кількість і форму хромосом людини. Зміна кількості і форми хромосом є причиною хромосомних захворювань. Хромосомні хвороби виникають внаслідок порушення розходження хромосом до полюсів клітин у процесі мейозу і мітозу.

При описанні каріотипу людини з різними хромосомними захворюваннями перш за все вказують загальну кількість хромосом і набір статевих хромосом. Потім визначають, яка хромосома зайва, якої не вистачає. Каріотип хворої з синдромом Шерешевського — Тернера записується як 45, XO; каріотип хлопчика з синдромом Дауна — 47, XY+21; каріотип хлопчика з синдромом Патау — 47, XY+13; каріотип дівчинки з синдромом Едвардса — 47, XX+18.

Коротке плече хромосоми позначають літерою *p*, довге — *q*. Каріотип жінки з делецією короткого плеча 5-ї хромосоми записують так: 46, XX, *del5p*.

Визначення статевого хроматину дозволяє побічно судити про кількість статевих хромосом у соматичних клітинах людини. Розрізняють X- та Y-статевий хроматин.

X-хроматин — це конденсована X-хромосома в інтерфазному ядрі соматичної клітини. Відповідно до теорії М. Лайон (1961), у ядрі соматичної клітини жінки може бути активною тільки одна X-хромосома, а друга інактивується ще в ембріогенезі. Інактивована X-хромосома видима в ядрах клітин епітелію слизової оболонки порожнини рота у вигляді глибоки (тільця Барра), має форму потовщення ядерної мембрани.

Найчастіше статевий хроматин вивчають в епітелії слизової оболонки щоки. Кількість глибок статевого хроматину на одиницю менше від кількості X-хромосом у соматичних клітинах, що виражається формулою: $a = n - 1$, де a — кількість глибок X-хроматину, n — кількість X-хромосом. Так, у здорової жінки одне тільце Барра, при трисомії X — два тільця Барра, при моносомії X тільця Барра відсутні. У здорових чоловіків у ядрах соматичних клітин тільця Барра немає, при синдромі Клайнфельтера (XXY) з'являється одне тільце Барра.

В ядрах соматичних клітин чоловіків спостерігається Y-хроматин — це Y-хромосома, яка люмінесціює в ядрі соматичної клітини. Для виявлення Y-хроматину соматичні клітини досліджують за допомогою люмінесцентного мікроскопа. Y-Хромосома світиться зеленим кольором. В ядрі здорового чоловіка видно одну ділянку флюоресценції, при полісомії Y (XYY)—дві і т. п.

Генеалогічний метод - один з важливих методів медичної генетики. Генеалогія в широкому розумінні слова — вчення про родоводи. *Генеалогічний метод* — *метод родоводів*, тобто простежування хвороб (чи ознак) у сім'ї чи в роді з укаванням типу родинного зв'язку між членами родоводу. У медичній генетиці спосіб називають клініко-генеалогічним, оскільки мова йде про спостереження патологічних ознак методами клінічного обстеження. Цей метод складається з складання родоводу і генетичного аналізу.

Збирання відомостей про сім'ю починається з пробанда. **Пробандом** називають особу, що першою попала в поле зору дослідника і з якої починають складати родовід. Рідні брати і сестри пробанда називаються **сібсами**. Для зображення родоводу користуються символами (Див. Рис. 10).

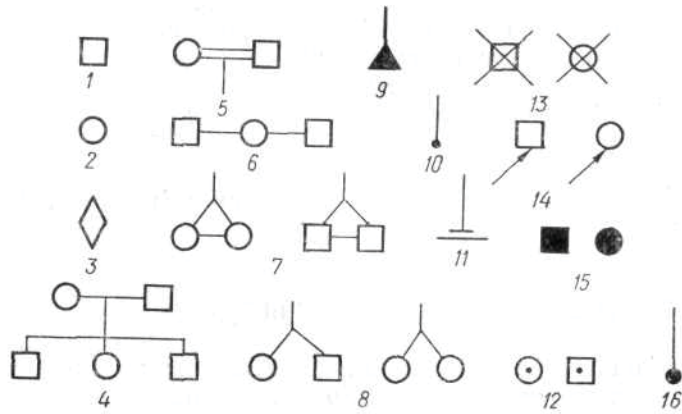


Рис. 10. Стандартні позначення на родоводах (за М. П. Бочковим та співавт., 1984, з доповненнями). 1— особа чоловічої статі; 2 — особа жіночої статі; 3— стать невідома; 4— шлюб та діти (сибси); 5 — близькоспоріднений шлюб; 6 — двічі в шлюбі; 7 — монозиготні близнята; 8 — дизиготні близнята; 9 — викидень; 10— аборт; 11 — бездітний шлюб; 12 — носій рецесивного гена; 13 — померлий; 14 — пробанд; 15 — хворий; 16 — мертвонароджений.

На рис. 11 наведено приклад родоводу сім'ї, в якій зустрічається природжена катаракта.

У родоводі усіх представників одного покоління позначають умовними символами в одному рядку. Покоління нумерують римськими цифрами зліва зверху вниз. Усіх членів одного покоління нумерують зліва направо арабськими цифрами.

Для позначення родинних зв'язків між членами родоводу застосовуються наступні знаки. Горизонтальна лінія, що з'єднує коло з квадратами - лінія шлюбу. Від неї відходить графічне «коромисло», до якого прикріплені знизу діти, які народилися від цього шлюбу. Близнята позначаються поряд розташованими фігурами (колами, квадратами), підвішеними до однієї точки коромисла. Одружені діти з'єднуються лініями шлюбу зі своїми подружжями. Щоб позначити, що в подружньої пари було декілька дітей, ставлять ромб з цифрою всередині. Ця цифра означає число дітей.

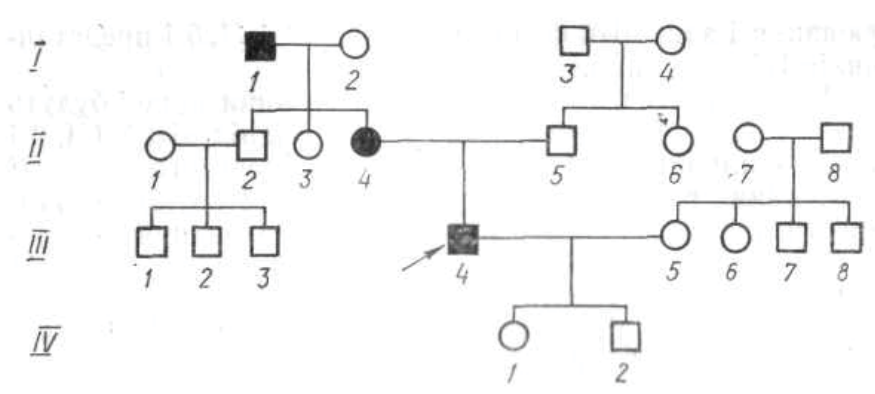


Рис. 11. Родовід сім'ї, в якій зустрічається природжена катаракта

Схема родоводу обов'язково супроводжується описанням позначок під малюнком-легендою. Кожен член родоводу має свій шифр. Наприклад, пробанд **III, 4** — чоловік, який страждає природженою катарактою. У легенду включають дані клінічного і лабораторного дослідження пробанда, диференційний діагноз хвороби, дані особистого огляду лікарем хворих і здорових родичів пробанда, дані, одержані при опитуванні пробанда та його рідних. У висновку про аналіз родоводу вказують: 1) чи успадковується ознака, що вивчається; 2) тип успадкування (аутосомно-домінантний, аутосомно-рецесивний або зчеплений із статтю); 3) зиготність пробанда (гомо-або гетерозигота) за даною ознакою; 4) ступінь пенетрантності й експресивності гена, який аналізують.

При визначенні типу успадкування виходять з того, що залежно від локалізації мутантних генів (в аутосомі чи в статевій хромосомі) та особливостей генних взаємодій (домінантність, рецесивність та ін.), розрізняють такі найважливіші типи успадкування моногенних ознак (в тому числі і спадкових хвороб) у людини:

1) аутосомно-домінантний (якщо ген локалізується в аутосомі і є домінантним);

2) аутосомно-рецесивний (якщо ген належить аутосомі і є рецесивним);

3) аутосомно-кодомінантний (якщо алельні гени кодомінантні і знаходяться в гомологічних аутосомах);

4) Х-зчеплений домінантний (якщо домінантний ген локалізується в Х-хромосомі);

5) Х-зчеплений рецесивний;

6) У-зчеплений тип (якщо гени кодують голандричні ознаки);

7) цитоплазматичний тип успадкування (ознаки визначаються генами цитоплазми).

Істотна трудність з якою зустрічається генеалогічний метод, — недостача детальних родоводів.

Запитання для самоконтролю

1. У чому полягають особливості вивчення генетики людини?
2. Які ознаки людини називаються менделюючими?
3. Які основні методи антропогенетики? У чому суть кожного із них?

4. Для чого використовують генеалогічний метод?
5. Як успадковуються зчеплені з аутосомами ознаки людини?
6. У чому основні відмінності аутосомно-домінантного і аутосомно-рецесивного типу успадкування?
7. Які ознаки називають голандричними?
8. Чому генетики рекомендують уникати шлюбу, який позначають на родоводі подвійною лінією?
9. З якою метою проводять пренатальну діагностику?
10. Які завдання медико-генетичних консультацій?

Робота №1. Складання і аналіз родоводів

Приклад. Наведено родовід сім'ї (рис. 12), в якій трапляється альбінізм. Визначте, як успадковується захворювання і запишіть генотипи осіб II, 4 і II, 5 і представників III покоління.

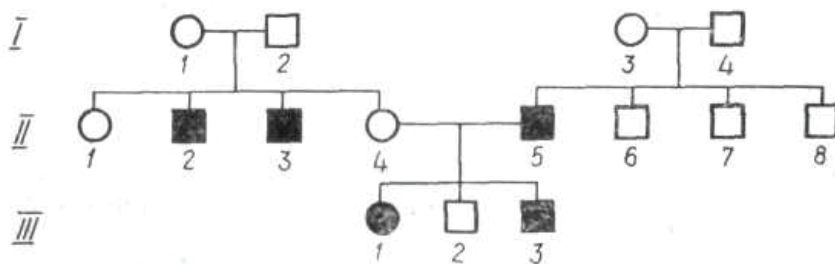


Рис. 12. Родовід сім'ї в якій трапляється альбінізм.

Розв'язок

Ключем до розв'язання задачі будуть батьки, I, 1 і I, 2. Батьки здорові, а у їхніх дітей (II, 2 і II, 3)—альбінізм. Отже, батьки — гетерозиготні носії рецесивних генів альбінізму, а діти (II, 2 і II, 3) — гомозиготи за рецесивним геном. Тип успадкування — аутосомно-рецесивний. Мати (II, 4)— гетерозиготний носій гена альбінізму (генотип Aa). Батько (II, 5) має генотип aa . Генотипи дітей третього покоління: III, 1 — aa , III, 2 — Aa , III, 3 — aa .

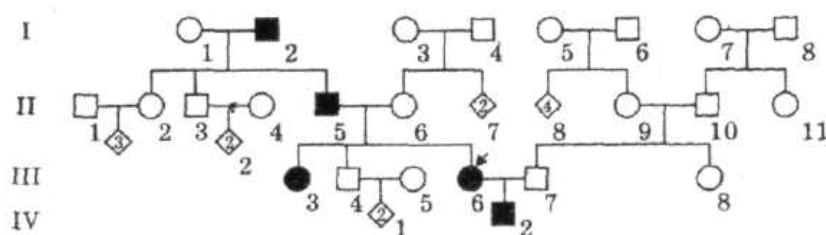
Хід роботи

Завдання 1. Пробанд — хлопчик, який добре володіє правою рукою. Брати і сестри його — лівші. Мати пробанда правша, а батько — лівша. У матері пробанда два брати, один із них — правша, другий — лівша. Бабуся пробанда за материнською лінією — правша, а дід — лівша. Брат матері пробанда (дядько пробанда) — правша, одружився з жінкою-правшою. У них дві дочки-лівші. Складіть родовід сім'ї, визначте характер успадкування ознаки і генотипи всіх членів сім'ї.

Завдання 2. У членів однієї сім'ї спостерігається глухонімота. Пробанд — глухоніма дівчинка. Її брат, мати і батько здорові. З боку батька пробанда тітка і дід здорові, а бабуся глухоніма. У матері пробанда є глухоніми брат і здорові брат і сестра. Складіть родовід. Визначте тип успадкування ознаки і генотипи членів родоуду.

Завдання 3. Пробанд — чоловік, що страждає природженою катарактою, що була у його матері, а також у дядька і бабусі за материнською лінією. Дід і тітка з боку матері, чоловік тітки і її 3 сини здорові. Батько пробанда, тітка за батьківською лінією, а також дід і бабуся з боку батька, жінка пробанда, її сестра, два брати і батьки здорові. Із трьох дітей пробанда два сини здорові, а дочка хворіє природженою катарактою. Складіть родовід і визначте тип успадкування даного захворювання.

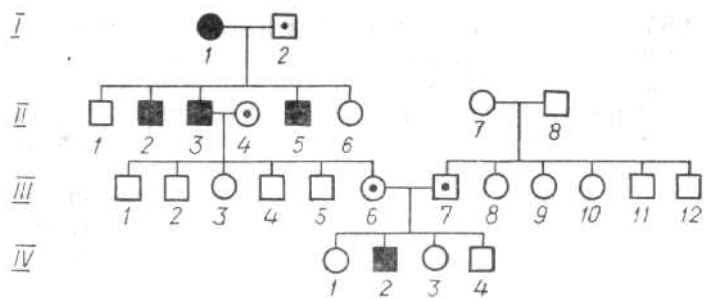
Завдання 4. За даними зібраного у пробанда (III - 6, відмічений стрілкою) анамнезу для сім'ї із спадковим захворюванням складено наведений нижче родовід.



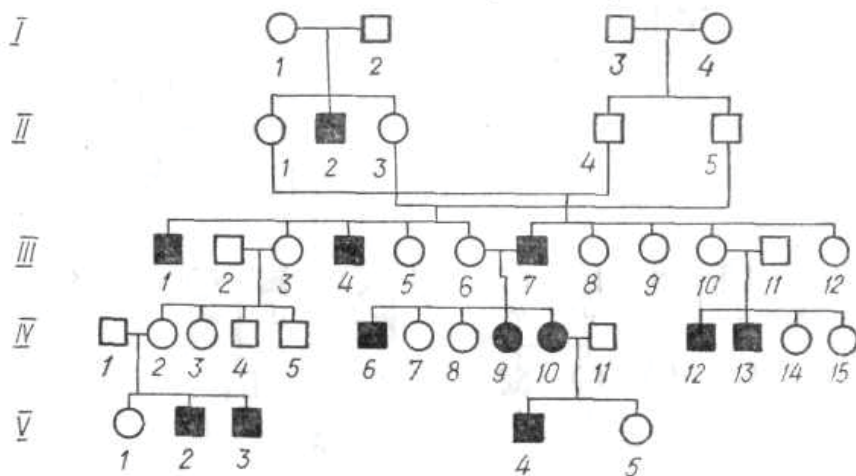
а). Прочитайте родовід, взявши за відправний пункт пробанда. В якій спорідненості з пробандом знаходяться його хворі рідні: I, 2; II, 5; III, 3; IV, 2?

б) Як спадкується хвороба: домінантно чи рецесивно, зчеплено зі статтю чи аутосомно?

Завдання 5. На малюнку зображена схема родоуду сім'ї, в якій частина людей страждає рідкою аномалією – гіпотрихозом. Визначте характер успадковування цієї ознаки і генотипи членів родоуду I, 1, 2; II, 5, 6; III, 6, 7; IV, 2, 3.



Завдання 5. На малюнку зображено родовід, в якому трапляються хворі на гемофілію. Поясніть причину народження двох хворих дівчаток (IV, 9 і 10). Напишіть їхні генотипи, а також генотипи їхніх батьків і дітей (V, 4 і 5).



Робота №2. Розв'язування задач на аналіз каріотипу людини з різними хромосомними захворюваннями

Приклад 1. У чоловіка з синдромом Клайнфельтера замість двох статевих хромосом — три (XXY). Поясніть, як могли утворитись зиготи з подібним незвичайним набором хромосом. Укажіть всі можливі випадки відхилення від нормальної кількості статевих хромосом у людини.

Розв'язок

В одного з батьків при мейозі не відбулося розходження статевих хромосом (обидві статеві хромосоми потрапили в одну гамету). При цьому

в другій гаметі статевих хромосом немає. Якщо порушилось розходження хромосом у матері, то у неї могли утворитись яйцеклітини $22A+XX$ або $22A+0$, де A — аутосоми. Після запліднення таких яйцеклітин нормальними сперматозоонами з однією X - або Y -хромосоною ($22A+X$ або $22A+Y$) можуть утворитись зиготи $44A+XXX$, $44A+XXY$, $44A+XO$, $44A+YO$. Якщо розходження хромосом не відбудеться у батька, то утворюються сперматозоони $22A+XY$ і $22A+0$. Внаслідок злиття таких сперматозоонів з нормальними яйцеклітинами утворюються зиготи: $44A+XXY$, $44A+XO$.

Чоловіки, що мають в усіх своїх клітинах набори статевих хромосом XXY , страждають синдромом Клайнфельтера. У жінок з хромосомами XXX — синдром трисомії X , із хромосомами XO — синдром Шершевського — Тернера. Зиготи YO гинуть.

Приклад 2. У жінки має місце збалансована транслокація хромосоми №21 на № 13. Яка ймовірність народження у неї дитини з синдромом Дауна?

Розв'язок

Позначимо транслокаційну хромосому №21 на № 13 як $21/13$. У каріотипі жінки одна хромосома 21, одна 13 і одна $21/13$. Ці пари хромосом комбінуються випадково, тому теоретично у жінки можуть утворитись шість різних типів гамет: а) $21/13$; б) 21 і 13; в) 13; г) $21/13$ і 21; д) 21; е) $21/13$ і 13. Після запліднення нормальними сперматозоонами може утворитись відповідно шість варіантів зигот. Зигота з трисомією за 21-ю парою хромосом утворюється після злиття яйцеклітини $21/13$ і 21 з нормальними сперматозоонами. Імовірність появи такої зиготи становить $1/6$, або 16,6%. Тому ймовірність народження у жінки дитини з синдромом Дауна дорівнює 16,6% •

Хід роботи

Завдання 1. При дослідженні каріотипу в клітинах ембріонів після спонтанного аборту виявили такі зміни у кожного: а) 92 хромосоми; б) 47 хромосом, зайва хромосома 1-ї пари; в) 45 хромосом, одна статевих хромосом Y ; г) 45 хромосом, одна хромосома 5-ї пари; д) 47 хромосом, делеція однієї з хромосом 2-ї пари; е) 69 хромосом; є) 44 хромосоми, відсутність хромосом 1-ї пари. Які мутації відбулись у клітинах ембріонів?

Завдання 2. При синдромі Едвардса (трисомія E-18) діти вмирають на першому році життя внаслідок численних вад кісткової системи і внутрішніх органів. Поясніть механізм походження цієї мутації, якщо: а) в усіх клітинах дитини спостерігається трисомія E-18; б) у дитини частина клітин має нормальний каріотип, а друга з трисомією E-18.

Завдання 3. При синдромі Дауна спостерігається трисомія по 21 парі хромосом. Каріотип людини 47, XX+21 або 47, XY+21. Поясніть механізм походження цієї мутації й вкажіть, в яких клітинах вона відбулась, якщо: а) всі клітини мають порушений каріотип; б) поряд з клітинами з нормальним каріотипом є клітини з трисомією по 21 парі.

Завдання 4. У медико-генетичну консультацію звернулась жінка з фенотипом синдрому Шерешевського — Тернера. За допомогою цитогенетичного методу було виявлено, що частина її клітин має каріотип 45, XO, а друга частина — 47, XXX приблизно у рівних пропорціях. Як пояснити це явище?

Завдання 5. У медико-генетичну консультацію звернулась здорова вагітна жінка з проханням визначити стать плоду, тому що її брат і перша дитина (син) страждають тяжкою формою гемофілії. У клітинах із амніотичної рідини статевого хроматину не виявлено. Який можна зробити висновок про стать плоду? Визначте ймовірність народження хворої дитини.

Завдання 6. У літературі описані випадки народження: а) двох монозиготних сестер-близнят, одна з яких страждає гемофілією, а друга — гетерозиготний носій патологічного гена; б) двох монозиготних сестер-близнят, одна з яких страждає псевдогіпертрофічною м'язовою дистрофією, а друга — здорова; в) двох монозиготних сестер-близнят, одна з яких страждає дальтонізмом, друга — здорова. Гемофілія, псевдогіпертрофічна дистрофія, дальтонізм — рецесивні ознаки, зчеплені з хромосомою. Поясніть ці феномени за допомогою теорії М. Лайон.

Задачі і вправи

1. Пробанд — дівчина, що має нормальну будову пальців. Її мати і батько також з нормальною будовою пальців. У батька пробанда є сестра з брахідактилією і брат з нормальною будовою пальців. Тітка пробанда по лінії батька, що має брахідактилію, в шлюбі з чоловіком без брахідактилії. У їхнього сина брахідактилія. У бабусі пробанда за лінією батька і її сестри — брахідактилія, дід без аномалій. Прабабуся і прадід (батько й мати бабусі пробанда по лінії батька) мають брахідактилію. Прадід був одружений двічі. Його друга жінка без брахідактилії. Від другого шлюбу у прадіда було дві дочки без аномалій і чотири сини з брахідактилією. Всі діти прадіда були одружені. Їхні чоловіки і жінки без аномалій, у однієї з його дочок народились дві дівчинки та хлопчик без брахідактилії; у другої дочки — хлопчик без аномалій, у одного сина — дівчинка з брахідактилією; у другого

сина — дочка без аномалій і дві дівчинки — монозиготні близнята з брахідактилією. У двох других синів народились здорові сини. Визначте ймовірність народження дитини з аномалією в сім'ї пробанда за умови, що вона вступить до шлюбу з чоловіком, який має такий самий генотип, що й у неї.

2. Пробанд - здорова жінка, її сестра теж здорова, а два брати страждають дальтонізмом. Мати і батько пробанда здорові. Чотири сестри матері пробанда здорові, чоловіки їхні теж здорові. Про двоюрідних сибсів з боку матері пробанда відомо: в одній сім'ї один хворий брат, дві сестри і брат здорові; у двох інших сім'ях по одному хворому брату і по одній здоровій сестрі; в четвертій сім'ї - одна здорова сестра. Бабуся пробанда з боку матері здорова, дід страждав дальтонізмом. З боку батька пробанда хворих дальтонізмом не спостерігалось. Складіть родовід. Визначте вірогідність народження в пробанда хворих дальтонізмом дітей за умови, що вона вийде заміж за здорового чоловіка.

3. Пробанд - нормальна жінка - має п'ять сестер, дві з яких однойцеві близнята, дві — двояйцеві близнята. Всі сестри мають шість пальців на руках. Мати пробанда нормальна, батько - шестипалий. З боку матері всі предки нормальні. В батька два брати і чотири сестри - всі п'ятипалі. Бабуся за лінією батька шестипала. В неї було дві шестипалі сестри і одна п'ятипала. Дід за лінією батька і всі його родичі нормально п'ятипалі. Складіть родовід. Визначте вірогідність народження в сім'ї пробанда шестипалих дітей за умови, що вона вийде заміж за нормального чоловіка.

4. Які методи медичної генетики необхідно застосувати: а) для діагностики гемофілії, цукрового діабету, фенілкетонурії; б) для діагностики синдрому Дауна; в) для вивчення генотипу батьків, у яких народилась дитина з гемофілією, і розрахунки ймовірності народження наступної дитини хворою; г) для визначення типу спадковості (аутосомно-домінантного, аутосомно-рецесивного, зчепленого із статтю) патологічної ознаки в сім'ї, у якій народжувались глухонімі діти; д) для розрахунку можливої частоти народження дітей з рецесивною ознакою в населеному пункті?

5. За допомогою яких методів цитогенетики можна діагностувати такі хромосомні хвороби: а) синдром Дауна; б) синдром Шерешевського — Тернера; в) синдром Патау?

6. До якого типу мутацій належать такі хвороби: а) синдром Дауна; б) синдром Шерешевського — Тернера; в) синдром Патау; г) синдром кошачого крику; д) гемофілія; е) альбінізм; є) фенілкетонурія; ж) цукровий діабет; з) синдром Едвардса?

7. У судово-медичній практиці на місці злочину виявили сліди крові злочинця. Було зроблено висновок, що злочинець — жінка. Дослідження яких формених елементів крові дозволило зробити такий висновок?

8. У медико-генетичній консультації обстежили групу чоловіків за допомогою методу визначення Y-статевого хроматину. Який набір Y-хромосом у них, якщо в ядрах соматичних клітин спостерігаються зони люмінесценції: а) одна; б) дві; в) три?

9. У медико-генетичну консультацію звернулись батьки новонародженого, що страждає синдромом Дауна, з питанням, чи можуть у них народитись здорові діти. Який цитогенетичний метод (каріотипування, дослідження статевого хроматину) можна з даному випадку застосувати для обстеження батьків? Чи можуть народитися здорові діти у цих батьків, якщо у матері трисомія за 21-ю парою хромосом? Чи можливе народження здорових дітей, якщо виявляється, що каріотип матері й батька в нормі?

10. Відомо декілька випадків народження монозиготних близнят різної статі: а) дівчинка з синдромом Шерешевського— Тернера і нормальний хлопчик; б) нормальна дівчинка і хлопчик з синдромом Клайнфельтера. Поясніть, як могли з'явитися такі близнята?

Список використаних джерел

1. Андріанов В.Л. Біологія: Розв'язування задач з генетики. - К.: Либідь, 1995.-180 с.
2. Батирова Г. Ш. Збірник задач і вправ з генетики.— Тернопіль: Підручники і посібники, 1997.— 48 с.
3. Бердышев Г.Д., Криворучко И.Ф. Генетика человека с основами медицинской генетики. - К.: Вища школа.- 1979.- 448 с.
4. Вагги К.В., Тихомирова М.М. Руководство к практическим занятиям по генетике.— М.: Просвещение, 1972.- 189 с.
5. Гофман - Кадошников П.Б. Задачник по общей и медицинской генетике. - М.: Изд-во Моск. Ун-та, 1969. - 155 с.
6. Гуляев И.В. Задачник по генетике. М.: Колос, 1980.- 78 с.
7. Дегтярьова Н.І. Лабораторний і польовий практикум з генетики.— К.: Вища школа, 1979.— 286 с.
8. Демидов С.В., Бердышев Г.Д., Толчій Н.М., Черненко К.Д. Генетика.— К.: Фітосоціоцентр, 2007.- 412 с.
9. Загальна і молекулярна генетика: Практикум /С.М. Хапунов, В.Ф. Безруков, Д.М. Голда та ін. - К.: Вища школа, 1995. - 280 с.
- 10.Звягольська І.М. Загальна генетика: збірник задач і вправ. – Полтава,

- Астрая, 1999.- 129 с.
- 11.Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции.– М.: Высш. шк., 1989.– 591 с.
 - 12.Іванченко П.Л., Тимченко А.Д., Сологуб Г.К., Касім Л.Ф. Практичні заняття з біології. - К.: Вища школа, 1972. - 262 с.
 - 13.Лишенко І.Д. Генетика з основами селекції.– К.: Вища школа, 1994.– 416 с.
 - 14.Лобашев М.Е., Ватти К.В., Тихомирова М.М. Генетика с основами селекции.– М.: Просвещение, 1979.– 304 с.
 - 15.Медична генетика: задачі, тести, вправи: Навчальний посібник/ О.В. Романенко, Г.Й. Путинцева, С.М. Пилявська, Т.А. Решетняк. - К.: Вища школа., 1996. - 135 с.
 - 16.Муртазин Г.М. Задачи и упражнения по общей биологии: Пособие для учителей. – М.: Просвещение, 1981. – 192 с.
 - 17.Соколовская Б.Х. 100 задач по общей генетике и молекулярной биологии. - Новосибирск: Наука, 1971.- 64 с.
 - 18.Тоцький В.М. Генетика.– Одеса: Астропринт, 2002.– 710 с.