| Место для баллов: |
|---|
| |

| Код: |
|---|
| |



# КАБИНЕТ 3. ЦИТОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА (39 *баллов*)

## Часть 1 – Цитология (17 *баллов*)

**Задание 1. (*10 баллов).* Приготовление препаратов политенных хромосом мотыля *Chironomus sp.***

**Материалы и оборудование: живые личинки мотыля *Chironomus sp.*, капельница с 45 % уксусной кислотой, капельница с 1 % раствором ацетоорсеина в 45 % уксусной кислоте, предметные стекла, покровные стекла, препаровальные иглы, фильтровальная бумага, пинцет, спиртовка, спички, исследовательский микроскоп.**

**Световая микроскопия – основной метод клеточной биологии, позволяющий с помощью светового микроскопа визуально, с высокой степенью точности изучить морфологию объекта, локализовать его отдельные детали и получить сведения о химизме той или иной части клетки, оценить метаболические свойства и выяснить ее строение на макромолекулярном уровне.**

Политенные хромосомы – гигантские хромосомы животных и растений, осуществляющие синтез ДНК и РНК и образующиеся путем многократной репликации генетического материала в интерфазе. Политенные хромосомы никогда не участвуют в митозе и являются примером соматической полиплоидизации тканей. Соматическая полиплоидизация встречается на терминальных участках развития клеток и тканей и большей частью характерна для специализированных, дифференцированных клеток. Главным результатом соматической полиплоидии является увеличение размера клеток и тем самым увеличение их продуктивности.

**Ход работы**

1. **Выложите пинцетом личинку на предметное стекло и, удерживая одной препаровальной иглой за середину тела, отделите второй препаровальной иглой головную часть личинки (рис. 1). При аккуратном выполнении этой операции передняя часть кишечника вместе со слюнными железами остается прикрепленной к головной части личинки. Слюнные железы имеют вид мелких прозрачных беловатых телец овальной формы (рис. 2).**

**Рис. 1 – Внешний вид личинки *Chironomus sp.***

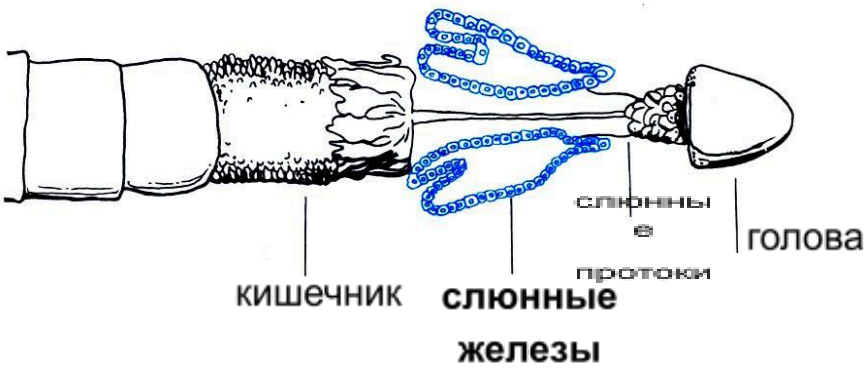



**Рис. 2 – Расположение внутренних органов в головном отделе личинки *Chironomus sp.***

2. **Слюнные железы оставьте на предметном стекле, а остатки личинки уберите со стекла фильтровальной бумагой.**
3. **Нанести на слюнные железы несколько капель ацетоорсеина, и держа препарат в руке, подогреть над пламенем спиртовки 3-5 мин. Окрашивать железы необходимо до однородного темно-красного цвета.**

   ***Внимание*! Не перегревайте препарат! Не допускается вскипания красителя! Нужную степень нагревания можно контролировать при прикосновении предметного стекла к руке: стекло не должно обжигать руку. Если краситель испариться, его нужно добавить еще раз.**

4. **Отмойте слюнные железы от остатков высохшего красителя, добавив несколько капель 45 % раствора уксусной кислоты и промокнув предметное стекло фильтровальной бумагой.**
5. **На готовый препарат нанесите каплю 45 % раствора уксусной кислоты и накройте покровным стеклом. Аккуратно надавите на покровное стекло чистым концом спички без бокового смещения, добиваясь полного и равномерного распределения клеток в один слой.**
6. **Найдите с помощью микроскопирования в клетках слюнных желез политенные хромосомы.**

**После окончания работы поднимите руку и попросите, чтобы к Вам подошел преподаватель и оценил качество выполнения препарата.**

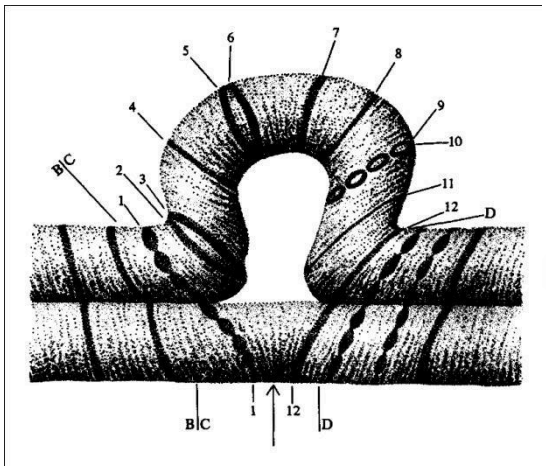
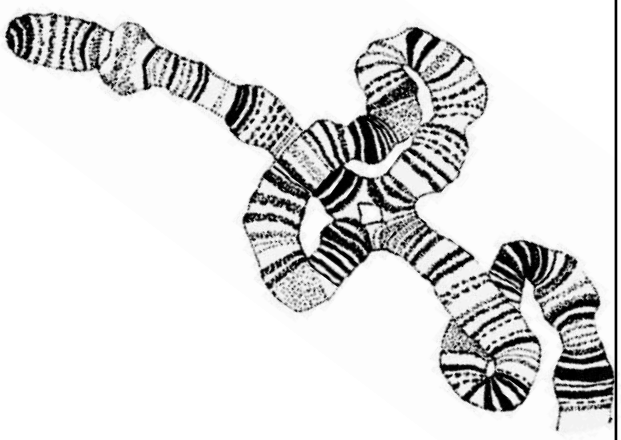
**Оценка за качество препарата _____.**

**Задание 2 (7 *баллов*).**

**2.1. (5 *баллов*). Зарисуйте политенную хромосому, указав на рисунке диски, междисковые пространства и пуфы.**

**<u>2.2. (2 *балла*</u>).** В процессе онтогенеза и филогенеза организмов организация хромосом может изменяться. Отдельные участки хромосом могут менять свое положение внутри хромосомы и даже переходить от одних хромосом к другим. Изменения организации хромосом называют хромосомными аберрациями. Политенные хромосомы используются для обнаружения хромосомных аберраций и построения цитологических карт хромосом. Сравнение цитологических карт политенных хромосом позволяет определять видовую принадлежность живых организмов, позволяет изучить процессы микроэволюции и видообразования.

**На рисунках представлены участки гомологов политенных хромосом личинки дрозофилы, претерпевших соматическую конъюгацию в клетках слюнных желез. Определите тип хромосомной аберрации, возникшей в одной из этих гомологичных хромосом, и правильный ответ внесите в пустую ячейку таблицы под соответствующим рисунком.**

| | |
|---|---|
|   **А.** |  **Б.** |
| | |

## Часть 2 – Генетика (*22 балла*)

**<u>Задание 3 (*10 баллов*)</u>. Исследование экспрессии бактеритального гена *A*, клонированного в составе плазмиды pUC4K.**

В плазмиду pUC4K (рис. 3А) по сайту *Scal* встроили фрагмент ДНК (рис. 3Б), несущий **ген *A*** бактерий *E. coli.* В результате получили две рекомбинантные плазмиды, отличающиеся друг от друга ориентацией встроенного фрагмента ДНК (клон 1 и клон 2). Эти плазмиды и исходную плазмиду pUC4K обработали рестриктазой *BciVl,* продукты реакции разделили в агарозном геле с помощью электрофореза и окрасили бромистым этидием для визуализации (рис. 3В). На последнюю дорожку (М) агарозного геля нанесли набор маркеров молекулярных масс. Цифры справа указывают размеры маркеров в п.н.

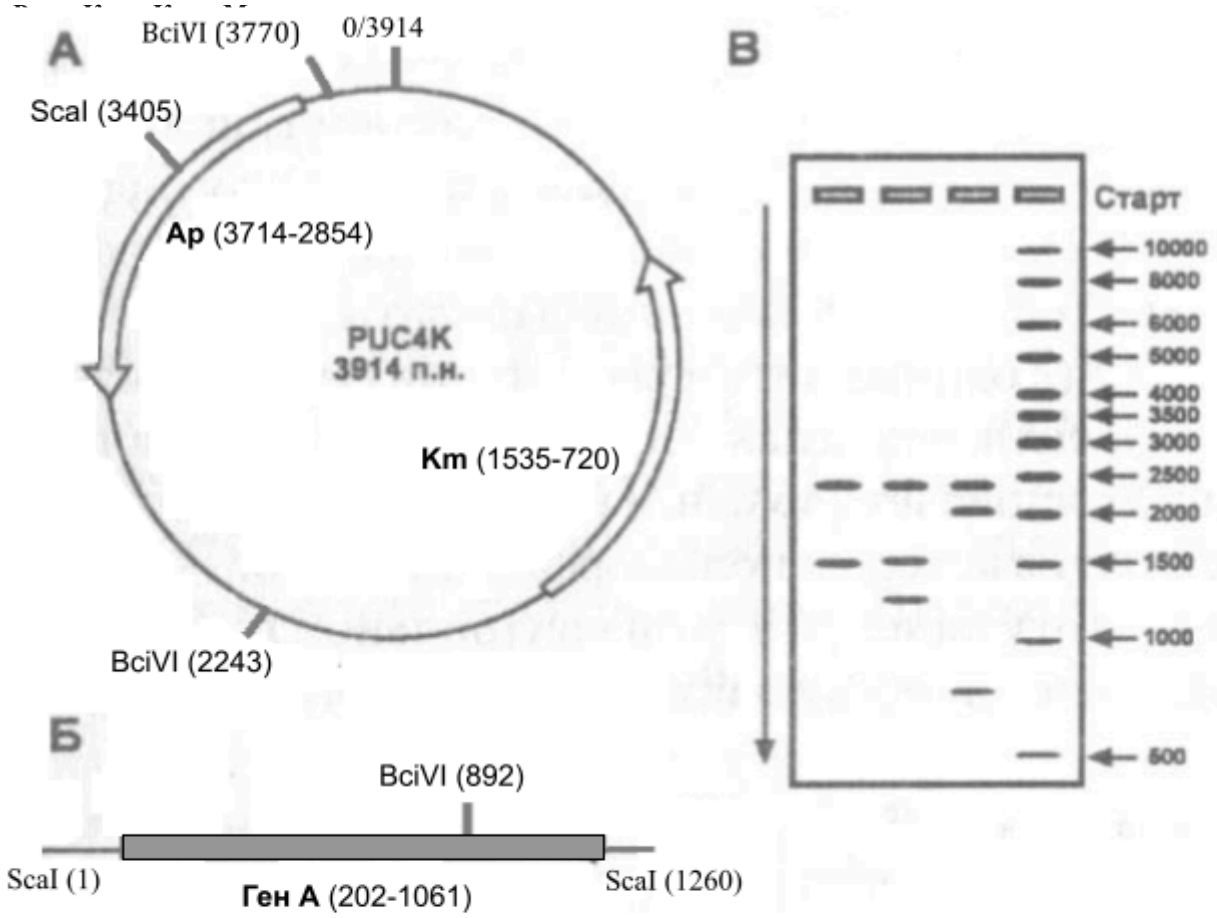
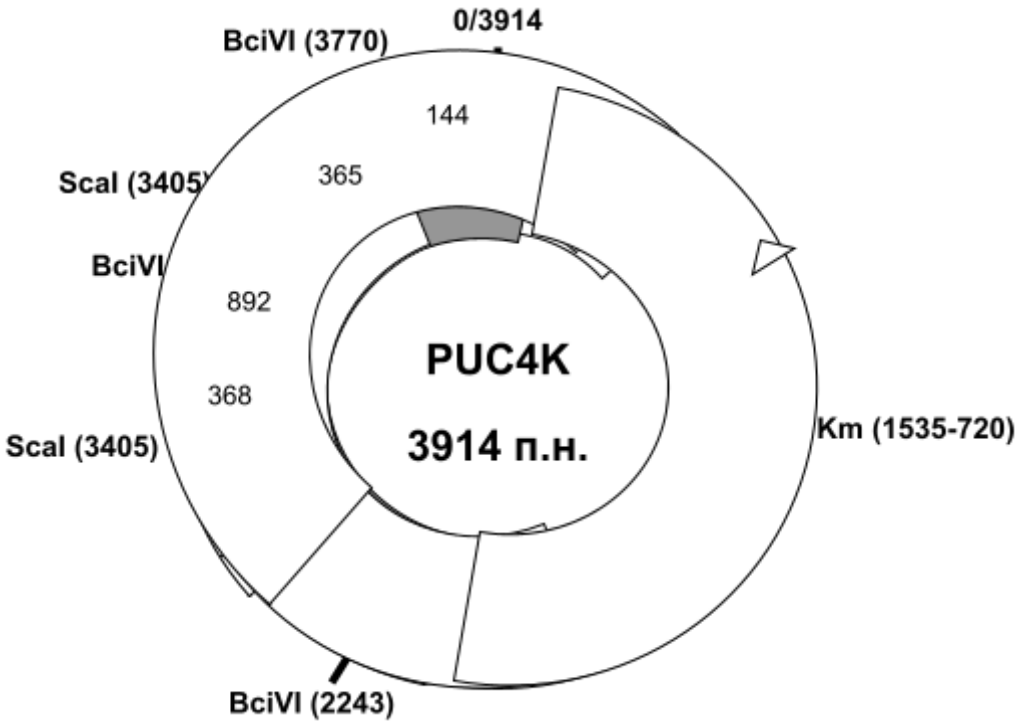
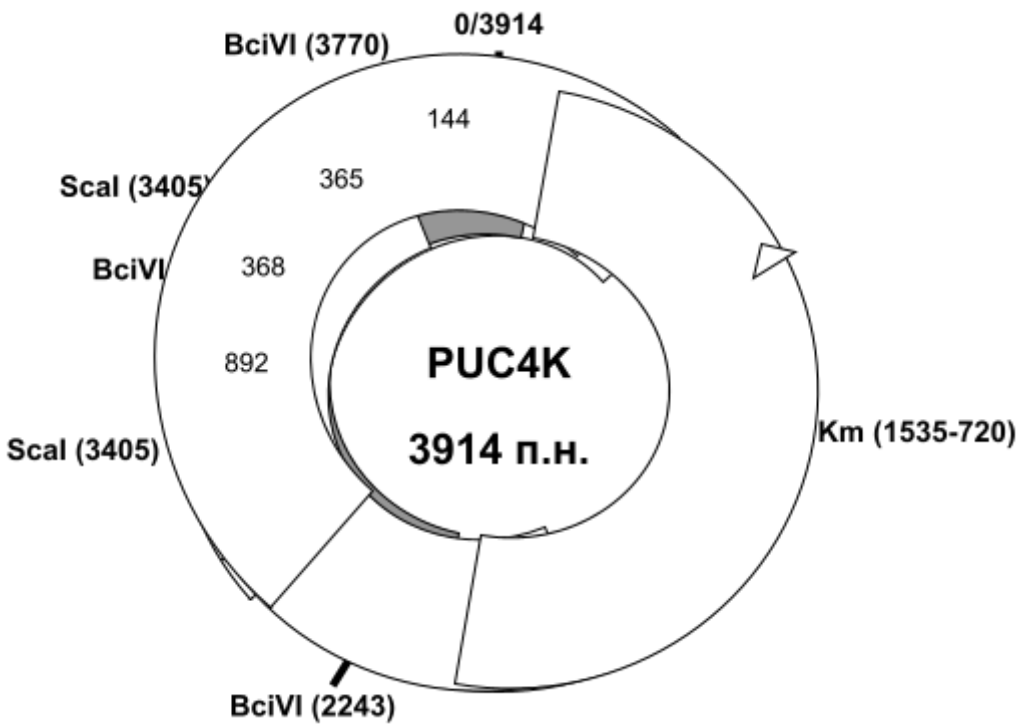


**Рис. 3. А – Рестрикционная карта плазмиды PUCAK (размером 3914 п.н.). В скобках около точек действия рестриктаз указаны расстояния в п.н. от точки 0; Б – Рестрикционная карта встраиваемого фрагмента ДНК, содержащего ген *A* (размер фрагмента 1260 п.н.); В – электрофореграмма продуктов рестрикции исходной пламзиды PUCAK и полученных рекомбинантных плазмид (клон 1 и клон 2).**

**Ниже в пустых квадратах таблицы 1 зарисуйте схемы плазмид со встроенным фрагментом ДНК в разных ориентациях с использованием информации рис. 3В (клоны 1 и 2).** Для этого изобразите окружность, подобную изображенной на рис. 3А, затем нанесите на нее участок клонированного фрагмента ДНК в нужной ориентации, с учетом его относительного размера (в п.н.) и местоположения в составе рекомбинантной плазмиды. Укажите на клонированном участке точки, соответствующие сайтам действия рестриктаз, пользуясь информацией рис. 3В, и укажите их размеры.

| схемы рекомбинантных плазмид | № клона |
|---|---|
|   | **клон 1** |


0/3914
BciVI (3770)
144
ScaI (3405)
365
BciVI
368
892
PUC4K
3914 п.н.
ScaI (3405)
Km (1535-720)
BciVI (2243)

**клон 2**

**<u>Задание 4. (*4 балла*).</u> Продуктом гена *A* у бактерий является белок, который при взаимодействии с реактивом Р дает цветное окрашивание (малиновый цвет). Известно, что экспрессия гена А в составе вектора происходит только в том случае, если он клонирован в плазмиду в нужной ориентации.**

**На поверхность файла нанесите по одной капле раствора из каждой опытной пробирки. Затем к каждой пробе добавьте <u>по две капли реактива Р.</u> Отметьте изменение окраски и данные внесите в таблицу 2.**

**Таблица 2**

| Номер пробирки | Цвет пробы |
|---|---|
| 1 (клон 1) | |
| 2 (клон 2) | |

**<u>Задание 5. (*4 балла*).</u> Определите в какой ориентации должен быть клонирован ген А, чтобы происходила его экспрессия? Наличие экспрессии отметьте знаком «+», а отсутствие – знаком «-». Данные внесите в таблицу 3.**

**Таблица 3**

| Номер пробирки | Экспрессия гена А |
|---|---|
| 1 (клон 1) | |
| 2 (клон 2) | |

**<u>Задание 6. (*4 балла*).</u>**

**Фрагмент ДНК (рис. 1Б), несущий ген *A E. coli*, подвергли более детальному изучению. Для этого линейный фрагмент ДНК обработали рестриктазами EcoRI, PstI, BglII и их смесью. Продукты рестрикции подвергли электрофорезу в агарозном геле. Полученные данные представлены в таблице 4. Постройте рестрикционную карту линейного фрагмента ДНК с указанием размеров отдельных фрагментов.**

**Таблица 4**

| **Рестриктазы** | **Размеры фрагментов ДНК (п.н.)** |
|---|---|
| Eco RI | 180, 1080 |
| Pst I | 200, 1060 |
| Bgl II | 340, 920 |
| EcoRI и Pst I | 20, 180, 1060 |
| EcoRI и Bgl II | 180, 340, 740 |
| Pst I и Bgl II | 200, 340, 720 |

**Рестрикционная карта линейного фрагмента ДНК:**