



БИОЛОГИЯ

11 КЛАСС

Методы научного познания

Кондратьева Елена Михайловна
ведущий методист по биологии



корпорация
**российский
учебник**



Методы научного познания

Метод (греч.) – способ познания, путь к чему – либо, способ достижения цели, определенным образом упорядоченная деятельность субъекта.

Принято выделять три уровня методов науки с учетом степени общности и широты применения входящих в них отдельных методов.

- 1) философские методы (задают наиболее общие регулятивы исследования – диалектический, метафизический, феноменологический, герменевтический и др.);
- 2) общенаучные методы (характерно для целого ряда отраслей научного знания; они мало зависят от специфики объекта исследования и типа проблем, но при этом зависят от уровня и глубины исследования);
- 3) частнонаучные методы (применяются в рамках отдельных специальных научных дисциплин; отличительной особенностью этих методов является их зависимость от характера объекта исследования и специфики решаемых задач)

Методы научного познания

Общенаучные методы разделяют на:

- 1) общелогические, применяемые в любом акте познания и на любом уровне. Это анализ и синтез, индукция и дедукция, обобщение, аналогия, абстрагирование;
- 2) **методы эмпирического исследования, применяемые на эмпирическом уровне исследования (наблюдение, эксперимент, описание, измерение, сравнение);**
- 3) методы теоретического исследования, применяемые на теоретическом уровне исследования (идеализация, формализация, аксиоматический, гипотетико-дедуктивный и т.д.);
- 4) методы систематизации научных знаний (типологизация, классификация).

Наблюдение

Одним из наиболее древних является **метод наблюдения**, на котором основывается **описательный метод**. Сбор фактического материала и его описание были основными приёмами исследования на раннем этапе развития биологии. Но и настоящее время они не утратили своего значения.

Наблюдение как метод научного познания применяется и в настоящее время там, где трудно или невозможно провести эксперимент, например при изучении живых организмов в глубинах океана. С XVII в. учёные-биологи, накопив большой фактический материал, стали сравнивать строение и функции различных живых существ и их органов.

Описание

Описание – фиксация средствами естественного или искусственного языка результатов опыта (данных наблюдения или эксперимента) с помощью определенных систем обозначения, принятых в науке (схемы, графики, рисунки, таблицы, диаграммы и т.д.). В ходе описания проводится **сравнение и измерение** явлений.

Сравнение

Сравнение – метод, выявляющий сходство или различие объектов (либо ступеней развития одного и того же объекта), т.е. их тождество и различия. Но данный метод имеет смысл только в совокупности однородных предметов, образующих класс. Сравнение предметов в классе осуществляется по признакам, существенным для данного рассмотрения. При этом признаки, сравниваемые по одному признаку, могут быть несравнимы по другому.

Измерение

Измерение – метод исследования, при котором устанавливается отношение одной величины к другой, служащей эталоном, стандартом.

Большую роль в этих исследованиях играют единицы измерения – эталоны, с которыми сравниваются полученные данные. Считается, что методика построения основных и производных единиц измерения принадлежит К. Гауссу, который в 1832 году ввел три независимые единицы измерения: миллиметр, миллиграмм, секунда.

Мониторинг – длительное наблюдение

В исследованиях живой природы применяется мониторинг (лат. monitor — «предостерегающий») — многоцелевое длительное наблюдение за состоянием и изменениями изучаемого объекта. Мониторинг необходим для выявления загрязнения окружающей среды, установления изменений видового разнообразия в биогеоценозах для обнаружения и спасения редких, исчезающих биологических видов на нашей планете. При **проведении мониторинга наряду с биологическими методами** используются физические, химические, географические, космические (например, зондирование с искусственных спутников, космических кораблей).

Моделирование

Моделирование — метод научного познания, в основе которого лежит воспроизведение свойств объекта познания на специально созданном его аналоге — модели. Таким образом, свойства какого-либо реального объекта или процесса изучаются на их моделях, созданных человеком. Модели могут быть как **реальными (материальными)**, например модель космического корабля, так и **абстрактными**, созданными с помощью специального языка, например языка математики. С помощью компьютерного моделирования, например, можно рассчитать последствия постройки плотины для определённой экосистемы или воссоздать эволюцию определённого вида живых организмов. Меняя параметры, можно выбрать оптимальный путь развития агроценоза или подобрать наиболее безопасное сочетание лекарственных препаратов при лечении конкретного заболевания.

Исторический

В XIX в. появилась возможность применять **исторический метод**, который подразумевает изучение и воспроизведение истории объекта научного исследования во всей его многогранности, с учётом всех деталей и случайностей. Например, ***изучая ископаемые остатки вымерших позвоночных и сравнивая их с организмами***, живущими в наше время, учёные выясняют, как те или иные части тела организмов и сами организмы развивались во времени. Исторический метод позволяет сравнить существующие факты с данными, известными ранее, выявить закономерности появления и развития организмов, усложнения их структуры и функций.

Эксперимент

Эксперимент — метод познания, с помощью которого явления и объекты действительности исследуются в специальных условиях, контролируемых и управляемых человеком. Проводя эксперимент, исследователь не ограничивается пассивным наблюдением явлений, а сознательно вмешивается в естественный ход их протекания, непосредственно воздействуя на изучаемый процесс или изменяя условия, в которых проходит этот процесс.

Эксперимент применяется либо для *создания ситуации, позволяющей исследовать объект в чистом виде, либо для проверки уже существующих гипотез и теорий, либо для формулировки новых гипотез и теоретических представлений.*

Задание 22-1

Что такое метод исследования?

Приведите примеры биологических методов исследования и ситуации, в которых они применяются.

Задание 22-1 (ответ)

- 1) Метод исследования — это способ научного познания действительности.
- 2) Различают биологические методы исследования: описание, наблюдение, сравнение, эксперимент, *микроскопия, центрифугирование, гибридологический, близнецовый метод, биохимический метод и др.*
- 3) Методы исследования применяются только в определенных случаях и для достижения определенных целей. Например, гибридологический — для изучения наследственности применяется в животноводстве и растениеводстве, но не применяется для человека. Центрифугирование позволяет выделять органоиды клетки для их изучения.

Задание 22-2

Известно, что опытные дачники перед посевом семян проверяют
их всхожесть.

Как это можно сделать?

Задание 22-2 (ответ)

1) на дно тарелки с влажными листиками промокательной бумаги или ткани помещают несколько десятков семян, предназначенных для весеннего посева, и сверху их накрывают аналогичными влажными листиками бумаги или ткани;

2) тарелка с семенами в течение всего времени должна находиться в помещении при температуре не ниже 20 градусов. В течение всего времени бумага и ткань должна быть влажной.

3) Через 7-14 дней - зависит от конкретной культуры - посчитайте всхожесть. Всхожесть определяют процентным соотношением: количество проросших всходов к общему количеству семян.

Посчитайте количество проросших семян к общему числу семян, чтобы получить процент всхожести арифметическим путем:

6 из 10 будут 60%, 8 из 10 – 80%, 10 из 10 – 100% всхожести семян.

Если в вопросе будет «Для чего проверяют всхожесть семян», тогда необходим ещё пункт:

Всхожесть определяют для того чтобы определить плотность посева семян. Проверка семян на всхожесть перед посевом позволяет вырастить хорошую и крепкую рассаду. Если всхожесть показала меньше 30%, при посеве нужно будет увеличить посевную норму

Задание 22-3

В XIX в. учёный Луи Пастер налил в колбу бульон, затем оттянул и изогнул носик колбы так, чтобы воздух в колбу попадал, но больше ничего проникнуть в колбу не могло. Затем он прокипятил колбу. В колбе несколько недель ничего не происходило. Затем он отбил носик колбы, и уже через несколько дней в колбе стало видно помутнение бульона. Как Вы назовёте метод, который применил Луи Пастер? Что он доказал? Ответ поясните.

Ответ:

1. Метод — эксперимент.
2. Пастер доказал невозможность самозарождения жизни.

Экспериментальный метод

В XX в. **экспериментальный метод** стал **ведущим в биологии**. Это стало возможным благодаря появлению новых приборов для биологических исследований (электронный микроскоп, томограф и др.) и использованию методов физики и химии в биологии. В настоящее время в биологическом эксперименте широко используют различные виды микроскопии, включая и электронную с техникой ультратонких срезов, биохимические методы, разнообразные способы культивирования и прижизненного наблюдения культур клеток, тканей и органов, метод меченых атомов, рентгена-структурный анализ, ультрацентрифугирование, хроматографию и т. д.

Методы цитологических исследований

Основным методом является **метод световой микроскопии**. Он предусматривает применение светового микроскопа, но рассмотреть под световым микроскопом можно только специально приготовленные цитологические препараты. Чаще всего эти структуры бесцветные, поэтому их необходимо красить специальными красителями, каждый раз разными, в зависимости от того, какие структуры желательно увидеть.

Существуют два метода: метод приготовления давлений препаратов - исследуемый объект просто раздавливается в один слой между предметным и покровным стеклом, и метод приготовления тонких срезов, состоящие из одного слоя клеток. Для изучения живых клеток применяют метод фазово-контрастной микроскопии. Он базируется на том, что отдельные участки прозрачной клетки отличаются друг от друга по плотности и светопреломлению.

Методы цитологических исследований

https://www.youtube.com/watch?v=Y73EknbcYUQ&feature=emb_logo

Метод **электронной микроскопии** открыл те структуры клетки, которые имеют размеры, меньше длины световой волны. Благодаря этому методу появилась возможность рассмотреть вирусы и органеллы, на которых происходит синтез белка (рибосомы).

Цитологи могут также получать и изучать различные компоненты клеток с помощью фракционирования клеток. Клетку сначала разрушают, а затем выделяют клеточные структуры, используя специальное устройство - центрифугу.

Электронный микроскоп

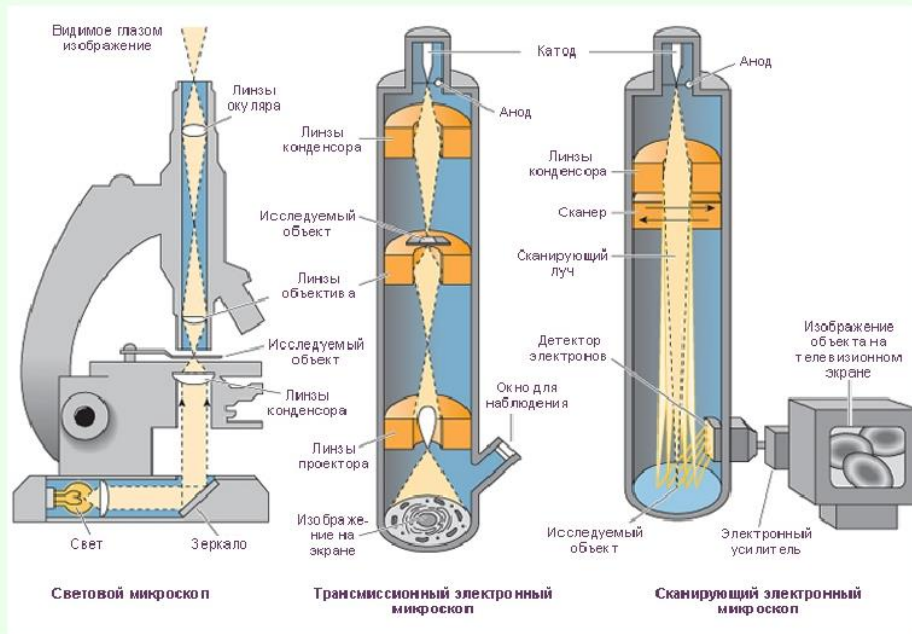
Электронный микроскоп перевернут «вверх дном» по сравнению со световым микроскопом. Излучение подается на образец сверху, а изображение формируется внизу. Принцип действия электронного микроскопа в сущности тот же, что и светового микроскопа. Электронный пучок направляется конденсорными линзами на образец, а полученное изображение затем увеличивается с помощью других линз. В таблице суммированы некоторые сходства и различия между световым и электронным микроскопами. В верхней части колонны электронного микроскопа находится источник электронов — вольфрамовая нить накала, сходная с той, какая имеется в обычной электрической лампочке. На нее подается высокое напряжение (например, 50 000 В), и нить накала излучает поток электронов. Электромагниты фокусируют электронный пучок.

Электронный микроскоп

Внутри колонны создается глубокий вакуум. Это необходимо для того, чтобы сократить до минимума рассеивание электронов из-за столкновения их с частицами воздуха. Для изучения в электронном микроскопе можно использовать только очень тонкие срезы или частицы, так как более крупными объектами электронный пучок почти полностью поглощается. Части объекта, отличающиеся относительно более высокой плотностью, поглощают электроны и потому на сформированном изображении кажутся более темными. Для окрашивания образца с целью увеличения контраста используют тяжелые металлы, такие как свинец и уран. Электроны невидимы для человеческого глаза, поэтому они направляются на флуоресцирующий экран, который воспроизводит видимое (черно-белое) изображение. Чтобы получить фотоснимок, экран убирают и направляют электроны непосредственно на фотопленку. Полученный в электронном микроскопе фотоснимок называется электронной микрофотографией.

Сравнение электронного и светового микроскопа

Сравнение светового и электронного микроскопов



Gartner L.P, Hiatt J.M. Color Textbook of Histology, 3th ed., The McGraw-Hill Companies, 2006, 592 p.



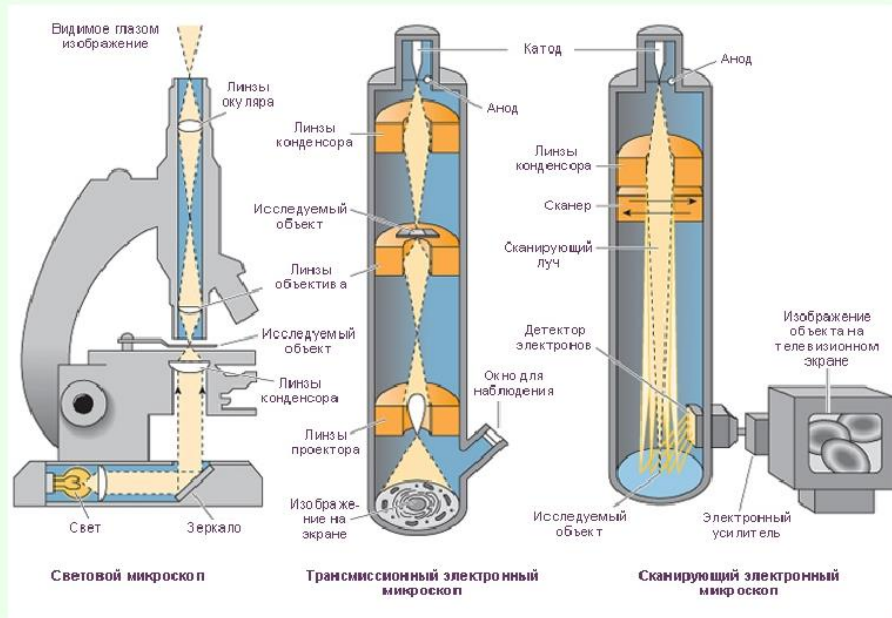
Сравнение электронного и светового микроскопа

	Трансмиссионный электронный микроскоп	Световой микроскоп
Источник излучения	Электроны	Свет
Длина волны	Например, 0,005 нм при 50 кВ	400–700 нм
Максимальное полезное увеличение	× 250 000 (на экране)	× 1500
Максимальное разрешение:		
на практике	0,5 нм	200–500 нм
в теории	0,2 нм	200 нм
Линзы	Электромагниты	Стеклянные (кварцевые для ультрафиолетового излучения)
Объект	Не живой, обезвоженный относительно маленький или тонкий Удерживается на маленькой сетке в вакууме	Живой или неживой Обычно лежит на предметном стекле
Распространенные красители	Содержат тяжелые металлы, которые отражают электроны	Цветные красители
Изображение	Черно-белое	Обычно цветное

Задание 22-4

Какие преимущества имеет световой микроскоп перед электронным?

Сравнение светового и электронного микроскопов



Gartner L.P., Hiatt J.M. Color Textbook of Histology, 3th ed., The McGraw-Hill Companies, 2006, 592 p.



Задание 22-4 (ответ)

Какие преимущества имеет световой микроскоп перед электронным?

Ответ:

- 1) световой микроскоп легче, компактнее (проще в обращении, значительно дешевле), и не требует сложной подготовки препаратов – на предметном стекле;
- 2) в световой микроскоп можно рассматривать живые и неживые клетки и видеть цветное изображение (можно видеть движение цитоплазмы с органоидами, стадии деления клетки)

Задание 22-5

С помощью какого метода была обнаружена хорошо развитая шероховатая эндоплазматическая сеть в клетках поджелудочной железы? Объясните, с чем связано такое развитие эндоплазматической сети.

Ответ:

- 1) Метод электронного микроскопирования.
- 2) В клетках поджелудочной железы интенсивно осуществляется синтез белков (гормоны и ферменты) на рибосомах шероховатой ЭПС (гранулярной ЭПС).

Методы цитологических исследований

Изучая живые клетки, применяют также **метод флуоресцентной микроскопии**. Смысл его заключается в том, что целый **ряд веществ обладают способностью светиться при поглощении ими световой энергии**. Например, если в флуоресцентный микроскоп рассматривать клетки растений, то на темно-синем теле будет видно красные зерна, ярко светятся, - это хлоропласты.

Существует метод, в котором используются **меченые изотопы** - метод **авторадиографии - регистрации веществ, меченных изотопами**. С помощью этого метода можно увидеть, к каким частям клетки попадают вещества, меченные радиоактивными изотопами.

Методы цитологических исследований

Многие химические элементы представляют собой смесь изотопов. **Изотопы одного и того же элемента отличаются друг от друга числом содержащихся в ядре нейтронов, т. е. по массе, а химические свойства элементов зависят от числа и расположения электронов, окружающих ядро.** Поэтому все изотопы данного элемента, обладают одинаковыми химическими свойствами. Вследствие этого **изотопы можно использовать в качестве меченых атомов.** Соединение, меченое изотопом, вводят в организм, а затем определяют наличие меченых атомов в тканях организма по их радиоактивности или специальными приборами — масс-спектрометрами.

https://www.youtube.com/watch?v=hyfPQat3C-8&feature=emb_logo

Методы цитологических исследований

Метод меченых атомов позволяет на практике использовать свойства **радиоактивных элементов**. Радиоизотопные методы диагностики основаны на том, что в кровь, в дыхательные пути, пищеварительный тракт вводятся радиоактивные изотопы – вещества, обладающие свойством радиоактивного излучения (чаще всего это гамма-лучи). Данные изотопы находятся в смеси с веществами, которые накапливаются преимущественно в том или другом органе. **Радиоактивные изотопы, таким образом, являются своего рода метками, по которым уже можно судить о наличии тех или иных препаратов в органе.** Радиоизотопные исследования проводятся для достижения двух целей: 1) для получения изображения органов при их воспалительных, опухолевых нарушениях; 2) для оценки функции того или иного органа или системы и ее изменения при разных болезнях.

Задание 22-6

Каким экспериментальным методом можно установить скорость прохождения веществ через клеточную мембрану при исследовании функции щитовидной железы?
На чём основан этот метод?

Задание 22-6 (ответ)

- 1) **методом меченых атомов**; необходимо ввести пациенту порцию радиоактивного йода;
- 2) *по химическим свойствам изотопы одного и того же элемента не отличаются друг от друга*, **но радиоактивное излучение позволяет отследить этапы перемещения радиоактивного элемента (йода) и скорость его накопления в клетках железы.**

Метод основан на определении количества накапливаемого в щитовидной железе радиоактивного йода - ^{123}I или ^{131}I - через 2, 6 и 24 ч после приема внутрь и позволяет оценить функцию щитовидной железы. **С помощью датчика, устанавливаемого над щитовидной железой, измеряют радиоактивность в ней и определяют в процентах, какую часть она составляет от общей исходной радиоактивности изотопа.** Таким образом можно получить представление, как щитовидная железа поглощает и удерживает йод. При изучении функции щитовидной железы с помощью радиоактивного йода установлено, что уже через несколько минут после введения в организм небольшого количества йодистого калия концентрация радиоактивного йода в щитовидной железе во много раз выше, чем в других органах, тканях и крови. В то же время способность избирательного поглощения йода щитовидной железой значительно изменяется в зависимости от ее функционального состояния. Это надежный метод диагностики гипертиреоза, однако диагностика гипотиреоза с его помощью менее достоверна. Показанием к нему является отклонение от нормы концентрации гормонов щитовидной железы.

Центрифугирование

ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЕ — *метод разделения смеси частиц, основанный на различии в скорости их осаждения под действием центробежной силы. В тех случаях, когда ускорение центробежной силы превышает ускорение силы тяжести (g) в сотни тысяч раз, центрифугирование называют ультрацентрифугированием.*

В медицине центрифугирование используют для разделения проб крови на плазму и форменные элементы, в том числе для определения гематокритного числа (см.), отделения осадка мочи и др. В медико-биологических исследованиях центрифугирование широко применяют для разделения на фракции гомогенатов тканей, в качественном и количественном анализе и др.

Ультрацентрифугирование

Ультрацентрифуги, скорость вращения роторов которых превышает **40 000 об/мин**, применяют обычно в экспериментальной практике для разделения органелл клеток, отделения коллоидных частиц, макромолекул полимеров и т. д.

Метод дифференциального центрифугирования используется для фракционирования клеток, т. е. **расслоения их содержимого на фракции в зависимости от удельного веса различных органоидов и клеточных включений.**

В результате центрифугирования компоненты клеток выпадают в осадок из раствора, располагаясь в соответствии со своей плотностью. Более плотные структуры осаждаются при более низких скоростях центрифугирования, а менее плотные – при высоких скоростях. Разные органеллы клетки осаждаются на дне центрифужных пробирок при различных скоростях центрифугирования, что зависит от размеров, плотности и формы органелл.

https://www.youtube.com/watch?v=eelrmZQGCbs&feature=emb_logo

https://www.youtube.com/watch?v=c8od-Hli6VI&feature=emb_logo

Ультрацентрифугирование

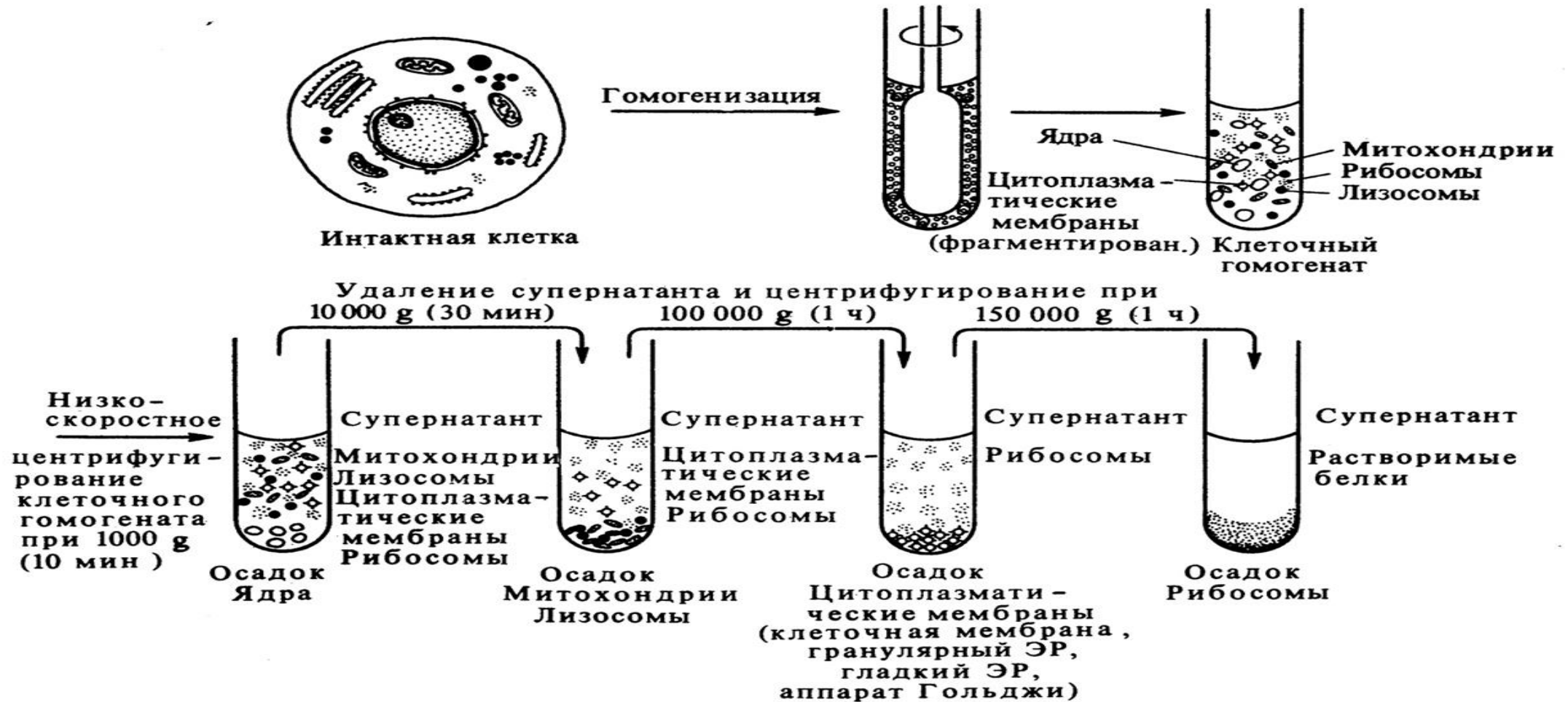


Рис. 1. Схема, иллюстрирующая последовательные этапы фракционирования клетки.

Задание 22-7

Для изучения митохондриальных ДНК ученому необходимо выделить митохондрии из животных клеток методом центрифугирования. На чем основан этот метод? После каких структур клетки он может получить митохондриальную фракцию? Ответ поясните.

Задание 22-7 (ответ)

Метод центрифугирования основан на разделении объектов разной плотности или массы за счет разной скорости оседания объектов (за счет разной скорости вращения центрифуги). Митохондриальная фракция может быть получена после осаждения ядер как самых плотных (тяжелых) клеточных структур.

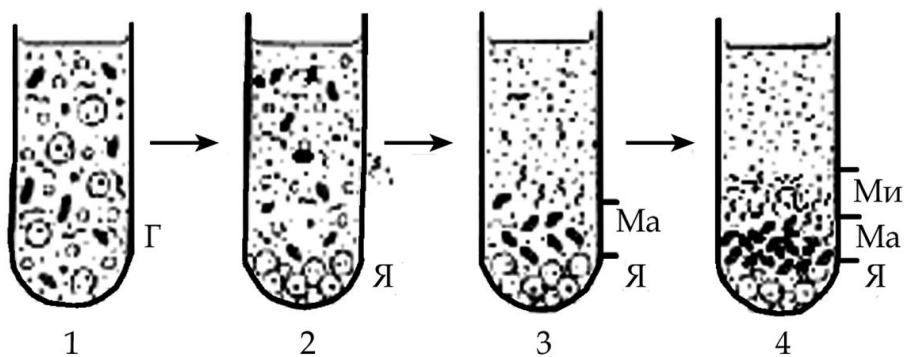


Рис. 5. Схема дифференциального центрифугирования: Г — гомогенат; Я — ядерная фракция; Ма — макросомальная фракция (митохондрии, лизосомы); Ми — микросомальная фракция (фрагменты мембран, микропузырьки, рибосомы)

Задание 22-8

Каким методом учёный может отделить ядра клеток от остального содержимого? На чём основан этот метод?

Ответ:

- 1) с помощью ультрацентрифугирования
- 2) метод основан на разной скорости оседания органоидов под действием центробежных сил

Задание 22-9

Каким способом можно отделить клетки крови от плазмы?
На чём основан этот метод? Ответ поясните.

Ответ:

1. Методом центрифугирования.
2. Метод основан на различной скорости осаждения клеток под действием центробежной силы.

Методы цитологических исследований

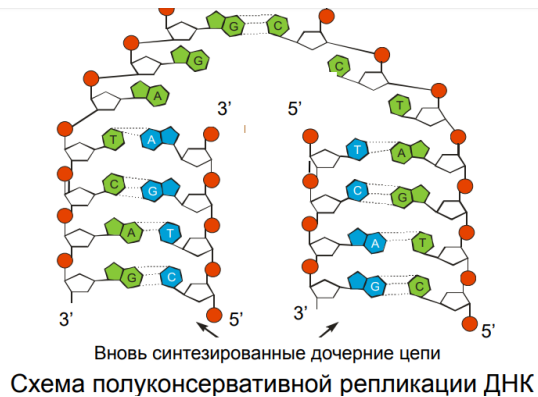
В 1957 г. Метью Мезелсон и Франклин Сталь поставили один из самых красивых **биологических экспериментов**, исследуя механизмы репликации ДНК. Для определения способа репликации ДНК необходимо четко различать материнские и дочерние молекулы. Мезелсон и Сталь выращивали бактерии кишечной палочки (*Escherichia coli*) на среде, содержащей в качестве источника азота его тяжелый изотоп – ^{15}N . Молекула ДНК содержит большое количество атомов азота, при делении ДНК азот для новых цепочек берется из внешней среды. Тяжелый изотоп азота включался в состав молекулы ДНК и служил надежной меткой. Для того чтобы пометить практически всю бактериальную ДНК, необходимо было культивировать *E. coli* на такой среде в течение как минимум 12 поколений.

Мезелсон и Сталь длительное время культивировали *E. coli* на среде с ^{15}N . После этого бактерии быстро переносили на среду, содержащую более легкий изотоп азота ^{14}N . Благодаря тому, что клетки *E. coli* культивировались на двух различных средах, в состав молекул их ДНК входили оба изотопа азота: ^{14}N и ^{15}N . Отличить такие молекулы друг от друга можно было по плотности, поскольку масса нуклеотидов молекулы ДНК, содержащих ^{15}N больше, по сравнению с обычной молекулой. ДНК бактериальных клеток, выращенных на среде с ^{15}N , имела плотность 1,724 г/см³, а ДНК клеток, выращенных на среде с ^{14}N – 1,710 г/см³.

Методы цитологических исследований

Из гипотезы полуконсервативной репликации следовало, что ДНК с промежуточной плотностью между ^{15}N -ДНК и ^{14}N -ДНК должна быть гибридной. Это значит, что одна из ее цепей должна содержать только тяжелый изотоп азота ^{15}N , а другая – только легкий ^{14}N . Проверая это предположение, Мезелсон и Сталь нагревали полученную ими ДНК промежуточной плотности в течение 30 минут при температуре $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ на водяной бане. При таких условиях двойная спираль молекулы ДНК денатурирует, образуя две отдельных цепочки, однако ковалентные связи между нуклеотидами в каждой из них не разрушаются. Проведя центрифугирование денатурировавшей ДНК в градиенте плотности хлористого цезия, Мезелсон и Сталь обнаружили, что в результате **образовалось две фракции различной плотности**. Плотность одной из них совпадала с плотностью молекул ДНК, содержащих тяжелый изотоп азота ^{15}N , тогда как плотность другой была идентична плотности молекул ДНК с легким изотопом азота ^{14}N . Из этого следовало, что молекула ДНК промежуточной плотности, образовавшаяся в первом поколении после переноса со среды с тяжелым изотопом азота на среду с легким изотопом, представляет собой гибридную молекулу. **В ее состав входят две цепи – материнская, содержащая исключительно ^{15}N (имела плотность $1,724\text{ г/см}^3$) и вновь синтезированная дочерняя, содержащая только ^{14}N (имела плотность $1,710\text{ г/см}^3$) .**

Методы цитологических исследований



Задание 22-10

В 1957 г. учеными в процессе эксперимента был установлен полуконсервативный принцип репликации ДНК. В качестве объекта эксперимента использовали бактерию кишечную палочку *Escherichia coli*. Бактерии длительное время выращивали на среде, содержащей в качестве источника азота его тяжелый изотоп – ^{15}N . После этого бактерии быстро переносили на среду, содержащую более легкий изотоп азота ^{14}N .

Как называется используемый в эксперименте метод? Какие изотопы азота(N) содержали цепи новых молекул ДНК после первого деления клетки на новой питательной среде? Ответ поясните.

Задание 22-10 (ответ)

В 1957 г. учеными в процессе эксперимента был установлен полуконсервативный принцип репликации ДНК. В качестве объекта эксперимента использовали бактерию кишечную палочку *Escherichia coli*. Бактерии длительное время выращивали на среде, содержащей в качестве источника азота его тяжелый изотоп – ^{15}N . После этого бактерии быстро переносили на среду, содержащую более легкий изотоп азота ^{14}N . Как называется используемый в эксперименте метод? Какие изотопы азота(N) содержали цепи новых молекул ДНК после первого деления клетки на новой питательной среде? Ответ поясните.

Ответ:

1. Использовался метод меченных атомов
2. Новые молекулы ДНК содержали одну цепь с изотопом ^{15}N (исходная) и одну цепь с изотопом ^{14}N (новая)

Задание 22 (ответ)

В эксперименте учёные длительное время выращивали бактерий на среде, содержащей изотоп азота ^{15}N , а затем перевели их на среду с обычным изотопом ^{14}N . Какой метод применяли эти учёные? Молекулы каких классов органических веществ можно таким образом различать? Ответ поясните.

Ответ:

- 1) метод меченных атомов;
- 2) белки, потому что аминокислоты содержат азот, и нуклеиновые кислоты, потому что нуклеотиды (азотистые основания) содержат азот).

Хроматография

Хроматография — метод разделения смесей веществ или частиц, основанный на различиях в скоростях их перемещения в системе несмешивающихся и движущихся относительно друг друга фаз.

Колонка — содержит хроматографический сорбент, выполняет функцию разделения смеси на индивидуальные компоненты.

Элюент — подвижная фаза (растворитель или смесь растворителей): газ, жидкость или (реже) сверхкритический флюид.

Неподвижная фаза — твёрдая фаза или жидкость, связанная на инертном носителе, в адсорбционной хроматографии — сорбент.

Хроматограмма — результат регистрирования зависимости концентрации компонентов на выходе из колонки от времени.

Хроматография

Впервые точное представление о пигментах зелёного листа высших растений было получено благодаря работам крупнейшего русского ботаника М.С. Цвета (1872—1919). Он разработал хроматографический метод разделения веществ и выделил пигменты листа в чистом виде. Хроматографический метод разделения веществ основан на их различной способности к адсорбции. Метод этот получил широкоё применение. М.С. Цвет пропускал вытяжку из листа через стеклянную трубку заполненную порошком — мелом или сахарозой (хроматографическую колонку). Отдельные компоненты смеси пигментов различались **по степени адсорбируемости и передвигались с разной скоростью, в результате чего они концентрировались в разных зонах колонки**. Разделяя колонку на отдельные части (зоны) и используя соответствующую систему растворителей, можно было выделить каждый пигмент. Оказалось, что листья высших растений содержат хлорофилл а и хлорофилл b, а также каротиноиды (каротин, ксантофилл и др.). Хлорофиллы, так же как и каротиноиды, нерастворимы в воде, но хорошо растворимы в органических растворителях. Хлорофиллы а и b различаются по цвету: хлорофилл а имеет сине-зеленый оттенок, а хлорофилл b — желто-зеленый. Содержание хлорофилла а в листе примерно в три раза больше, чем хлорофилла b.

Задание 22-11

Учёный выделил пигменты фотосинтеза из листа растения. Каким методом он мог бы разделить их? На чём основан этот метод?

Ответ:

- 1) метод хроматографии
- 2) метод основан на разделении пигментов из-за различий в скорости движения пигментов в растворителе (подвижной фазы по неподвижной фазе)

Электрофорез

Электрофорез - физико-химический метод, используемый в цитологии для разделения смеси веществ с помощью электрического тока, например, разделение смеси белков плазмы крови.

Метод электрофореза в геле использует разницу в размере и заряде различных молекул в образце. Образец ДНК или белка, подлежащий разделению, погружают в пористый гель, помещенный в ионную буферную среду. При приложении электрического поля каждая молекула, имеющая разный размер и заряд, будет проходить через гель с разной скоростью. Пористый гель, используемый в этой технике, действует как молекулярное сито, которое отделяет большие молекулы от более мелких. Меньшие молекулы движутся быстрее по гелю, а более крупные медленнее. Подвижность частиц также определится их индивидуальным электрическим зарядом. Два противоположно заряженных электрода, которые являются частью системы, тянут молекулы к себе на основе их заряда.

<https://labwareguid.ru/2017/12/25/electrophoresis/>

Методы генетики

Название метода	Сущность метода
ГИБРИДОЛОГИЧЕСКИЙ	Производится анализ закономерностей наследования отдельных признаков и свойств организмов при половом размножении, а также анализ изменчивости генов и их комбинаторики. Метод разработан Г. Менделем
ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ	С помощью светового и электронного микроскопов изучаются материальные основы наследственности на клеточном и субклеточном уровнях (хромосомы, ДНК)
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ	Синтез гибридологического и цитологического методов обеспечивает изучение кариотипа человека, изменений в строении и количестве хромосом
ПОПУЛЯЦИОННО-СТАТИСТИЧЕСКИЙ	Основывается на определении частоты встречаемости различных генов в популяции, что позволяет вычислить количество гетерозиготных организмов и прогнозировать, таким образом, количество особей с патологическим (мутантным) проявлением действия гена
БИОХИМИЧЕСКИЙ	Изучаются нарушения обмена веществ (белков, жиров, углеводов, Минеральных веществ), возникающих в результате генных мутаций
МАТЕМАТИЧЕСКИЙ	Производится количественный учет наследования признаков
ГЕНЕАЛОГИЧЕСКИЙ	Выражается в составлении родословных (человека, животных). Позволяет установить тип и характер наследования признаков
БЛИЗНЕЦОВЫЙ	Основан на изучении близнецов с одинаковыми генотипами, что позволяет выяснить влияние среды на формирование признаков
ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ	Позволяет проследить действие генов в процессе индивидуального развития; в сочетании с биохимическим методом позволяет установить присутствие рецессивных генов в гетерозиготном состоянии по фенотипу

Задание 22-12

Что представляет собой гибридологический метод изучения наследственности?

Ответ:

- 1) Подбор и скрещивание родительских форм, отличающихся рядом признаков.
- 2) Анализ наследования признаков потомством.

Задание 22-12 (ответ)

Наследственное заболевание сахарный диабет (вызывается рецессивной мутацией) характеризуется повышением концентрации сахара в крови вследствие отсутствия инсулина. Человек может передавать этот аллель своим потомкам. Какие методы изучения наследственности человека позволили выявить причины этой болезни и характер наследования признака?

Ответ:

- 1) **Биохимический** – изучение состава крови и мочи больных и здоровых людей
- 2) **Генеалогический** – определение характера наследования, анализируя проявление болезни в ряду поколений.

Задание 22-13

С помощью какого метода можно выявить болезнь Дауна?

Ответ:

- 1) Цитогенетического.
- 2) Анализ крови на кариотип — изучив и посчитав количество хромосом под микроскопом.

3.4 Генетика, ее задачи. Наследственность и изменчивость.
Методы генетики

Задание 22-14

Какую информацию может извлечь цитогенетик из кариотипа животного при его микроскопическом исследовании?

Ответ:

- 1) При исследовании кариотипа можно определить вид животного.
- 2) По хромосомному набору можно определить пол животного.

Если известны наследственные заболевания животного, то можно их диагностировать (необязательный, но поощряющийся критерий).

Задание 22-15

Почему синдром Клайнфельтера (XXY) встречается у мальчиков? В результате чего может возникнуть эта аномалия? Какой метод изучения позволит диагностировать синдром?

Задание 22-15 (ответ)

1) У человека главным фактором, влияющим на определение пола, является наличие Y-хромосомы. Если она есть, организм имеет мужской пол. Даже если в геноме имеются три или четыре X-хромосомы, но, кроме того, хотя бы одна Y-хромосома, то из такой зиготы развивается мужчина.

2) Геномная мутация. Патология, как правило, возникает в результате нарушения расхождения хромосом на ранних стадиях формирования яйцеклеток и сперматозоидов.

Относится к генетическим заболеваниям, не передающимся по наследству, поскольку больные, за редким исключением, абсолютно бесплодны.

3) Диагностируется — **цитогенетический анализ (изучения кариотипа)**
Биохимические исследования — лабораторный анализ крови для определения **уровня мужских половых гормонов**

Задание 22-16

Для установления причины наследственного заболевания исследовали клетки больного и обнаружили изменение длины одной из хромосом. Какой метод исследования позволил установить причину данного заболевания? С каким видом мутации оно связано?

Ответ:

- 1) причина болезни установлена с помощью цитогенетического метода;
- 2) заболевание вызвано хромосомной мутацией – утратой или присоединением фрагмента хромосомы.

Основные методы биотехнологии.

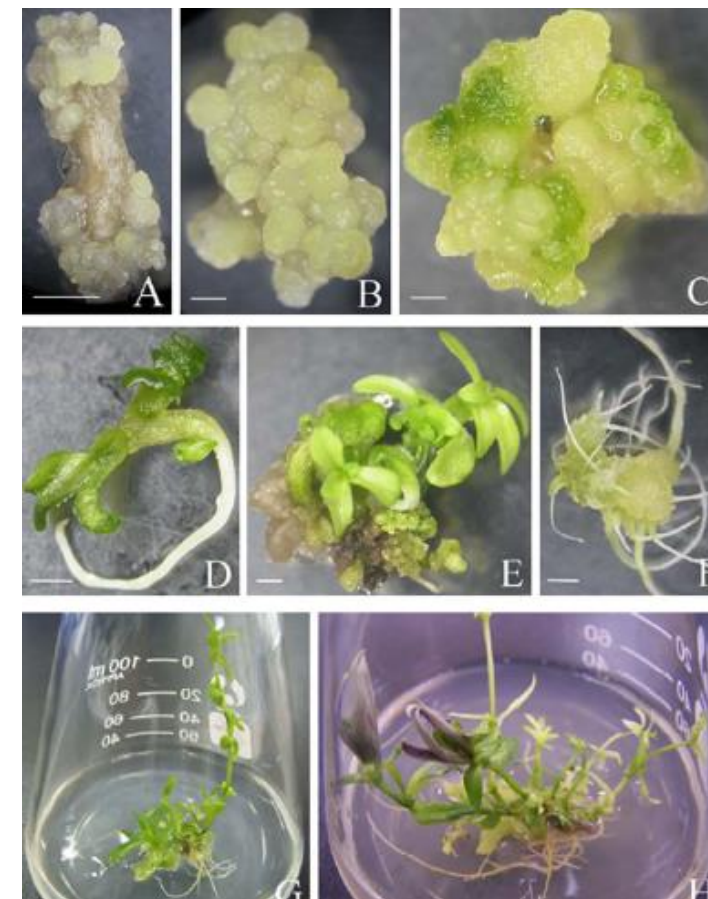
1. **Клеточная инженерия** – это отрасль биотехнологии, в которой применяют методы выделения клеток из организма и переноса их на искусственные питательные среды, где эти клетки продолжают жить и размножаться. Методы клеточной инженерии направлены на конструирование клеток нового типа. Они могут быть использованы для воссоздания жизнеспособной клетки из отдельных фрагментов разных клеток, для объединения целых клеток, принадлежавших различным видам с образованием клетки, несущей генетический материал обеих исходных клеток, и других операций.

2. **Генная инженерия** — искусственное, целенаправленное изменение генотипа микроорганизмов с целью получения культур с заранее заданными свойствами. Основной метод генной инженерии — выделение необходимых генов, их клонирование и введение в новую генетическую среду.

3. **Клонирование.** Благодаря этому методу мы получаем идентичные организмы путем бесполого размножения.

Культура тканей

Метод культуры тканей служит одним из главных инструментов современных биотехнологий, позволяя решать практические проблемы физиологии, биохимии и генетики растений. Искусственное выращивание материала проводится с соблюдением определенных условий: стерилизации, температурного режима и с выдержкой в специальной питательной среде. В основе размножения культуры тканей растений лежит свойство тотипотентности – способности клеток развиваться до целого организма. У животных это реализуется только в оплодотворенных яйцеклетках (за исключением некоторых видов кишечнополостных)



Культура тканей

Основы использования клеток человека и животных в биотехнологии были заложены в 1949 г, когда группе американских ученых удалось вырастить вирус полиомиелита в культивируемых клетках кожи и мышц человеческого зародыша. Теперь уже не представляет проблемы производство в ферментерах клеточных культур, содержащих вирус. Существуют клетки, которые используют для выращивания: вирусов во всем мире. Это клетки HeLa (карцинома шейки матки человека), ВНК-21 (почка эмбрионов хомяка) и Vero (почка зеленой мартышки). Благодаря применению метода клеточных культур вирусы стали выделять в чистом виде, что позволило усовершенствовать методы диагностики вирусных заболеваний и самое главное - получить вакцины, такие, например, как против ящура, оспы, кори, полиомиелита.

Задание 22-17

Каким образом методами генной инженерии получают инсулин в промышленных масштабах?

Элементы ответа:

- 1) Ген, кодирующий инсулин, пересаживают в кольцевые молекулы ДНК (плазмиды).
- 2) Рекомбинантные плазмиды вводят в бактериальные клетки. Культура таких клеток синтезирует инсулин в промышленных масштабах. (В настоящее время для получения инсулина используют дрожжи.)

3.9 Биотехнология, ее направления. Клеточная и генная инженерия, клонирование

Методы селекции

Общие методы селекции:

1. Направленный подбор исходного материала для селекции из имеющегося разнообразия растений и животных;
2. Близкородственная и неродственная гибридизация;
3. Массовый и индивидуальный искусственный отбор;
4. Индуцированный мутагенез;
5. Искусственное получение полиплоидов

Методы селекции

Методы селекции растений:

- 1) гибридизация (близкородственная (инцухт) — скрещивание сортов (чистых линий) с целью получения у гибридов эффекта гетерозиса; неродственная (аутбридинг) — скрещивание особей разных видов или родов с целью получения гибридов, сочетающих признаки двух разных растений);
- 2) искусственный отбор (массовый — отбор по фенотипу группы особей; индивидуальный — отбор единичных особей);
- 3) мутагенез (изменение наследственности с помощью мутагенов с целью получения полиплоидов и гибридов с новыми признаками);
- 4) культура клеток и тканей (выращивание растений из отдельных клеток или тканей, в том числе получение гаплоидов, выращенных из гамет гибридов);
- 5) хромосомная инженерия (внедрение хромосом растений одного сорта (вида) в геном растения другого сорта (вида));
- 6) генная инженерия (перенос генов растения одного вида (сорта) в генотип растения другого вида (сорта), получение трансгенных растений). Воздействие на семена пшеницы рентгеновскими лучами в условиях эксперимента (для получения мутаций) — **это мутагенез.**

Методы селекции животных:

- 1) гибридизация (близкородственная (инбридинг) — скрещивание близкородственных особей с целью получения гибридов с гомозиготным состоянием генов; неродственная (аутбридинг) — скрещивание домашних животных с дикими предками (внутривидовая неродственная гибридизация) и межвидовая неродственная гибридизация);
- 2) искусственный отбор (индивидуальный отбор по хозяйственно полезным признакам и экстерьеру);
- 3) испытание родителей по потомству для оценки племенных качеств производителей;
- 4) искусственное осеменение для интенсивного использования ценных производителей;
- 5) полиэмбриония (получение нескольких близнецовых зародышей из одной зиготы);
- 6) клеточное клонирование (клеточная инженерия); 7) генная инженерия (перенос генов одного вида (породы) в генотип другого вида (породы), получение трансгенных животных).

Задание 22-18

Что такое искусственный мутагенез и для чего его применяют?

Ответ:

- 1) Это процесс искусственного получения мутаций путем воздействия мутагенных факторов (облучение ультрафиолетовыми и рентгеновскими лучами и др.).
- 2) Цель применения — получение у потомства полезных мутаций. Особи с полезными мутациями в дальнейшем участвуют в создании новых штаммов микроорганизмов или сортов растений.

3.8 Методы селекции и их генетические основы

Задание 2-1

Рассмотрите таблицу «Методы биологических исследований» и заполните пустую ячейку, вписав соответствующий термин.

Метод	Применение метода
	Сезонные изменения в живой природе
Близнецовый	влияние условий среды на развитие признаков

Задание 2-1 (ответ)

Рассмотрите таблицу «Методы биологических исследований» и заполните пустую ячейку, вписав соответствующий термин.

Метод	Применение метода
НАБЛЮДЕНИЕ	Сезонные изменения в живой природе
Близнецовый	влияние условий среды на развитие признаков

Задание 2-2

Рассмотрите таблицу «Методы биологических исследований» и заполните пустую ячейку, вписав соответствующий термин.

Метод	Применение метода
	Изучение строения клеток кожицы лука
Биохимический	определение уровня гемоглобина в крови

Задание 2-2 (ответ)

Рассмотрите таблицу «Методы биологических исследований» и заполните пустую ячейку, вписав соответствующий термин.

Метод	Применение метода
МИКРОСКОПИЯ	Изучение строения клеток кожицы лука
Биохимический	определение уровня гемоглобина в крови

Задание 2-3

Рассмотрите таблицу «Методы селекции» и заполните пустую ячейку, вписав соответствующий термин.

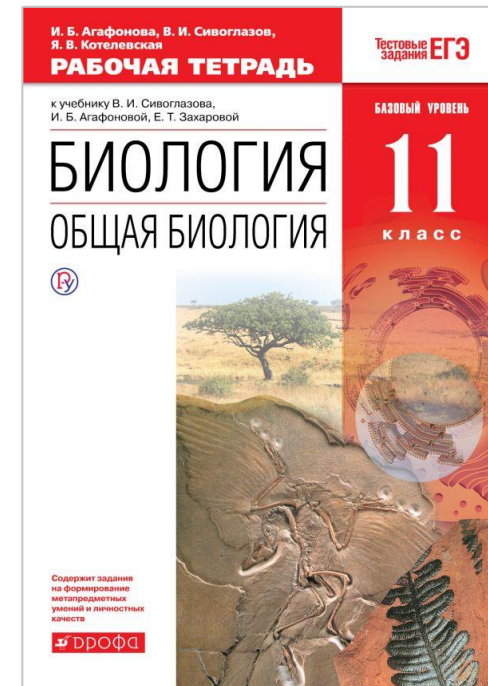
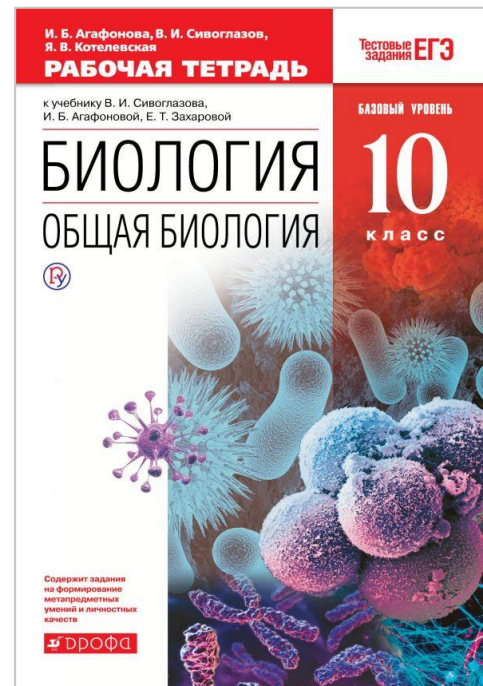
Метод	Применение метода
близкородственное скрещивание (инбридинг)	закрепление наследственных свойств
	воздействие на семена пшеницы рентгеновскими лучами в условиях эксперимента

Задание 2-3 (ответ)

Рассмотрите таблицу «Методы селекции» и заполните пустую ячейку, вписав соответствующий термин.

Метод	Применение метода
близкородственное скрещивание (инбридинг)	закрепление наследственных свойств
МУТАГЕНЕЗ	воздействие на семена пшеницы рентгеновскими лучами в условиях эксперимента

МАТЕРИАЛЫ В ПОМОЩЬ УЧЕНИКУ



rosuchebnik.ru, rosuchebnik.ru

Москва, Пресненская наб., д. 6, строение 2
+7 (495) 795 05 35
help@rosuchebnik.ru

Нужна методическая поддержка?

Методический центр
8-800-700-64-83 (звонок бесплатный)
help@rosuchebnik.ru

Хотите купить?



Отдел продаж
sales@rosuchebnik.ru



LECTA

Цифровая среда школы
lecta.rosuchebnik.ru

Хотите продолжить общение?



youtube.com/user/drofapublishing



fb.com/rosuchebnik



vk.com/ros.uchebnik



ok.ru/rosuchebnik