





НОВЫЙ УМК ПО БИОЛОГИИ

к.б.н. Морзунова /Агафонова/ Инна Борисовна

ПРОГРАММА РАЗВИТИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ В РОССИИ



Поручение Президента РФ Путина В.В. от 06 июня 2020 года по развитию отечественной генетики

- 1  С учётом стремительного развития генетических технологий необходимо **выстроить** современную систему подготовки кадров.
- 2  **Вдохновить** подрастающее поколение стать первопроходцами в сфере генетики.
- 3  **Запустить** учебные курсы, отдельные модули по генетике для школ и учреждений дополнительного образования детей, а также механизм повышения квалификации педагогов.
- 4  Решать сложные исследовательские задачи является возможность **работать** на самом современном оборудовании.

НОВОЕ КАЧЕСТВО ОБРАЗОВАНИЯ В ОБЛАСТИ ГЕНЕТИКИ



- ✓ Генетические технологии, в том числе секвенирование и редактирование генома, становятся **повседневной практикой** в медицине, в сельском хозяйстве, в охране природы, в микробиологической промышленности.
- ✓ Дети, которые сейчас обучаются в средней школе, достигнут совершеннолетия уже **в новой генетической эпохе**. Важно подготовить их к этому новому миру, обеспечить необходимыми знаниями.
- ✓ Необходимо в короткие сроки обеспечить массовую подготовку **высококвалифицированных кадров** в области генетики.

ГЕНЕТИКА. 10-11 классы.



Составитель - доцент каф. генетики биологического факультета МГУ, к.б.н. Илья Владимирович Кузьмин

- ▶ Профессор каф. генетики биологического факультета МГУ, д.б.н. А.И. Ким
- ▶ Доцент каф. генетики биологического факультета МГУ, д.б.н. Л.Н. Нефедова
- ▶ Доцент каф. генетики биологического факультета МГУ, к.б.н. И.В. Кузьмин
- ▶ Научный сотрудник каф. генетики биологического факультета МГУ, к.б.н. А.Р. Лавренов
- ▶ Профессор каф. биологии РГМУ, академик РАЕН, к.мед.н, д.п.н. В.Б. Захаров
- ▶ Научный сотрудник ИМБП РАН, к.б.н. П.А. Махновский
- ▶ Руководитель проектов АО «Академия «Просвещение», к.б.н. А.В. Мерщиев
- ▶ и другие учёные, педагоги, методисты.

ГЕНЕТИКА. 10-11 классы.



- Учебное пособие предназначено для учащихся 10-11 классов и посвящено в основном тем вопросам генетики, которые в школьных учебниках отсутствуют или представлены очень кратко.
- Модульная система пособия позволяет формировать индивидуальные траектории изучения материала.
- Наряду с фундаментальными вопросами детально рассматриваются области практического применения: генная инженерия, генетика человека, генетика спорта и др.
- Большое количество уникальных красочных иллюстраций и многоуровневый методический аппарат способствуют эффективному усвоению учебного материала.
- Подробный лабораторный практикум даёт возможность освоить основные современные методы молекулярной и цитологической генетики.

ГЕНЕТИКА. 10-11 классы.

- Курс рассчитан на 70 учебных часов.
- Предполагается, что программу курса учащиеся осваивают в течение одного года или двух лет в рамках учебного времени, специально отведённого на это учебным планом, в форме элективного курса или в рамках дополнительного образования. Учебный курс может быть также включён как модуль в рабочую программу по биологии при изучении предмета на углублённом уровне.



Из этой книги вы узнаете,

- что генетика — это не только законы Менделя;
- почему метод CRISPR-Cas9 настолько хорош, что в 2020 г. его разработчики получили Нобелевскую премию;
- что такое цинковые пальцы и лейциновые застёжки;
- зачем в генной инженерии используют нокаут и нокадаун;
- почему мутация в гене MSTN у крупного рогатого скота даёт большую прибыль в животноводстве;
- какие подходы используют в современной генотерапии... и многое другое.

А ещё вы научитесь выделять ДНК, ставить ПЦР и электрофорез, анализировать родословные и понимать, зачем лично вам нужна эта потрясающая наука — генетика.

Написали эту книгу

профессор каф. биологии РГМУ, академик РАЕН,
к. мед. н., д. пед. н. **В. Б. Захаров,**

профессор каф. генетики биологического факультета
МГУ, д. б. н. **А. И. Ким,**

доцент каф. генетики биологического факультета МГУ,
д. б. н. **Л. Н. Нефедова,**

доцент каф. генетики биологического факультета МГУ,
к. б. н. **И. В. Кузьмин,**

научный сотрудник каф. генетики биологического
факультета МГУ, к. б. н. **А. Р. Лавренов,**

научный сотрудник ИМБП РАН,
к. б. н. **П. А. Махновский**

и другие учёные и педагоги.



Эмманюэль Мари Шарпантье — французский учёный-микробиолог

Лауреаты Нобелевской премии по химии (2020 г.) за разработку метода редактирования генома.



Дженнифер Энн Даудна — американский биохимик и генетик, исследователь геномики

БИОЛОГИЯ. ГЕНЕТИКА. 10-11 классы. Углублённый уровень



ГЕНЕТИКА. 10-11 классы.

301

Оглавление

Модуль 1	
НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ — ОСНОВА НАСЛЕДСТВЕННОСТИ	3
§ 1.1. Материал наследственности — нуклеиновые кислоты. ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота	4
§ 1.2. Генетический код. Гены. Геном	11
§ 1.3. РНК — рибонуклеиновые кислоты	18
Модуль 2	
ЛОКАЛИЗАЦИЯ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ	23
§ 2.1. Хранение наследственной информации у прокариот	24
§ 2.2. Хранение наследственной информации у эукариот	26
§ 2.3. Жизненный цикл клетки	36
§ 2.4. Регуляция жизненного цикла клеток многоклеточного организма	44
Модуль 3	
РЕАЛИЗАЦИЯ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ	49
§ 3.1. Анаболизм. Регуляция активности генов прокариот	50
§ 3.2. Регуляция активности генов эукариот	56
§ 3.3. Инициация транскрипции генов эукариот	60
§ 3.4. Синтез белка	65
■ Типовые задачи по молекулярной генетике с образцами решения	72
§ 3.5. Вирусы	77
Модуль 4	
ГЕНЕТИКА РАЗВИТИЯ	83
§ 4.1. Образование и развитие половых клеток у животных	84
§ 4.2. Значение половых клеток	95
§ 4.3. Дробление. Мозаичный и регуляторный типы развития	99
§ 4.4. История представлений о регуляции эмбриогенеза. Морфогенетические поля	102
§ 4.5. Генетика начальных этапов развития	107
§ 4.6. Особенности генетики начальных этапов развития у млекопитающих	115
Модуль 5	
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ	119
§ 5.1. Выделение и очистка нуклеиновых кислот	120
§ 5.2. Электрофорез нуклеиновых кислот	124
§ 5.3. Рестриктазы и рестрикционный анализ	127

302

§ 5.4. Гибридизация нуклеиновых кислот	132
§ 5.5. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)	137
§ 5.6. Количественная полимеразная цепная реакция (ПЦР)	140
§ 5.7. Секвенирование — определение последовательности нуклеиновых кислот	145
Модуль 6	
СЕКВИНИРОВАНИЕ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ	151
§ 6.1. Общие принципы секвенирования нового поколения	152
§ 6.2. Технологии высокопроизводительного секвенирования	156
§ 6.3. Задачи секвенирования нового поколения и методы их решения: секвенирование генома	162
§ 6.4. Задачи секвенирования нового поколения и методы их решения: анализ транскриптомов и другие области применения	166
Модуль 7	
ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ	171
§ 7.1. Что такое генная инженерия	172
§ 7.2. Получение рекомбинантных ДНК	175
§ 7.3. Получение необходимых фрагментов ДНК, выделение генов	180
§ 7.4. Доставка рекомбинантной ДНК в клетку	184
§ 7.5. Векторы для генной инженерии: какие они бывают	189
§ 7.6. CRISPR/Cas9 и другие способы редактирования генома	194
§ 7.7. Нокаут и нокадаун генов	198
Модуль 8	
ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА	203
§ 8.1. Методы генетики человека	204
§ 8.2. Наследственные заболевания и их классификация	209
§ 8.3. Генетические методы в исследовании наследственных заболеваний	212
§ 8.4. Генные болезни	216
§ 8.5. Хромосомные болезни	221
§ 8.6. Профилактика, диагностика и лечение наследственных заболеваний	224
Модуль 9	
ГЕНЕТИКА СПОРТА	231
§ 9.1. Проблемы и задачи генетики спорта	232
§ 9.2. Известные «гены спортивных достижений» и механизм их действия	235
§ 9.3. Методы генетики спорта	239

303

Модуль 10	
ПРАКТИЧЕСКИЕ И ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ	243
Практическая работа № 1. Определение фенотипа подозреваемого по результатам генетического анализа	244
Практическая работа № 2. Анализ кариотипов различных видов млекопитающих	247
Лабораторная работа № 1. Изучение политенных хромосом из слюнных желез личинок двукрылых	250
Лабораторная работа № 2. Определение генотипов плодовой мушки (<i>Drosophila melanogaster</i>)	255
Лабораторная работа № 3. Определение полового хроматина в клетках буккального эпителия здорового человека	257
Лабораторная работа № 4. Выделение нуклеиновых кислот из клеток растений	259
Лабораторная работа № 5. Выделение нуклеопротеидов из дрожжей методом кислотного гидролиза	263
Лабораторная работа № 6. Получение препарата ДНК из тканей животных	266
Лабораторная работа № 7. Определение частот аллелей и генотипов в модельной популяции	269
Лабораторная работа № 8. Определение нормы реакции скорости произвольных движений	271
Лабораторная работа № 9. Изменчивость онтогенетических модификаций листовых пластинок в зависимости от условий внешней среды	273
Лабораторная работа № 10. Знакомство с лабораторным оборудованием школьной генетической лаборатории	277
Лабораторная работа № 11. Получение препарата очищенной ДНК из тканей растений	279
Лабораторная работа № 12. Выделение ДНК из пищевых продуктов	281
Лабораторная работа № 13. Получение плазмидной ДНК из клеток бактерий	283
Лабораторная работа № 14. Амплификация ДНК методом полимеразной цепной реакции	286
Лабораторная работа № 15. Постановка электрофореза ДНК в агарозном геле	289
Приложение	293

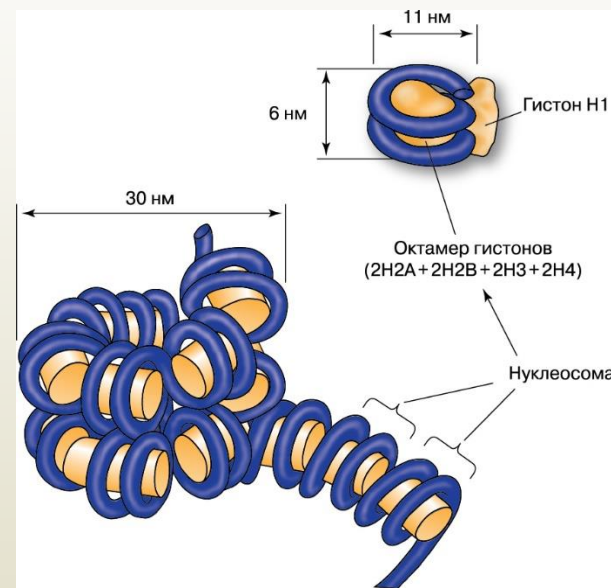
Модуль 1. Нуклеиновые кислоты – основа наследственности

Модуль 1 Нуклеиновые кислоты — основа наследственности

В. Б. Захаров

Дезоксирибонуклеиновая кислота, или ДНК, представляет собой двухцепочечный биологический полимер, мономером которого является нуклеотид, содержащий пентозу — дезоксирибозу, остаток фосфорной кислоты и одно из четырёх азотистых оснований: аденин, тимин, гуанин или цитозин. В каждой полинуклеотидной цепи нуклеотиды связаны фосфодиэфирными связями. Между собой цепи соединены водородными связями по принципу комплементарности. Цепи в молекуле ДНК антипараллельны.

Из этого модуля вы узнаете, что такое нуклеиновые кислоты, как они устроены, каковы их основные свойства. Мы обсудим с вами генетический код и его свойства. Определим понятие «ген», узнаем, какие бывают гены. Рассмотрим, как связаны ген и признак, который он предопределяет.



Модуль 1

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ — ОСНОВА НАСЛЕДСТВЕННОСТИ 3

§ 1.1. Материал наследственности — нуклеиновые кислоты.

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота 4

§ 1.2. Генетический код. Гены. Геном 11

§ 1.3. РНК — рибонуклеиновые кислоты 18

Модуль 2. Локализация наследственной информации

Модуль

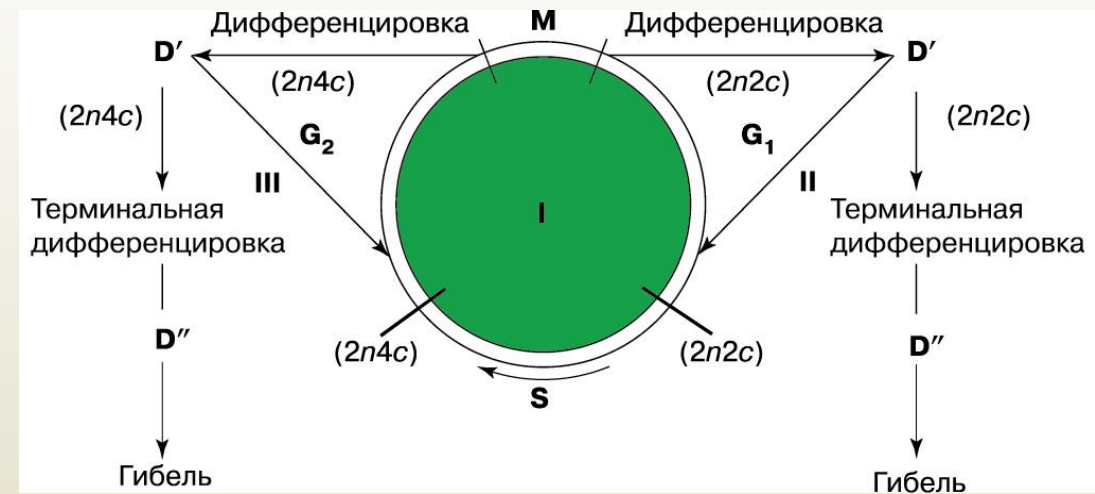
2

Локализация наследственной информации

В. Б. Захаров

Материал наследственности (ДНК) находится в клетке. У большинства известных прокариотических организмов имеется одна кольцевая молекула ДНК — кольцевая «хромосома», расположенная в цитоплазме и лишь в одной точке связанная с наружной цитоплазматической мембраной. У эукариот хромосомы линейные, лежат в кариоплазме и отделены от цитоплазмы ядерной оболочкой. В хромосомном наборе все хромосомы парные.

Из этого модуля вы узнаете, как формируются надмолекулярные структуры, связанные с хранением и передачей наследственной информации, — хромосомы, эухроматин и гетерохроматин. Познакомитесь с процессом передачи наследственной информации из одного клеточного поколения в другое в процессе митоза, выясните смысл понятий «жизненный цикл» и «митотический цикл» клетки.



Модуль 2

ЛОКАЛИЗАЦИЯ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ 23

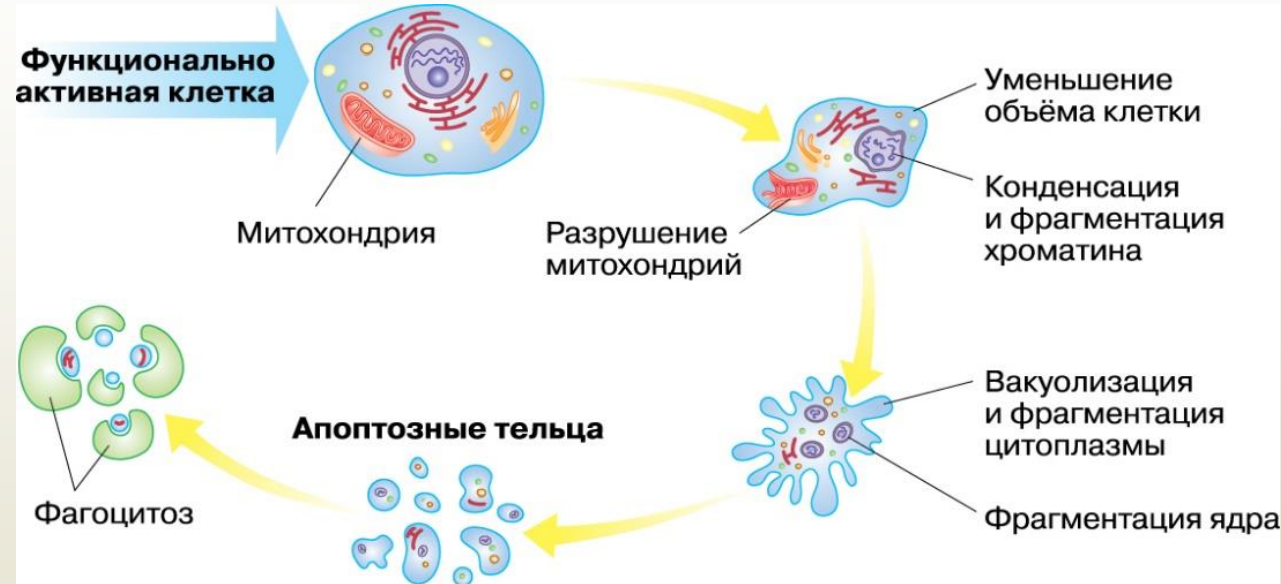
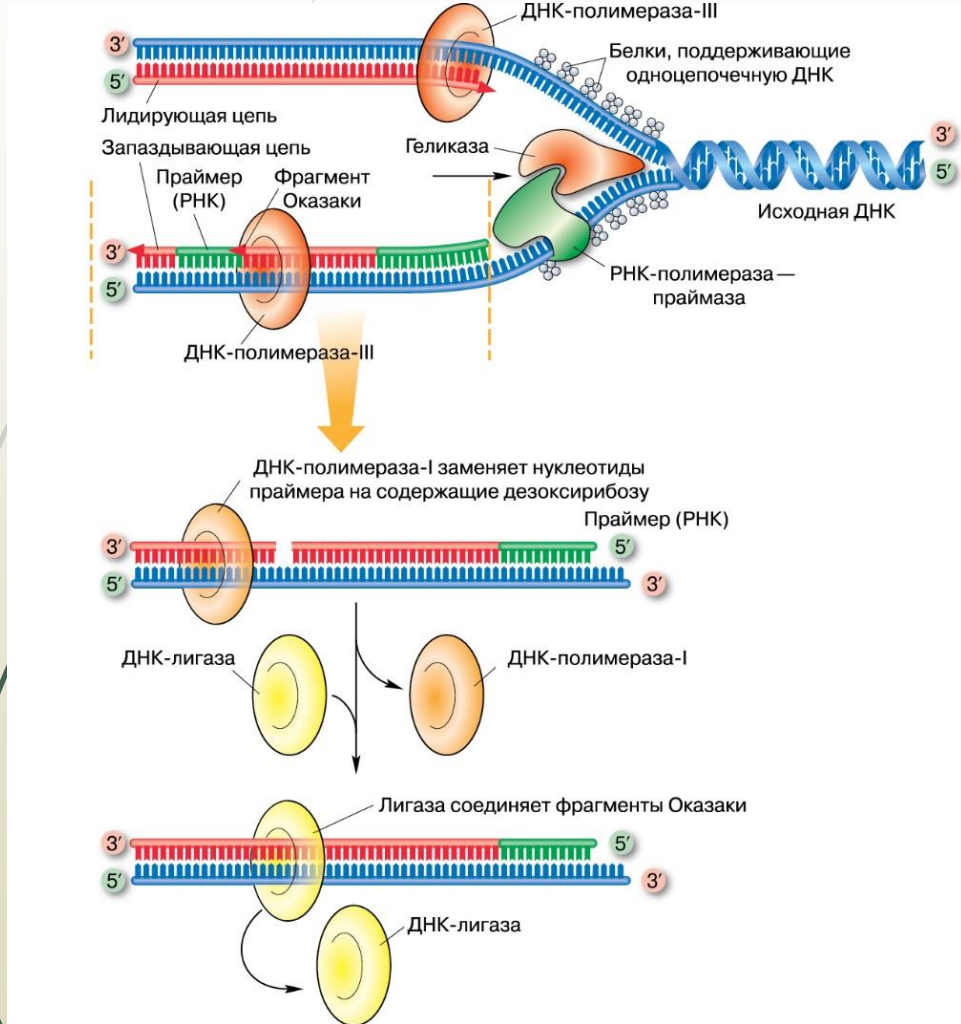
§ 2.1. Хранение наследственной информации у прокариот 24

§ 2.2. Хранение наследственной информации у эукариот 26

§ 2.3. Жизненный цикл клетки 36

§ 2.4. Регуляция жизненного цикла клеток многоклеточного организма 44

Модуль 2. Локализация наследственной информации



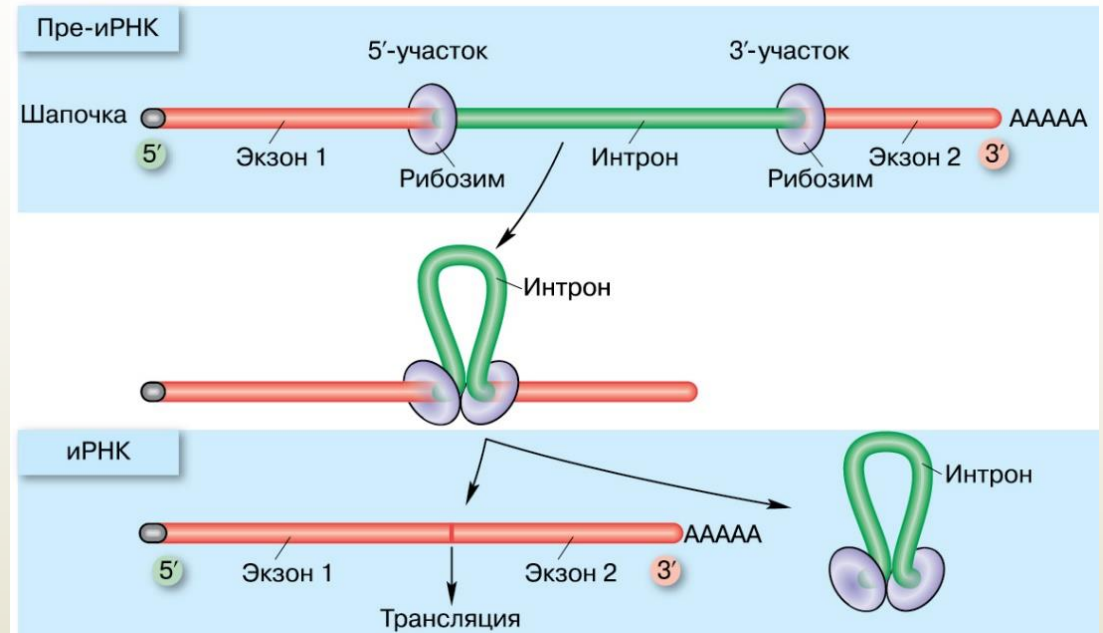
Модуль 3. Реализация наследственной информации

Модуль 3 Реализация наследственной информации

В. Б. Захаров

В клетках непрерывно идут процессы биологического синтеза. С помощью ферментов из низкомолекулярных веществ образуются сложные высокомолекулярные соединения: из аминокислот синтезируются белки, из моносахаридов — сложные углеводы, из азотистых оснований и сахаров — нуклеотиды, а из них — нуклеиновые кислоты. Совокупность реакций биосинтеза называют пластическим обменом или ассимиляцией. Биосинтетические реакции отличаются видовой и индивидуальной специфичностью. Структура синтезируемых крупных органических молекул определяется последовательностью нуклеотидов в ДНК, т. е. генотипом.

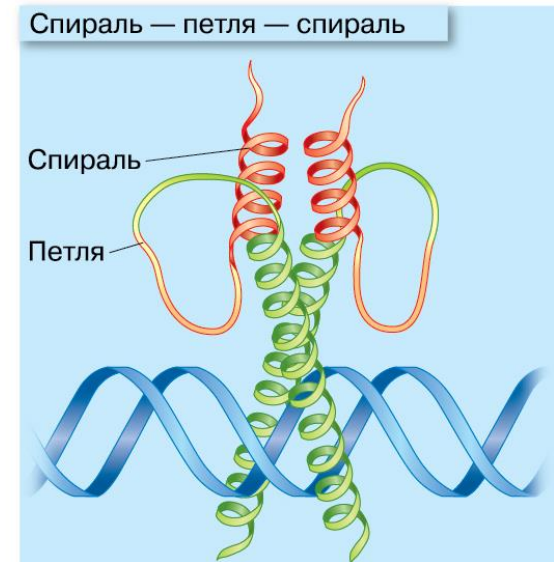
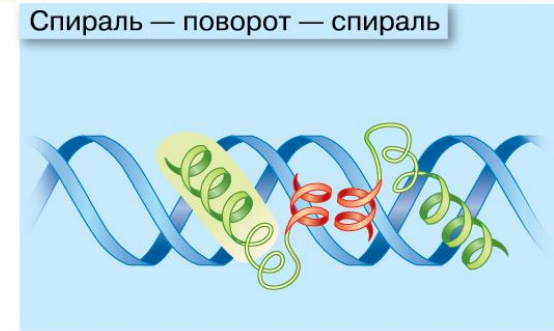
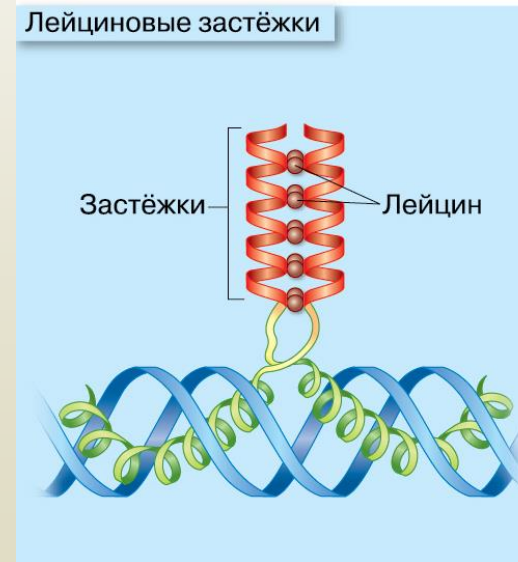
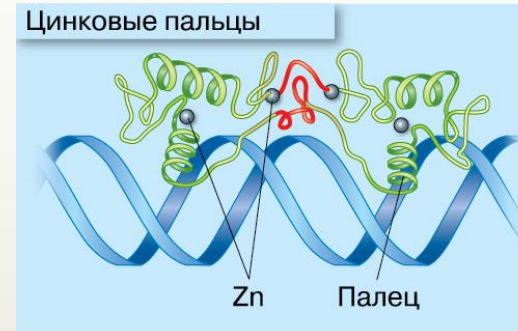
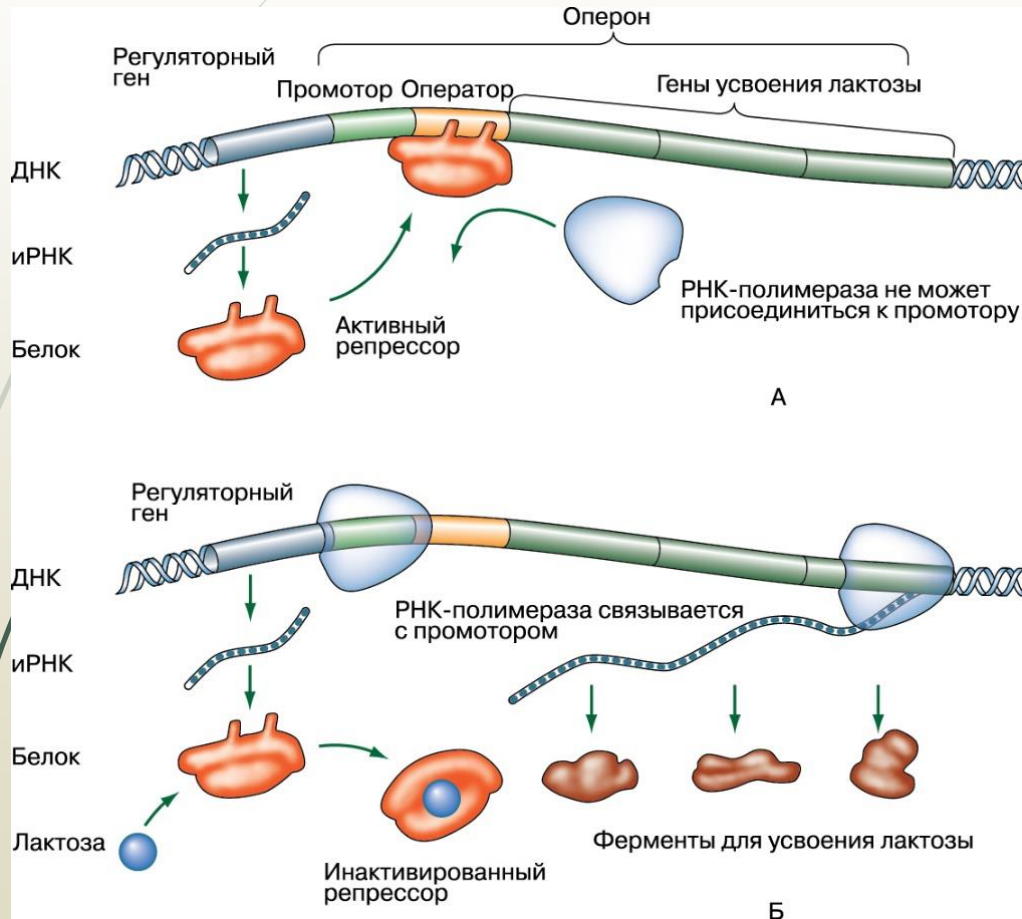
Из этого модуля вы узнаете, как регулируется активность генов прокариот и эукариот, как осуществляется в клетке биосинтез белка, в чём особенность реализации наследственной информации у вирусов.



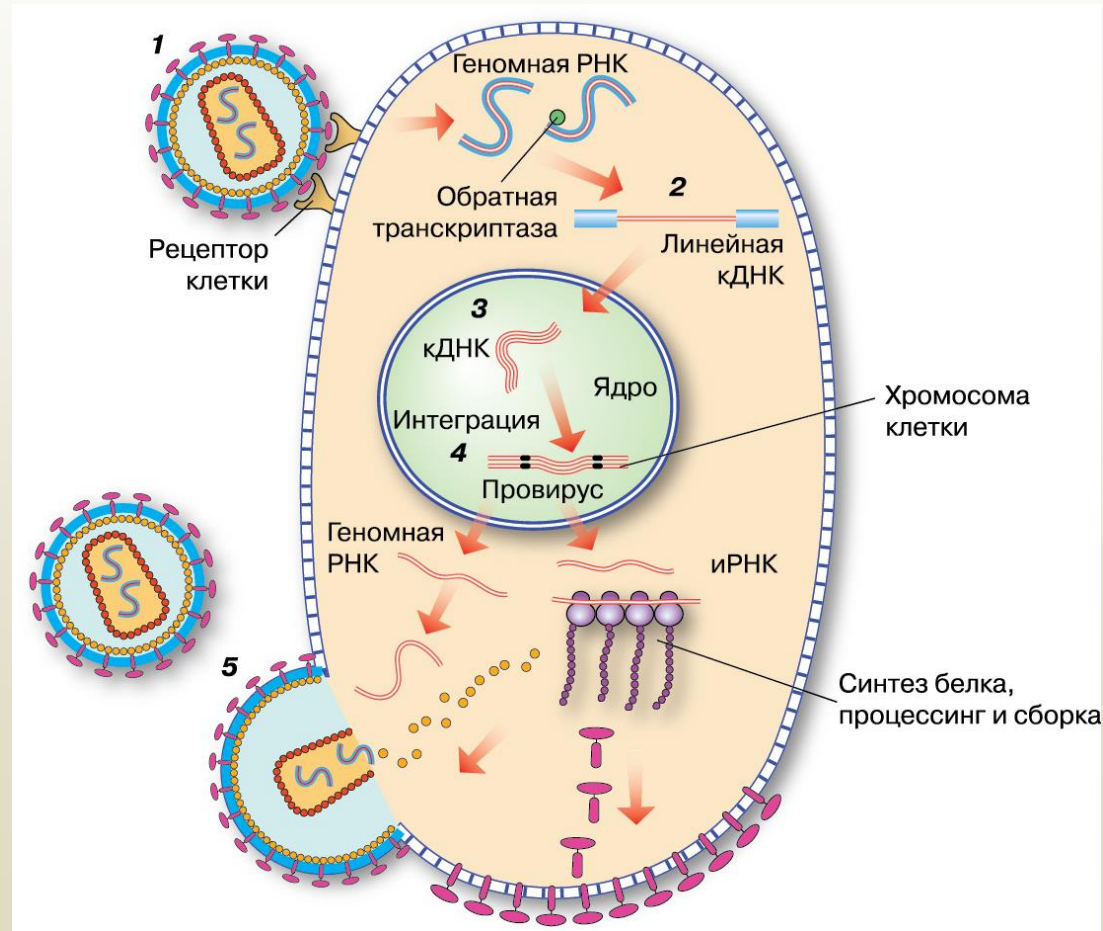
Модуль 3

РЕАЛИЗАЦИЯ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ	49
§ 3.1. Анаболизм. Регуляция активности генов прокариот	50
§ 3.2. Регуляция активности генов эукариот	56
§ 3.3. Инициация транскрипции генов эукариот	60
§ 3.4. Синтез белка	65
■ Типовые задачи по молекулярной генетике с образцами решения	72
§ 3.5. Вирусы	77

Модуль 3. Реализация наследственной информации



Модуль 3. Реализация наследственной информации



Модуль 3. Реализация наследственной информации

74

Модуль 3

В результате выпадения третьего нуклеотида из полипептидного фрагмента ДНК в нём осталось лишь два полных триплета. Поэтому соответствующая ему полипептидная цепь стала короче на одну аминокислоту. Кроме того, изменилась структура иРНК. Поэтому изменился и аминокислотный состав полипептидной цепи.

4 Полипептид состоит из 20 аминокислот. Определите: а) число нуклеотидов в гене, кодирующем этот полипептид; б) число кодонов на иРНК, соответствующих аминокислотам; в) число молекул тРНК, необходимых для биосинтеза этого полипептида.

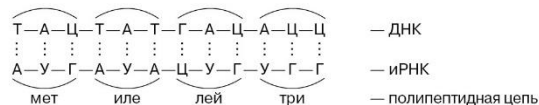
Решение.

а) В гене 60 нуклеотидов, так как одна аминокислота кодируется тремя нуклеотидами (триплетом);
 б) на иРНК 20 кодонов, так как один кодон (триплет) кодирует одну аминокислоту;
 в) 20 молекул тРНК, так как их число всегда равно числу кодонов иРНК в гене (и, следовательно, количеству аминокислот, составляющих полипептид).

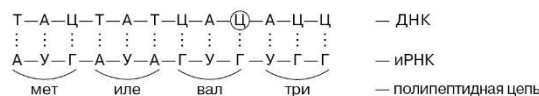
5 В результате мутации на участке гена ТАЦ—ТАТ—ГАЦ—АЦЦ произошла замена нуклеотида в третьем триплете: вместо гуанина обнаружен цитозин. Напишите состав аминокислот в полипептиде до мутации и после неё.

Решение.

До мутации:



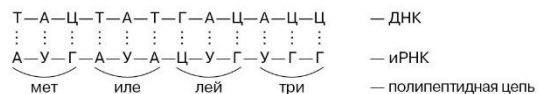
После мутации:



6 В результате мутации на участке гена ТАЦ—ТАТ—ГАЦ—АЦЦ произошла замена в третьем триплете: вместо цитозина обнаружен гуанин. Напишите состав аминокислот в полипептиде до мутации и после неё.

Решение.

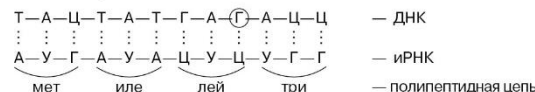
До мутации:



Реализация наследственной информации

75

После мутации:



Аминокислотный состав полипептидной цепи не изменился, так как генетический код вырожден (избыточен) — одна аминокислота кодируется несколькими триплетами, которые чаще различаются по третьему нуклеотиду. Это снижает вероятность ошибки при матричном синтезе.

7 Одна из двух цепей ДНК содержит А — 200, Т — 100, Г — 150, Ц — 300.

1. Какое количество А, Т, Ц, Г содержится в двухцепочечной молекуле ДНК?
2. Сколько аминокислот должен содержать белок, кодируемый этим участком ДНК?

Решение.

1. Так как ДНК — двухцепочечная молекула, построенная по принципу комплементарности, то

200	100	150	300
А	Т	Г	Ц
Т	А	Ц	Г
200	100	150	300

общее количество нуклеотидов в двухцепочечной ДНК будет $(200 + 300 + 100 + 150) \times 2 = 1500$, из них А = $200 + 100 = 300$, Т = $100 + 200 = 300$, Г = $150 + 300 = 450$, Ц = $300 + 150 = 450$.

2. Так как информация о первичной структуре белка записана на одной из цепей ДНК и код триплетен, то в белке, кодируемом данной ДНК, количество аминокислот составит $250 ((200 + 100 + 150 + 300) : 3 = 250)$.

8 Какие изменения произойдут в строении белка, если во фрагменте молекулы иРНК А—У—А—Г—У—Ц—Ц—У—У—Г—Ц—Г, кодирующем этот белок, произойдёт замена седьмого нуклеотида на аденин, а третьего — на цитозин?

9 Фрагмент цепи иРНК состоит из кодонов ГУГ—УУГ—УУЦ—УУГ—АГЦ. Какие аминокислоты должны принести тРНК к месту синтеза белка, закодированного в этом участке иРНК, и какие антикодоны должны иметь тРНК?

10 Фрагмент ДНК состоит из триплетов АЦЦ—АТА—ГТЦ—ЦАА. Определите последовательность аминокислот в полипептиде, который кодируется данным фрагментом ДНК.

11 Фрагмент белка состоит из аминокислот: лизина, валина, аланина, серотонина. Определите последовательность нуклеотидов фрагмента иРНК, управляющую синтезом указанного полипептида.

Авторы:
В.Н. Мишакова,
Л.В. Дорогина,
И.Б. Агафонова

Модуль 4 Генетика развития

В. Б. Захаров

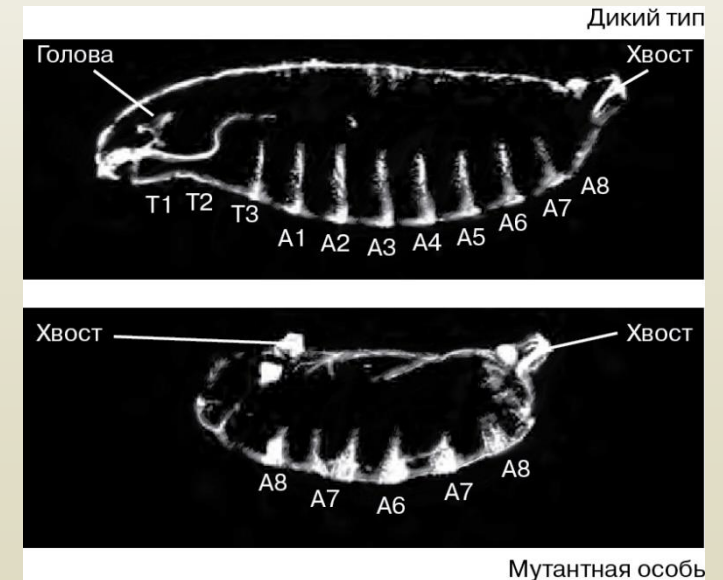
Независимо от способа размножения, начало новому организму дают одна или несколько клеток, содержащих только наследственные задатки — гены и не обладающих всеми характерными признаками и свойствами целого организма. Развитие заключается в постепенной реализации наследственной информации, полученной от родителей.

Из материала этого модуля вы узнаете, как из одной клетки формируется целостный организм, как возникает большое разнообразие типов клеток и тканей при одинаковом наборе генов во всех клетках, что является определяющим фактором в разделении развивающегося эмбриона на специфические молекулярные области, а впоследствии — на дифференцированные клетки, ткани, органы и системы.



Модуль 4

ГЕНЕТИКА РАЗВИТИЯ	83
§ 4.1. Образование и развитие половых клеток у животных	84
§ 4.2. Значение половых клеток	95
§ 4.3. Дробление. Мозаичный и регуляционный типы развития	99
§ 4.4. История представлений о регуляции эмбриогенеза. Морфогенетические поля	102
§ 4.5. Генетика начальных этапов развития	107
§ 4.6. Особенности генетики начальных этапов развития у млекопитающих	115



МЕТОДЫ

Модуль

5

Молекулярно-генетические методы

*И. В. Кузьмин, А. Р. Лавренов,
И. В. Кукушкина, Л. Н. Нефедова,
А. И. Ким*

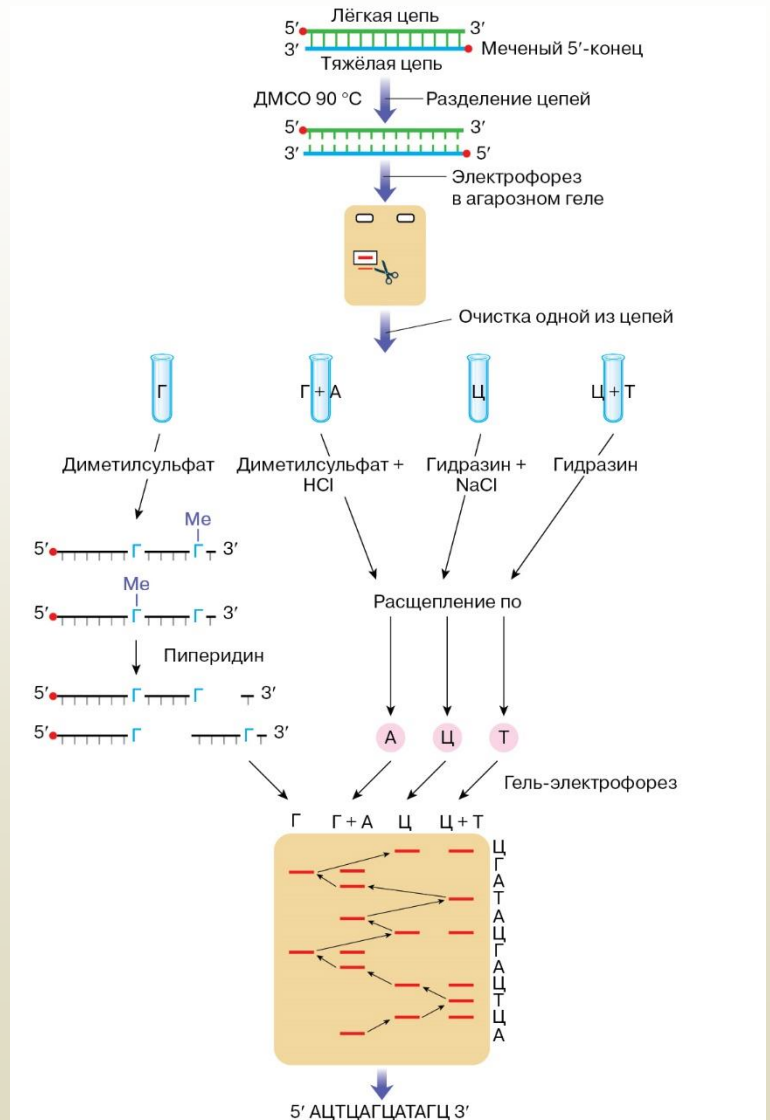
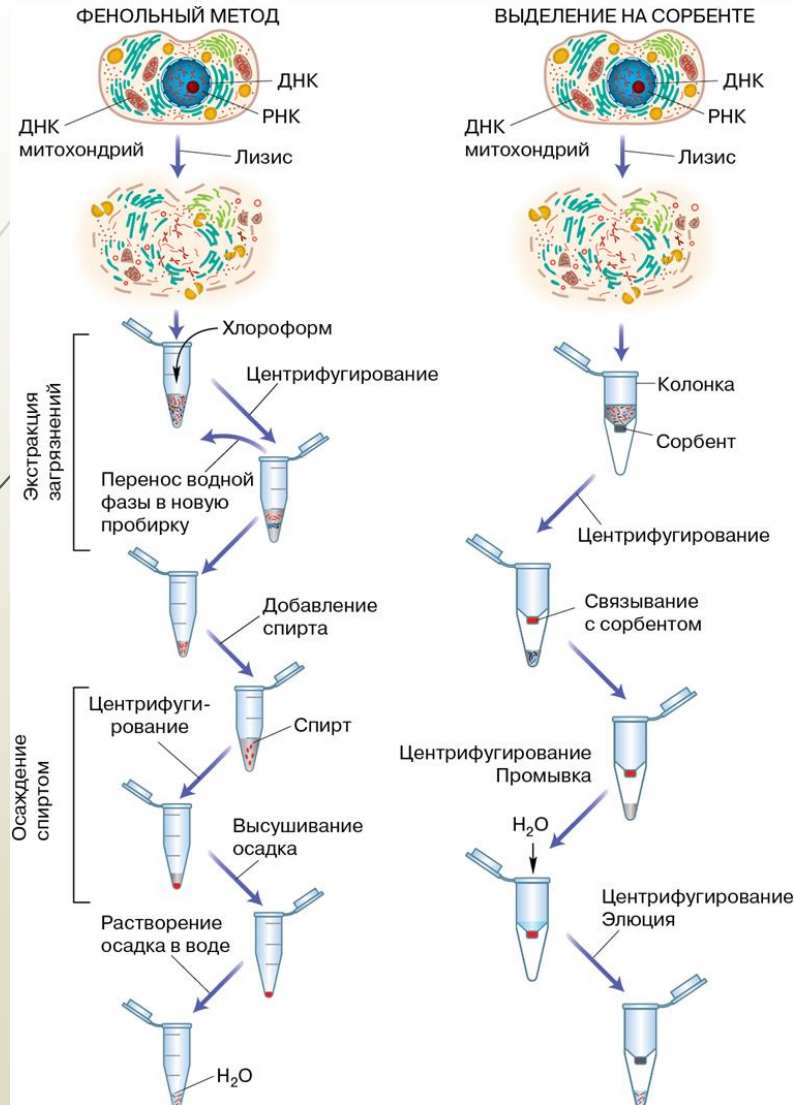
Практически любой современный генетический эксперимент требует применения молекулярно-генетических методов. Многие из этих методов, например, такие как полимеразная цепная реакция, применяются в других областях биологии и в медицине.

В модуле рассматриваются основные методы молекулярной генетики: выделение и очистка ДНК и РНК, рестрикционный анализ, полимеразная цепная реакция, а также гибридизация нуклеиновых кислот и определение их последовательности.

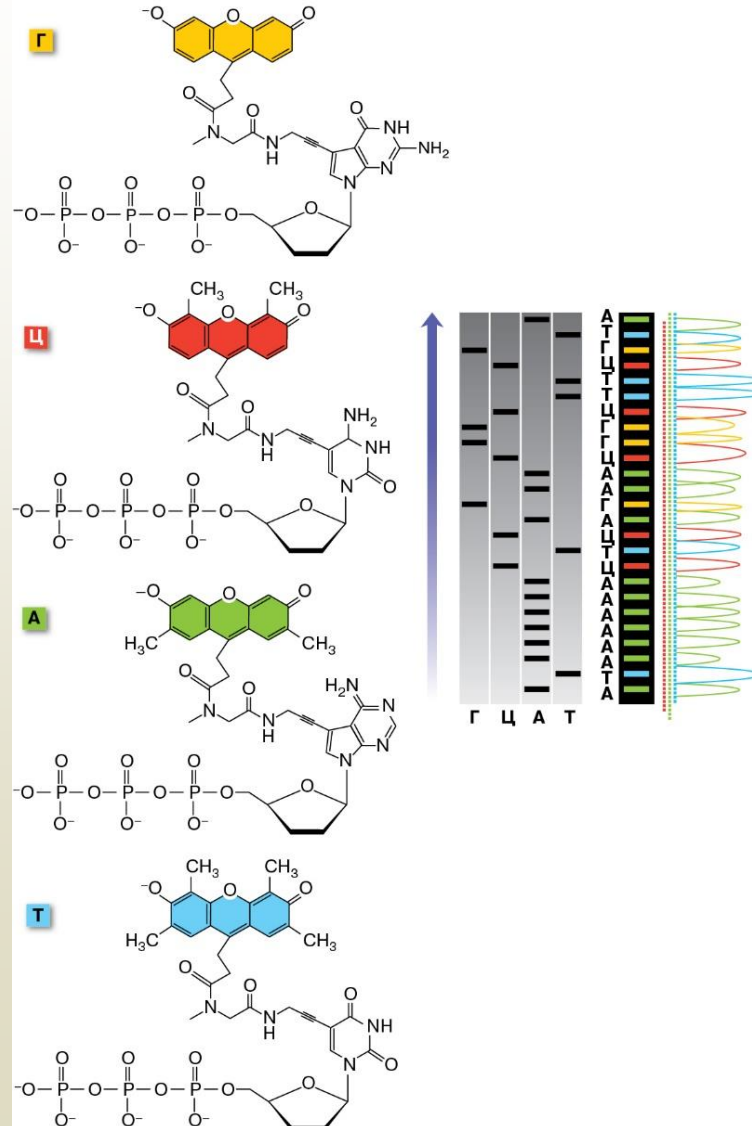
Модуль 5

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ	119
§ 5.1. Выделение и очистка нуклеиновых кислот	120
§ 5.2. Электрофорез нуклеиновых кислот	124
§ 5.3. Рестриктазы и рестрикционный анализ	127
§ 5.4. Гибридизация нуклеиновых кислот	132
§ 5.5. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)	137
§ 5.6. Количественная полимеразная цепная реакция (ПЦР)	140
§ 5.7. Секвенирование — определение последовательности нуклеиновых кислот	145

Модуль 5. Молекулярно-генетические методы



Модуль 5. Молекулярно-генетические МЕТОДЫ



Модуль 6. Секвенирование нового поколения

Модуль **6**
**Секвенирование
 нового поколения**

П. А. Махновский

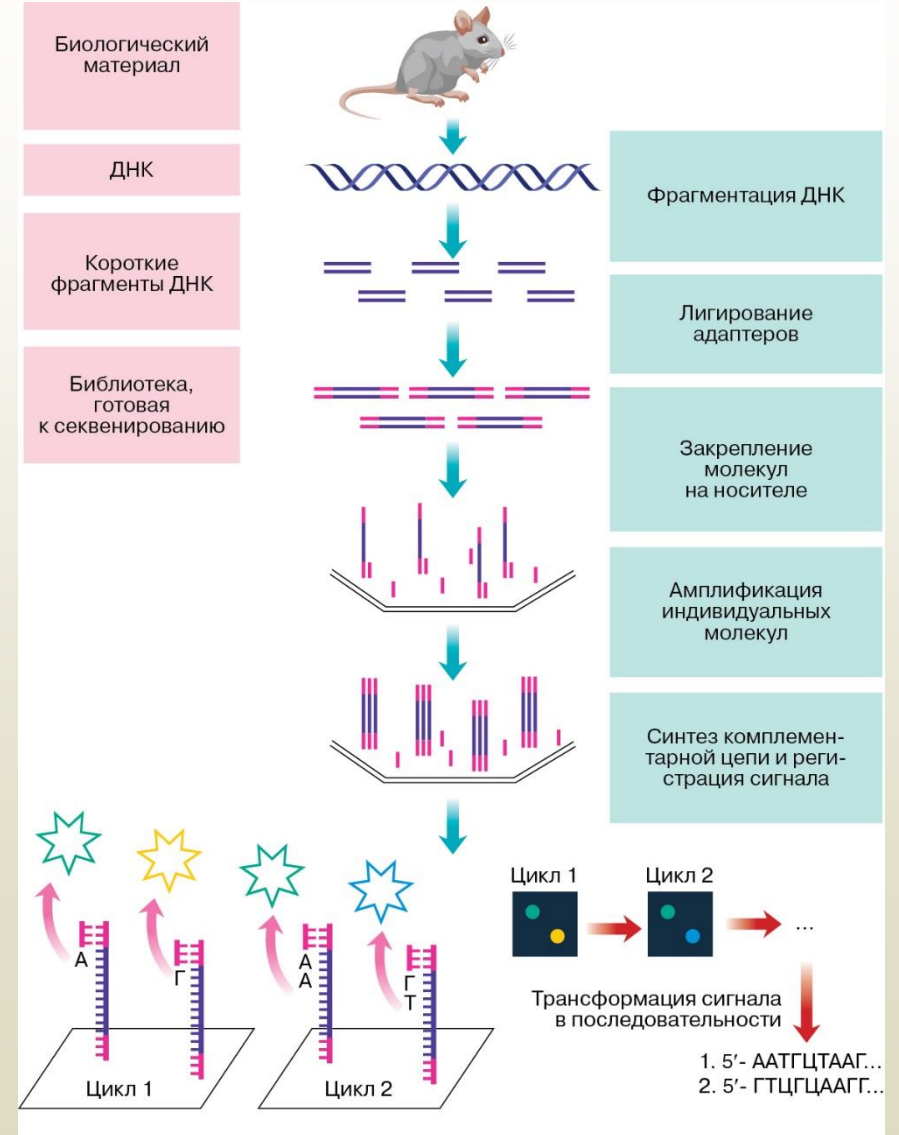
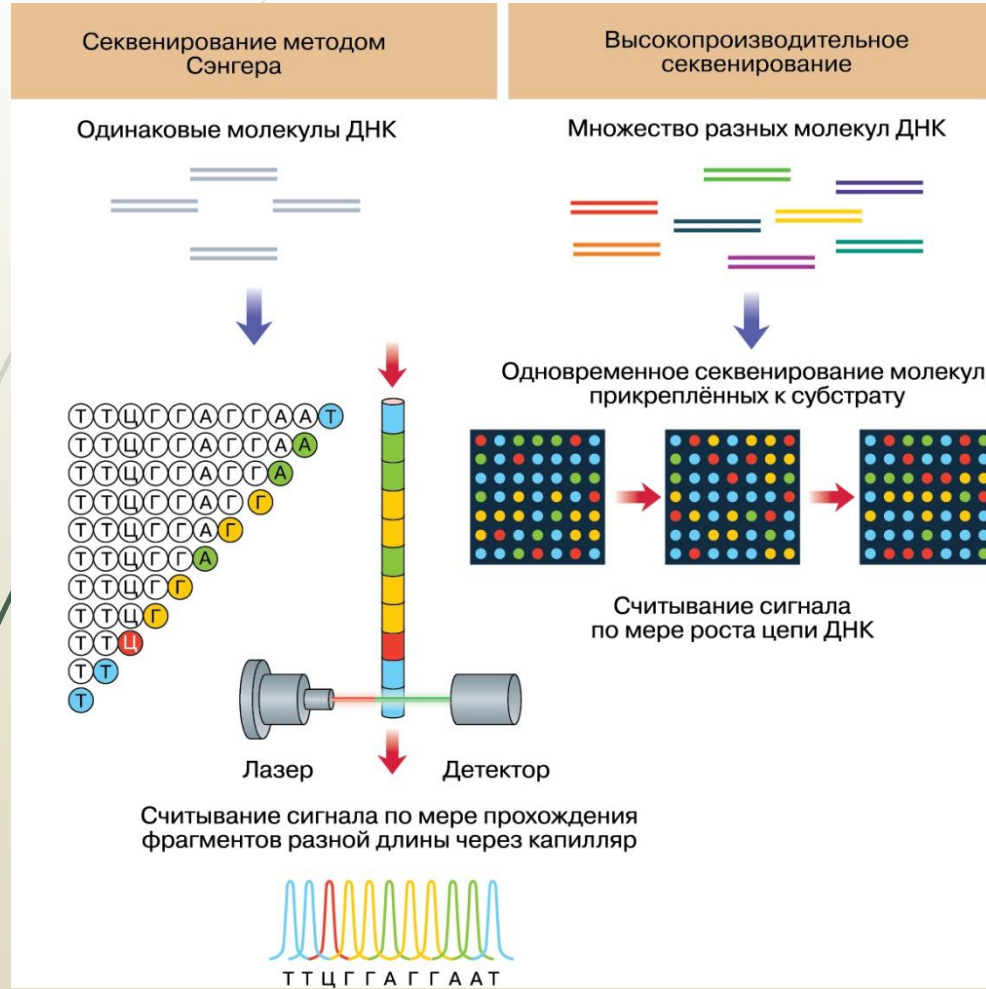
Технологии секвенирования нового поколения можно назвать революционными. Они быстро развиваются последние 15 лет, и их использование привело к значительному увеличению объема биологических данных и появлению многих фундаментальных и прикладных областей в биологии. Секвенирование нового поколения позволило шире взглянуть на научные проблемы в существующих областях биологии и ставить новые фундаментальные задачи. Сегодня трудно представить развитие молекулярной биологии, генетики и теории эволюции без этих технологий. Возможности секвенирования нового поколения способствуют развитию клинической диагностики и персонализированной медицины.

В модуле дан краткий обзор современных методов высокопроизводительного секвенирования и областей их применения.

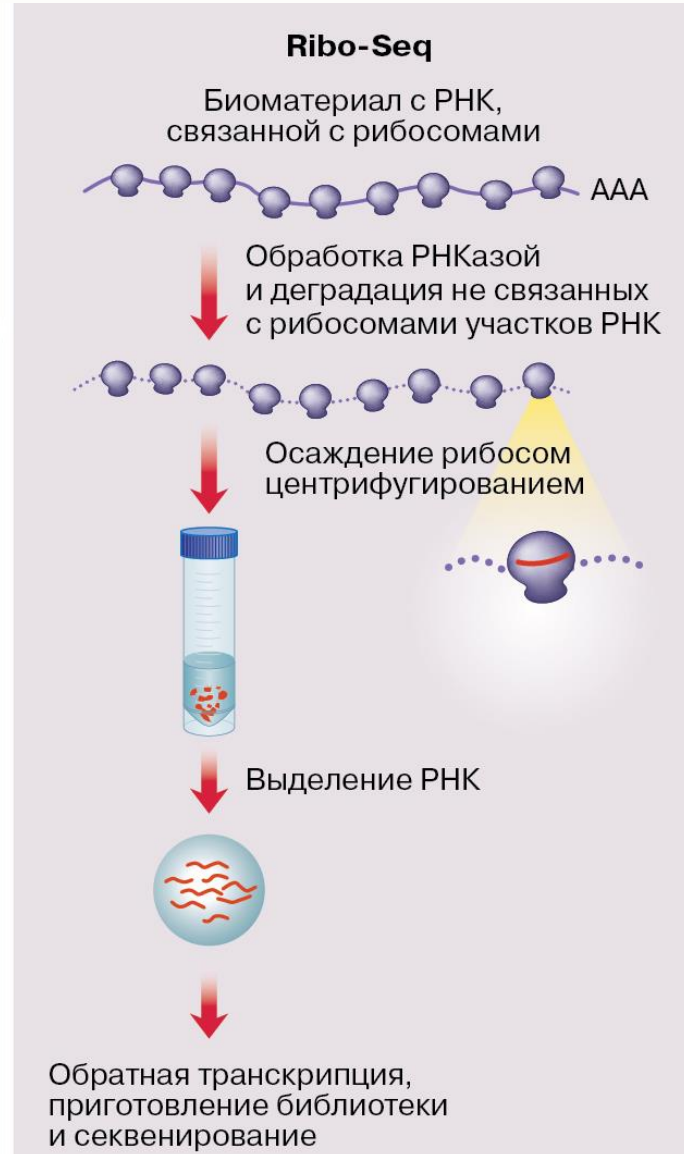
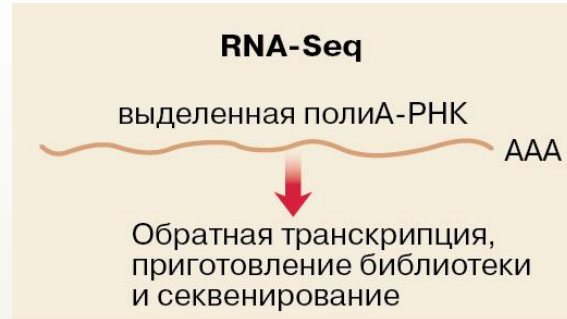
Модуль 6

СЕКВЕНИРОВАНИЕ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ	151
§ 6.1. Общие принципы секвенирования нового поколения	152
§ 6.2. Технологии высокопроизводительного секвенирования	156
§ 6.3. Задачи секвенирования нового поколения и методы их решения: секвенирование генома	162
§ 6.4. Задачи секвенирования нового поколения и методы их решения: анализ транскриптомов и другие области применения	166

Модуль 6. Секвенирование нового поколения



Модуль 6. Секвенирование нового поколения

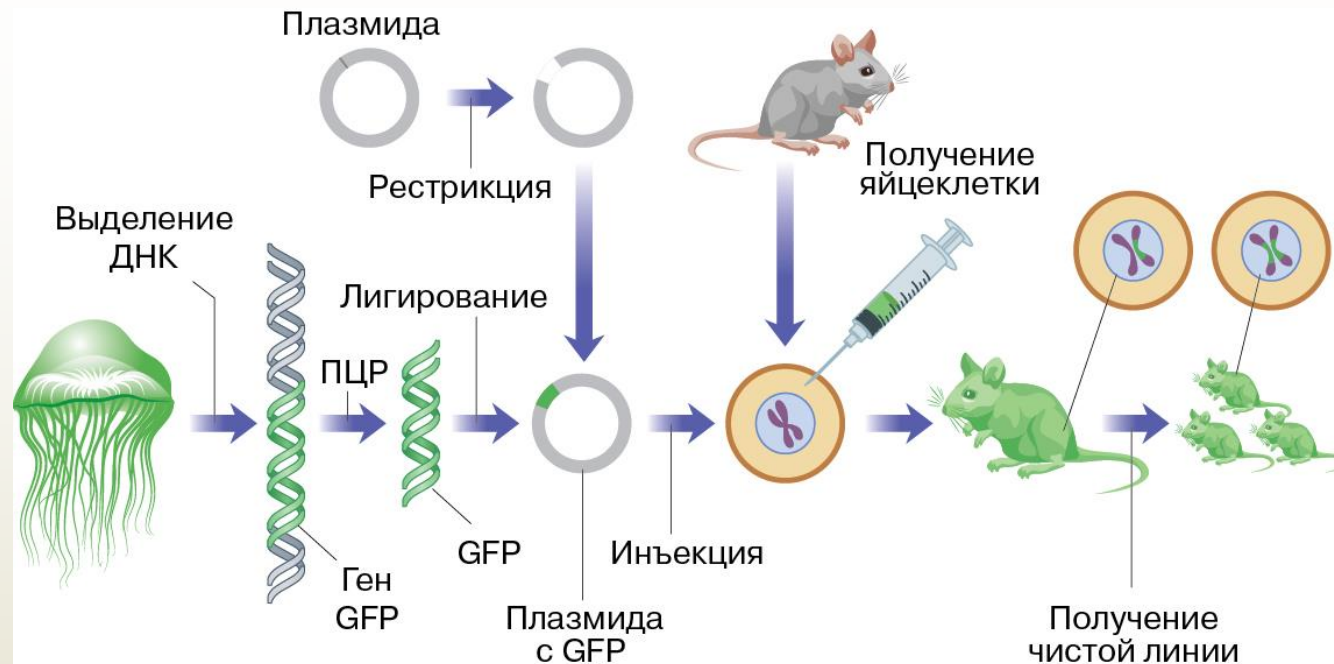


Модуль 7 Генная инженерия

И. В. Кузьмин, И. В. Кукушкина,
А. Р. Лавренов, Л. Н. Нефедова,
А. И. Ким

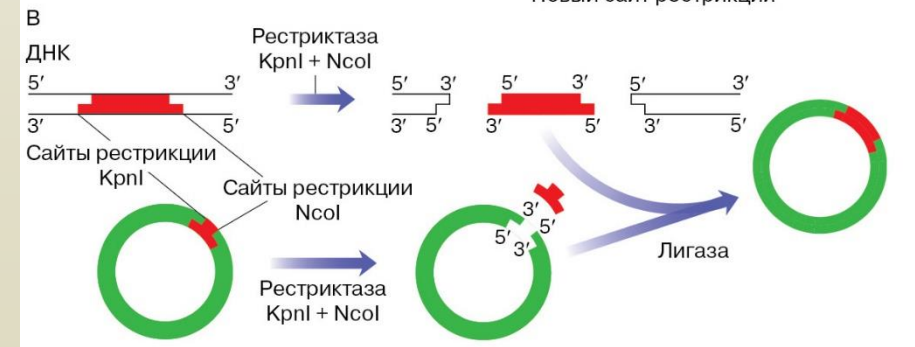
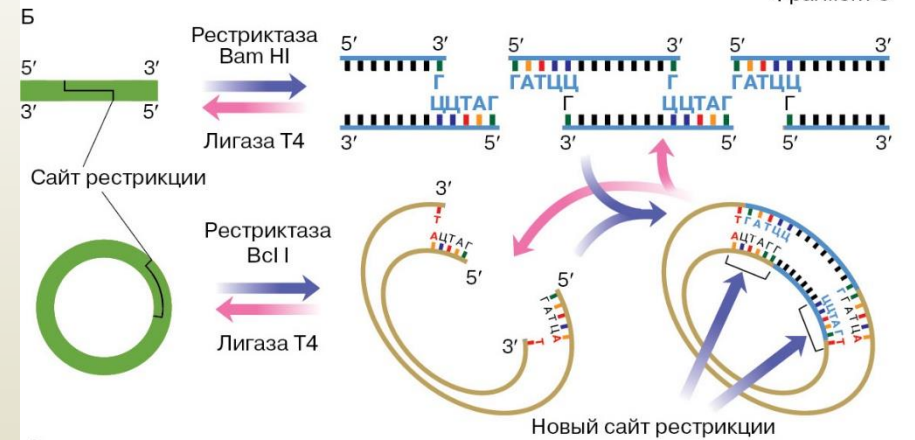
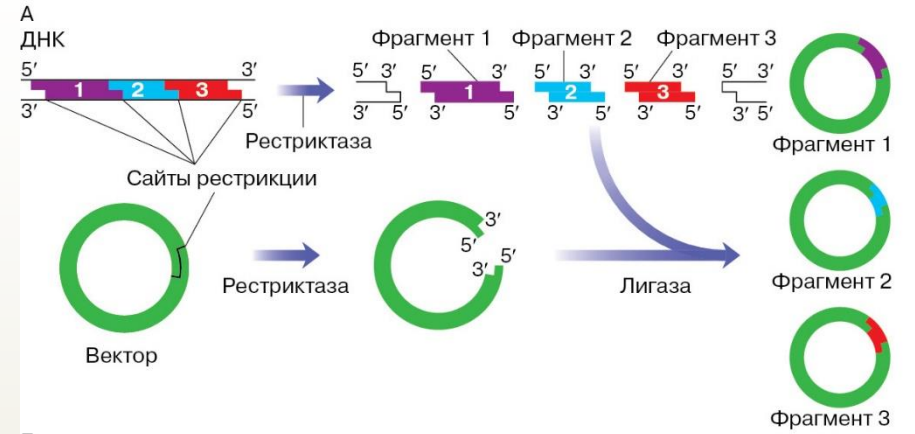
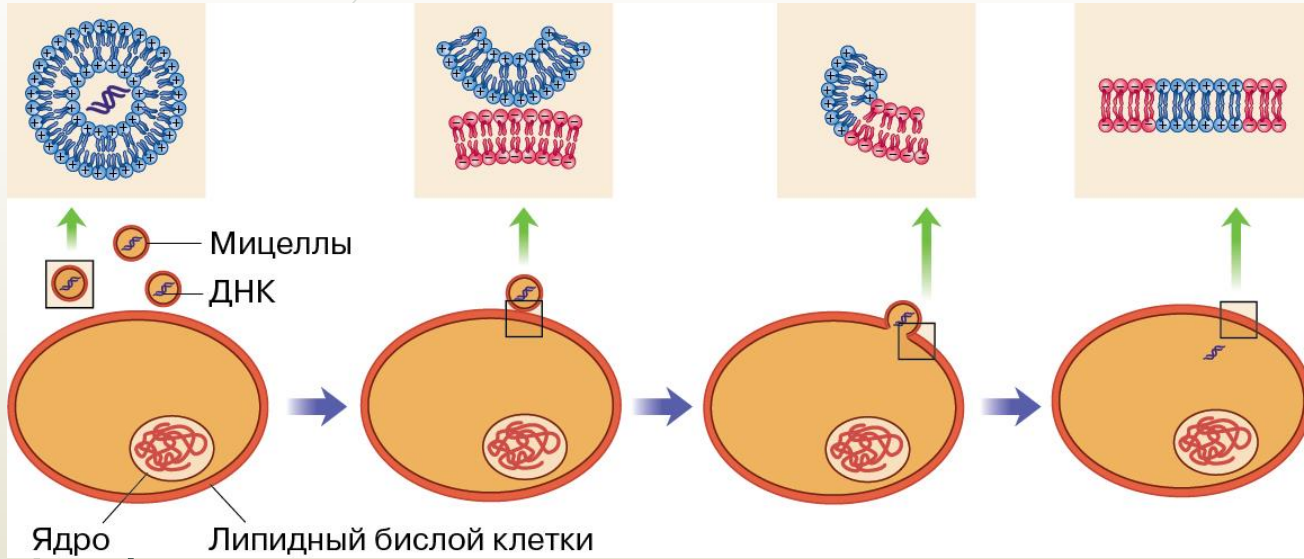
Генная инженерия — это технология, позволяющая манипулировать с ДНК и направленно изменять наследственность. Являясь продуктом научно-технической революции XX в., генная инженерия имеет широкую сферу применения — от биологических экспериментов до биотехнологии и производства лекарств.

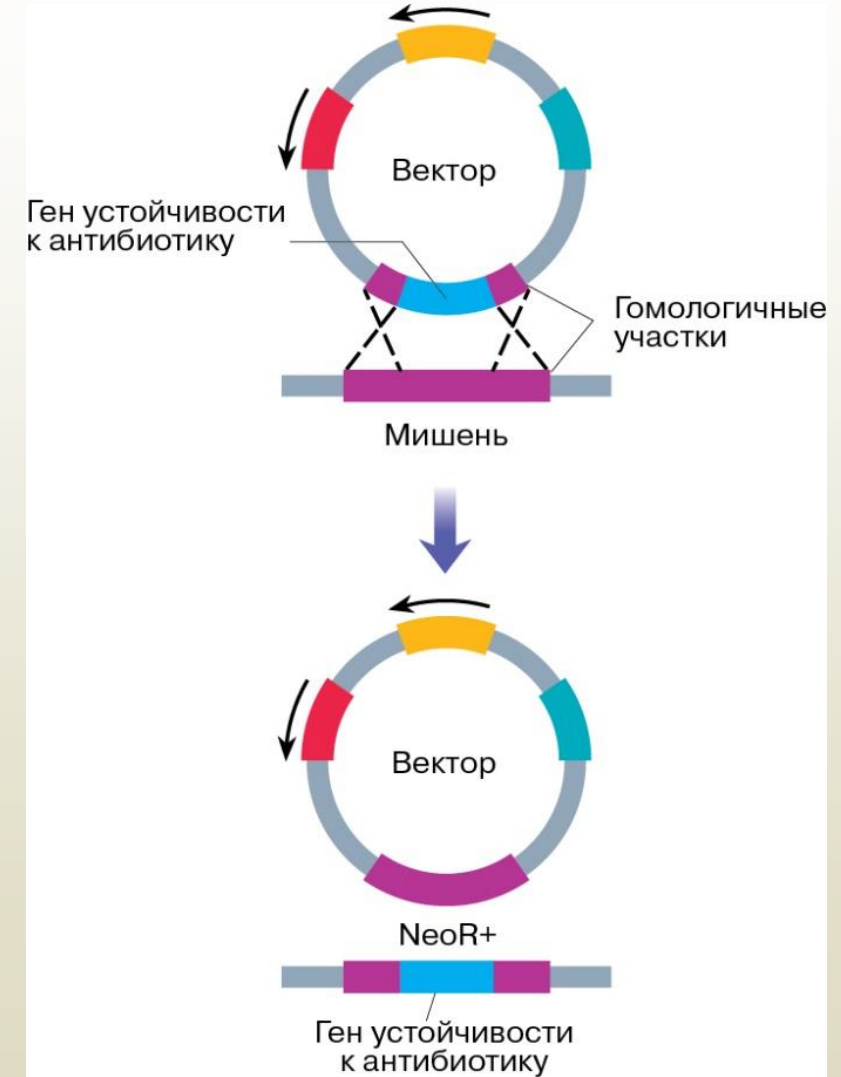
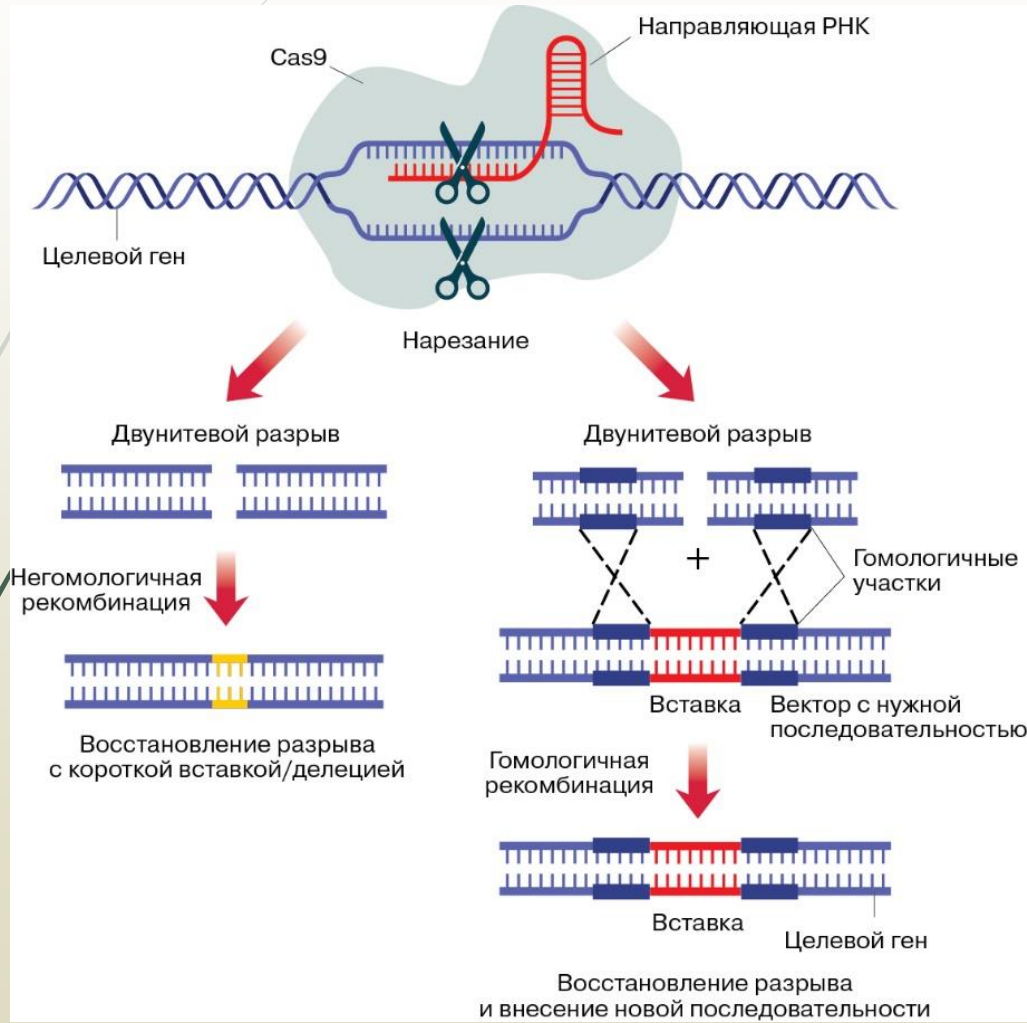
В модуле рассмотрены задачи и области применения генной инженерии, подходы к конструированию рекомбинантных ДНК и методы их доставки в клетки. Также представлена информация о способах нокаута и нокдауна генов и редактирования генома с использованием системы CRISPR/Cas9.



Модуль 7

ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ	171
§ 7.1. Что такое генная инженерия	172
§ 7.2. Получение рекомбинантных ДНК	175
§ 7.3. Получение необходимых фрагментов ДНК, выделение генов	180
§ 7.4. Доставка рекомбинантной ДНК в клетку	184
§ 7.5. Векторы для генной инженерии: какие они бывают	189
§ 7.6. CRISPR/Cas9 и другие способы редактирования генома	194
§ 7.7. Нокаут и нокдаун генов	198



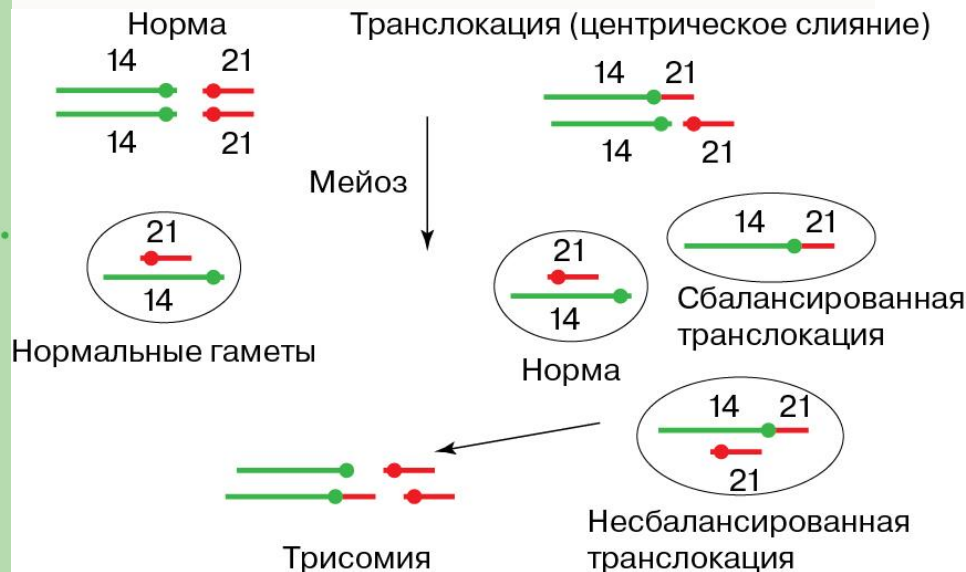
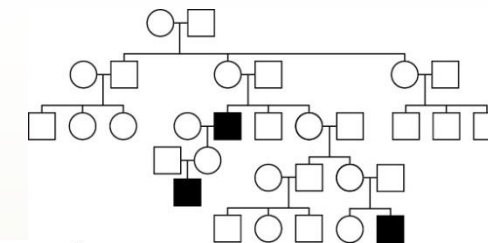


Модуль 8 Генетика человека

Л. Н. Нефедова, И. Б. Агафонова,
И. В. Кузьмин, А. И. Ким

Генетика человека является одной из наиболее практически значимых областей генетики. Наследственность человека подчиняется тем же законам, что и наследственность других видов, но для изучения человека используются специальные методы. Бурное развитие генетики человека связано в том числе с широким распространением медико-генетического консультирования, пренатальной диагностики и скрининга с целью выявления наследственных заболеваний. Наибольший практический интерес представляют исследования генетических заболеваний и создание высокотехнологичных лекарственных препаратов. Однако генетика человека не сводится исключительно к изучению болезней.

В модуле описаны основные методы генетики человека, а также классификация, механизмы наследования и подходы к лечению генетических заболеваний. Рассмотрены основные этические проблемы медицинской генетики и факторы, позволяющие снизить вероятность возникновения наследственных заболеваний.



Модуль 8

ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА	203
§ 8.1. Методы генетики человека	204
§ 8.2. Наследственные заболевания и их классификация	209
§ 8.3. Генетические методы в исследовании наследственных заболеваний	212
§ 8.4. Генные болезни	216
§ 8.5. Хромосомные болезни	221
§ 8.6. Профилактика, диагностика и лечение наследственных заболеваний	224

Модуль

9

Генетика спорта

А. А. Борзых, И. В. Кузьмин

Высокие спортивные достижения во многом связаны с врождёнными особенностями организма. Исследованием этой взаимосвязи и поиском генов, связанных с успехами в различных видах спорта, а также изучением механизмов взаимодействия этих генов занимается генетика спорта.

Данный модуль является кратким введением в генетику спорта, в нём рассмотрены основные задачи этой дисциплины, представлено несколько примеров взаимосвязи генотипа и спортивных успехов, даётся обзор методов, которые применяются для исследований.



Модуль 9

ГЕНЕТИКА СПОРТА	231
§ 9.1. Проблемы и задачи генетики спорта	232
§ 9.2. Известные «гены спортивных достижений» и механизм их действия	235
§ 9.3. Методы генетики спорта	239

Модуль 10 Практические и лабораторные работы

А. В. Мерциев

Лабораторный практикум ориентирован на освоение основных технологий молекулярной и цитологической генетики. Учитывая различные материально-технические возможности школ, все работы практикума разделены на три группы: практические (не требуют оборудования), лабораторные с использованием доступного оборудования (работы 1—9), лабораторные с применением специального учебного оборудования (работы 10—15). В необходимых случаях даны методики заготовки материалов, приготовления препаратов и реактивов.

Практические работы направлены на изучение закономерностей наследования и анализ кариотипов. Выполнение работ второй группы позволит освоить методики фенотипического и цитогенетического анализа, популяционно-генетических исследований, технологии выделения и очистки наследственного материала из разных организмов. Работы третьей группы нацелены на освоение оборудования, поставляемого в школы для оснащения лабораторий генетики, и отработку навыков генотипирования организмов: получение очищенной ДНК, постановку полимеразной цепной реакции и гель-электрофореза.

Выполнение лабораторного практикума поможет овладеть основными генетическими технологиями и даст понимание, какую пользу эти технологии имеют для анализа собственного здоровья и качества жизни.

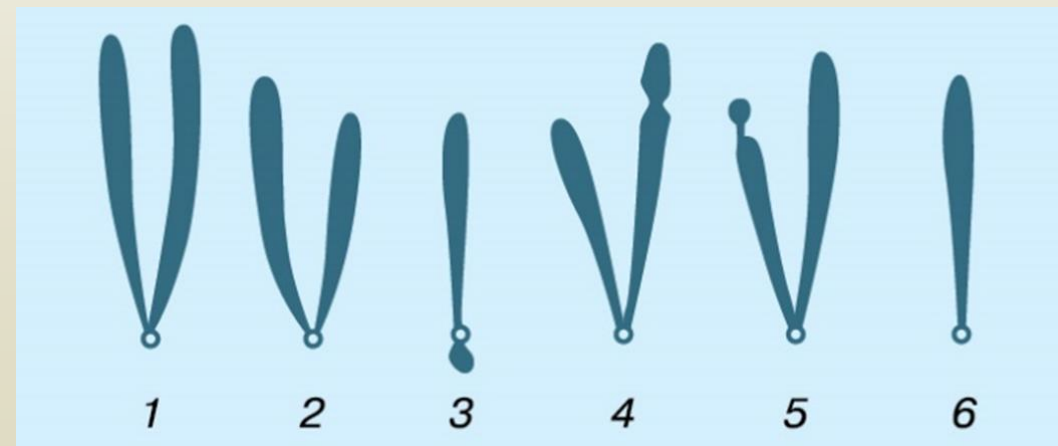
- Курс имеет практическую направленность и содержит подробный алгоритм и методику проведения практических и лабораторных работ, ориентированных на освоение основных технологий молекулярной и цитологической генетики.

Модуль 10

ПРАКТИЧЕСКИЕ И ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ	243
Практическая работа № 1. Определение фенотипа подозреваемого по результатам генетического анализа	244
Практическая работа № 2. Анализ кариотипов различных видов млекопитающих	247
Лабораторная работа № 1. Изучение политенных хромосом из слюнных желёз личинок двукрылых	250
Лабораторная работа № 2. Определение генотипов плодовой мушки (<i>Drosophila melanogaster</i>)	255
Лабораторная работа № 3. Определение полового хроматина в клетках буккального эпителия здорового человека	257
Лабораторная работа № 4. Выделение нуклеиновых кислот из клеток растений	259
Лабораторная работа № 5. Выделение нуклеопротеидов из дрожжей методом кислотного гидролиза	263
Лабораторная работа № 6. Получение препарата ДНК из тканей животных	266
Лабораторная работа № 7. Определение частот аллелей и генотипов в модельной популяции	269
Лабораторная работа № 8. Определение нормы реакции скорости произвольных движений	271
Лабораторная работа № 9. Изменчивость онтогенетических модификаций листовых пластинок в зависимости от условий внешней среды	273
Лабораторная работа № 10. Знакомство с лабораторным оборудованием школьной генетической лаборатории	277
Лабораторная работа № 11. Получение препарата очищенной ДНК из тканей растений	279
Лабораторная работа № 12. Выделение ДНК из пищевых продуктов	281
Лабораторная работа № 13. Получение плазмидной ДНК из клеток бактерий	283
Лабораторная работа № 14. Амплификация ДНК методом полимеразной цепной реакции	286
Лабораторная работа № 15. Постановка электрофореза ДНК в агарозном геле	289
Приложение	293

Модуль 10. Практические и лабораторные работы

- ▶ **Практическая работа № 1.** Определение фенотипа подозреваемого по результатам генетического анализа. Решение генетических задач с полигибридными комбинациями аллелей для определения организма искомого фенотипа среди группы организмов с известными генотипами. Создание словесного и графического портрета человека на основе упрощённой модели наследования доминантных и рецессивных признаков черт лица.
- ▶ **Практическая работа № 2.** Анализ кариотипов различных видов млекопитающих. Изучение морфологических особенностей хромосом млекопитающих. Составление и описание кариотипа, сравнение кариотипов систематически близких видов.



Модуль 10. Практические и лабораторные работы

Приложение

Основные черты лица человека и соответствующие им генотипы

В таблице приведена модель наследования основных признаков черт лица. Расположение генов в группах сцепления и множественный аллелизм не учитываются. Для каждого признака приведён характер его наследования и соответствующие генотипы и фенотипы. В необходимых случаях дано пояснение о характере наследования признаков. Для удобства работы признаки разделены на три группы с условными буквенными обозначениями генов.

Признаки формы лица, подбородка и глаз

1. Форма лица (A). Полное доминирование.

Круглая (AA; Aa)

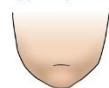


Квадратная (aa)

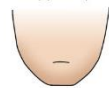


2. Очертание подбородка (B). Полное доминирование.

Очень выдающийся (BB; Bb)

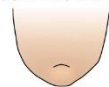


Менее выдающийся (bb)

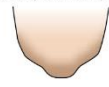


3. Форма подбородка (C). Полное доминирование. Форма подбородка наследуется только в том случае, если подбородок очень выдающийся, и не наследуется, если он менее выдающийся (имеет место результат супрессии генов — эпистаз).

Круглый (CC; Cc)

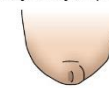


Квадратный (cc)



4. Ямочка на подбородке (D). Полное доминирование.

Присутствует (DD; Dd)



Отсутствует (dd)



5. Расстояние между глазами (E). Неполное доминирование.

Близко посаженные (EE)



Среднее расстояние (Ee)



Широко расставленные (ee)



6. Размер глаз (F). Неполное доминирование.

Большие (FF)



Среднего размера (Ff)



Маленькие (ff)



7. Форма глаз (G). Полное доминирование.

Удлиненные (GG; Gg)



Округлые (gg)



8. Расположение глазных щелей (H). Полное доминирование.

Горизонтальное (HH; Hh)



Уголки приподняты (hh)



Модуль 10. Практические и лабораторные работы

298

Модуль 10

Признаки носа, губ и ушных раковин

20. Размер носа (A). Неполное доминирование.

Большой (AA) Средний (Aa) Маленький (aa)



21. Форма носа (B). Полное доминирование.

Круглый (BB; Bb) Заострённый (bb)



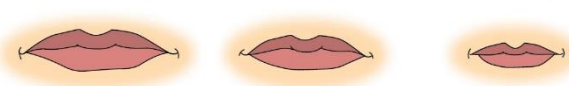
22. Форма ноздрей (C). Полное доминирование.

Округлые (CC; Cc) Узкие (cc)



23. Размер рта (D). Неполное доминирование.

Большой (DD) Средний (Dd) Маленький (dd)



24. Толщина губ (E). Полное доминирование.

Полные (EE; Ee) Тонкие (ee)



Практические и лабораторные работы

299

25. Выпуклость губ (F). Неполное доминирование.

Очень пухлые (FF) Умеренно пухлые (Ff) Не пухлые (ff)



26. Наличие ямочек на щеках (G). Полное доминирование.

Имеются (GG; Gg) Отсутствуют (gg)



27. Положение мочки уха (H). Полное доминирование.

Свободная (HH; Hh) Сросшаяся (hh)



28. Наличие дарвиновского бугорка на ухе (I). Полное доминирование.

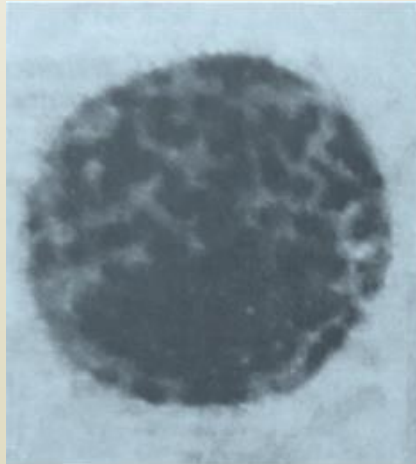
Имеется (II; Ii) Отсутствует (ii)



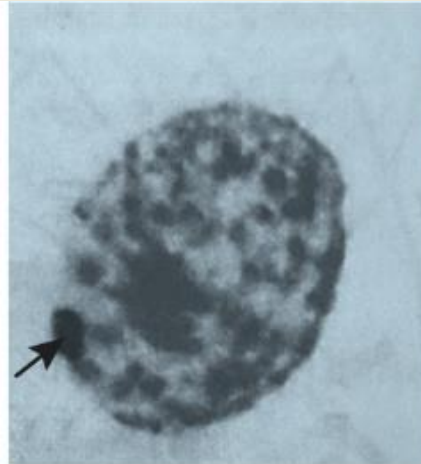
Модуль 10. Практические и лабораторные работы

- ▶ **Лабораторная работа № 1.** Изучение политенных хромосом из слюнных желёз личинок двукрылых. Приготовление временного микропрепарата политенных хромосом и изучение особенностей их внешнего строения. Функции структур политенных хромосом. Часть 1. Методика приготовления временного микропрепарата политенных хромосом. Часть 2. Методика изучения политенных хромосом.
- ▶ **Лабораторная работа № 2.** Определение генотипов плодовой мушки (*Drosophila melanogaster*). Распознавание фенотипических признаков на натуральных препаратах и определение возможных генотипов организма по его фенотипу.
- ▶ **Лабораторная работа № 3.** Определение полового хроматина в клетках буккального эпителия здорового человека. Приготовление временного микропрепарата клеток слизистой оболочки ротовой полости. Исследование препарата клеток буккального эпителия и определение полового хроматина.
- ▶ **Лабораторная работа № 4.** Выделение нуклеиновых кислот из клеток растений. Выделение нуклеиновых кислот из клеток растений и доказательство их наличия в полученном препарате.
- ▶ **Лабораторная работа № 5.** Выделение нуклеопротеидов из дрожжей методом кислотного гидролиза. Выделение нуклеиновых кислот из клеток дрожжей и доказательство их наличия в полученном препарате.
- ▶ **Лабораторная работа № 6.** Получение препарата ДНК из тканей животных. Получение препарата очищенной ДНК из животной ткани. Гомогенизация образца и лизис клеток. Осаждение ДНК. Подтверждение результата работы.
- ▶ **Лабораторная работа № 7.** Определение частот аллелей и генотипов в модельной популяции. Выбор фенотипического признака. Сбор данных. Обработка данных и анализ результатов.
- ▶ **Лабораторная работа № 8.** Определение нормы реакции скорости произвольных движений. Выявление нормы реакции скорости произвольных движений. Методика С. Ф. Баранова.
- ▶ **Лабораторная работа № 9.** Изменчивость онтогенетических модификаций листовых пластинок в зависимости от условий внешней среды. Определение диапазона реакции длины листьев клевера ползучего в разных экологических условиях.

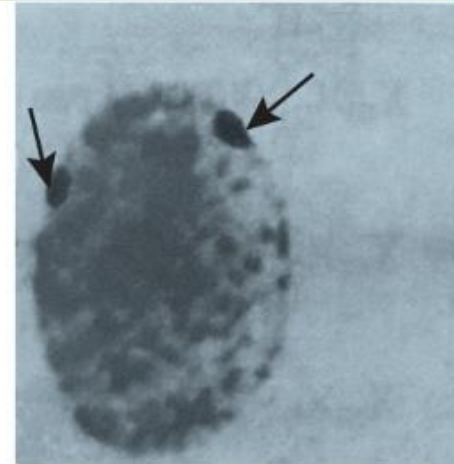
Модуль 10. Практические и лабораторные работы



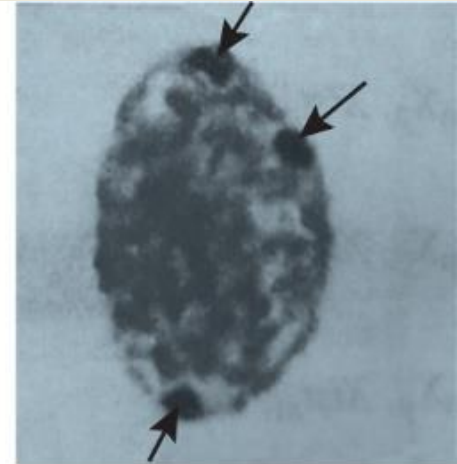
1



2



3



4

Лабораторная работа 1

250

Модуль 10

Лабораторная работа № 1

Изучение политенных хромосом из слюнных желёз личинок двукрылых

Теоретическая часть

Политенные, или гигантские, хромосомы впервые были описаны Эдуардом Бальбиани в 1881 г. в клетках слюнных желёз представителя рода *Chironomus* из семейства Комары-звонцы (*Chironomidae*). Природа этих структур стала известна после их изучения у плодовой мушки *Drosophila melanogaster* Эмилем Хайтцем и Хансом Бауэром в начале 30-х гг. XX в. Позднее политенные хромосомы были обнаружены у личинок двукрылых насекомых в ядрах клеток кишечника, мальпигиевых сосудов и жирового тела, а также у некоторых растений в ядрах эндосперма, антиподов, синергид и гаусторий, у инфузорий — при формировании макронуклеуса, у аскариды — в клетках пищеварительных желёз и эпителия матки, у моллюсков — в гигантских нейронах, у млекопитающих — в трофобластах. Клетки с политенными хромосомами прекращают деление, дифференцируются и активно секретируют. Следовательно, биологический смысл политенизации хромосом заключается в увеличении числа копий генов для синтеза какого-либо продукта. Например, в клетках слюнных желёз личинок дрозофилы политенизация хромосом способствует образованию больших количеств клейкого вещества перед окукливанием.

У дрозофилы политения наблюдается в клетках различных тканей, но самый высокий её уровень в слюнных железах. Поэтому именно эти органы используют для проведения кариологического анализа.

Политенные хромосомы представляют собой гигантские интерфазные хромосомы, которые возникают в результате двух процессов: многократной репликации ДНК без деления наследственного материала и клетки (эндомитоз) и боковой конъюгации хроматид. Кроме того, в слюнных железах двукрылых между собой конъюгируют ещё и гомологичные хромосомы каждой пары, поэтому в клетках наблюдают гаплоидное число хромосом.

Политенные хромосомы во много раз крупнее хромосом обычных соматических клеток: в 100—200 раз длиннее и в 1000 раз толще. Политенные хромосомы имеют характерную поперечную исчерченность. В тёмных участках с более плотной спирализацией (хромомерах) располагается неактивный хроматин, в то время как светлые полосы имеют повышенную транскрипционную активность. Кроме того, активными районами политенных хромосом являются пuffed и ядрышки. *Пuffed* — это участки политенных хромосом, в которых проходит активная транскрипция, приводящая к разрыхлению хроматина и вздутию (распуфливанню) хромосомы. Некоторые *пuffed* получили собственное название — *кольца Бальбиани*. Основные различия между обычными *пuffed* и кольцами Бальбиани заключаются в

Практические и лабораторные работы

251

внешнем виде и продуктах синтеза. В кольцах Бальбиани синтезируется РНК белков слюнного секрета и происходит высокоактивная транскрипция, в результате которой нити ДНК сильно выпетливаются и образуют муфтообразную структуру вокруг хромосомы. Ядрышко представляет собой специализированный пуф, основу которого составляет ядрышковый организатор — участок хромосомы, ответственный за синтез всей рРНК клетки. Накопление веществ ядрышка происходит не только в области боковых выростов ядрышкового организатора, но и внутри самой хромосомы.

Генетические исследования политенных хромосом позволяют провести картирование точек разрывов хромосомных перестроек, картирование генов, а также установить характер влияния различных факторов (в том числе экологических) на процессы репликации, транскрипции.

У дрозофилы обыкновенной диплоидный набор содержит четыре пары хромосом ($2n = 8$). На микропрепарате слюнных желёз дрозофилы можно увидеть, что хромосомы дрозофилы агрегируют в области центромера с образованием хромосомного центра. От этого хромосомного центра отходит пять (реже шесть) лент, каждая из которых представлена двумя гомологичными хромосомами (рис. 10.5).

Все хромосомы различаются по морфологическому типу. Для идентификации политенных хромосом у дрозофилы можно пользоваться следующими признаками:

- 1) первая хромосома — X, акроцентрическая, образует одну ленту;
- 2) вторая хромосома очень длинная, метацентрическая, образует две ленты (два плеча) от хромосомного центра (2Z — левое, 2R — правое);
- 3) третья хромосома также очень длинная, метацентрическая и образует два плеча (3Z — левое, 3R — правое). У Z-плеча концы веерообразные: у 3Z-плеча конец более расширенный, с дисками у основания, у 2Z — более ровный, диски отсутствуют. У R-плеча концы бульбообразные: у 3R-плеча — больших размеров, чем у 2R-плеча;
- 4) небольшая четвёртая хромосома образует малую, едва выступающую из хромосомного центра ленту.

У большинства видов рода *Chironomus* подсемейства *Chironominae* четыре пары хромосом ($2n = 8$), но встречаются и виды с $2n = 6$. У видов с $2n = 8$ три пары крупных мета- или субметацентрических хромосом (дву-плечные хромосомы I, II и III) и одна пара коротких телоцентрических хромосом (одноплечная хромосома IV).

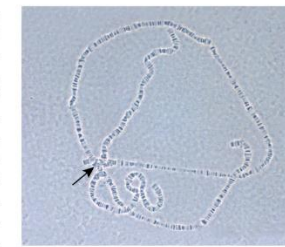


Рис. 10.5. Политенные хромосомы в ядре клетки слюнных желёз плодовой мушки *Drosophila melanogaster* (стрелкой указан хромосомный центр)

Практическая часть

Цель: приготовить временный микропрепарат политенных хромосом и изучить особенности их внешнего строения.

Обратите внимание

Микропрепараты политенных хромосом дрозофилы входят в состав комплекта для кабинета биологии. Но поскольку они имеются не в каждой школе, мы приводим методику приготовления микропрепаратов, а работу делим на две части — препаратную и исследовательскую. Данная лабораторная работа может проводиться с использованием слюнных желёз личинок плодовых мушек или комаров-звонцов (мотыля). Препараты политенных хромосом можно приготовить из 4–5-дневных личинок. Удобнее работать с личинками мотыля, чем с личинками дрозофилы, поскольку они крупнее. Пробирки с 4–5-дневными личинками предварительно желательнее поместить на сутки в термостат с температурой 16–18 °С (в этом случае легче освободить слюнные железы от других тканей, и препарат получается более качественным).

Часть 1. Методика приготовления временного микропрепарата политенных хромосом

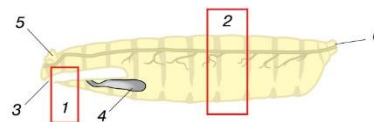
Оборудование: микроскоп или бинокулярная лупа, предметные и покровные стёкла, препаровальные иглы, пипетки, фильтровальная бумага, чашка Петри, салфетки, медицинские перчатки, термостат.

Материалы и реактивы: личинки дрозофилы или комара-звонца (мотыль), ацетокармин, 45%-я уксусная кислота, физиологический раствор.

Ход работы

1. Наденьте перчатки. Это необходимо для защиты рук от случайного попадания капель реактивов.
2. Приготовьте физиологический раствор. Для этого растворите в 1 л дистиллированной воды 7,5 г NaCl, 0,35 г KCl, 0,21 г CaCl₂.
3. С помощью препаровальной иглы перенесите личинку из пробирки на предметное стекло в каплю физиологического раствора.
4. С помощью двух препаровальных игл отделите слюнные железы личинки — парные образования удлинённой формы, расположенные по обе стороны пищевода в переднем отделе тела (ротовая часть личинки заострена и покрыта тёмным слоем хитина). Для этого прижмите одной иглой ротовую часть личинки, а другой надавите на середину тела, оттягивая задний конец личинки. Скользящим движением резко отделите две части друг от друга (рис. 10.6). При этом слюнные железы, как правило, вычлениются вместе с головным отделом и жировыми телами. Если сделать это не удалось, значит, слюнные железы остались в переднем отделе. В этом случае осторожно иглой выдавите содержимое передних сегментов тела.
5. Препарат поместите на предметный столик бинокулярной лупы или стереомикроскопа и при малом увеличении найдите слюнные железы (в крайнем случае можно обойтись и без увеличительных приборов).

Рис. 10.6. Личинка дрозофилы: 1 — район наложения первой препаровальной иглы; 2 — район наложения второй иглы; 3 — ротовое отверстие; 4 — слюнные железы; 5 — переднее дыхальце; 6 — заднее дыхальце



Их клетки с крупными ядрами можно увидеть даже на неокрашенном препарате.

6. Освободите железы от других тканей с помощью препаровальных игл. На предметное стекло (желательно стекло с лункой) нанесите несколько капель ацетокармина и с помощью препаровальной иглы перенесите железы в краситель. Для того чтобы уксусная кислота из красителя не испарилась, стекло поместите в закрытую чашку Петри.

7. Окрашивайте железы в течение 15–30 минут. Если возможно, поместите их на это время в термостат при температуре 37 °С.

8. После окрашивания несколько раз промойте железы для удаления излишка красителя. Для этого на чистое предметное стекло пипеткой нанесите каплю 45%-й уксусной кислоты и перенесите в неё железы с помощью препаровальной иглы. Удаляйте каплю кислоты с помощью фильтровальной бумаги и заменяйте свежей каплей.

9. Чтобы рассмотреть хромосомы, нужно добиться того, чтобы они вышли за пределы ядра и расправились. Для этого накройте микропрепарат покровным стеклом и сверху на стекло положите полоску фильтровальной бумаги. Двумя пальцами левой руки придержите покровное стекло, чтобы оно не скользило по предметному (иначе клеточные структуры будут смяты), а большим пальцем правой руки надавите на препарат (направление силы должно быть перпендикулярно объекту). Важно не допустить сдвига покровного стекла!

10. Уберите фильтровальную бумагу и поместите микропрепарат на предметный столик микроскопа.

Часть 2. Методика изучения политенных хромосом

Оборудование и материалы: постоянные или временные микропрепараты политенных хромосом, микроскоп, рабочая тетрадь.

Ход работы

1. Подготовьте микроскоп для работы и рассмотрите микропрепарат при увеличении 4 × 10.
2. Найдите место, где хромосомы хорошо распределены и чётко виден окрашенный узел — хромосомный центр, соединяющий центромеры всех хромосом.
3. Выполните схематичный рисунок «Клетка слюнной железы с политенными хромосомами». Обратите внимание на хромосомы ядра: их число,

форму районов с эухроматином и гетерохроматином. Укажите под рисунком число политенных хромосом в клетках личинок данного вида, а также число хромосом в диплоидном наборе.

Обратите внимание

В клетках слюнных желёз дрозофилы или комара-звонца видны ядра с гигантскими политенными хромосомами и прозрачной кариоплазмой. У дрозофилы четыре хромосомы, что соответствует гаплоидному набору. Длина хромосом различна, они часто переплетены между собой и образуют клубок. Хромосомы имеют вид лент со вздутиями и поперечной исчерченностью в виде тёмных (гетерохроматиновых) и светлых (эухроматиновых) дисков (хромомеров) разной формы и величины.

4. Рассмотрите участки отдельных хромосом при увеличении 10 × 10 и 40 × 10. Обратите внимание на расположение и величину дисков, на пуфы, кольца Бальбиани, ядрышко, район ядрышкового организатора (он хорошо заметен у субметацентрической четвёртой хромосомы — самой маленькой). Сравните картину поперечной исчерченности, создаваемую чередованием разных дисков у отдельных хромосом.

5. Выполните схематичный рисунок «Участок отдельной политенной хромосомы». На рисунке обозначьте хромосомный центр, гетерохроматиновые и эухроматиновые участки, пуф, кольцо Бальбиани.

6. Выполните схематичный рисунок «Короткая политенная хромосома». У дрозофилы это хромосома IV. На рисунке обозначьте хромосомный центр, район ядрышкового организатора.

7. Внесите в таблицу результатов работы данные о функциях обозначенных вами структур.

Оформление результатов

По результатам работы выполните в тетради три рисунка и заполните таблицу.

Функции структур политенных хромосом

Структуры	Функции
Хромосомный центр	
Гетерохроматиновые диски	
Эухроматиновые диски	
Пуф	
Кольцо Бальбиани	
Ядрышкового организатора	

Выводы

Сделайте самостоятельно выводы.

Модуль 10. Практические и лабораторные работы

- ▶ **Лабораторная работа № 10.** Знакомство с лабораторным оборудованием школьной генетической лаборатории. Изучение техники безопасности, правил работы с биологическим материалом, знакомство с лабораторным оборудованием, необходимым для выделения, амплификации и детекции ДНК.
- ▶ **Лабораторная работа № 11.** Получение препарата очищенной ДНК из тканей растений. Ознакомление с методикой выделения и очистки ДНК с использованием современного лабораторного оборудования.
- ▶ **Лабораторная работа № 12.** Выделение ДНК из пищевых продуктов. Получение препарата очищенной ДНК из пищевых продуктов.
- ▶ **Лабораторная работа № 13.** Получение плазмидной ДНК из клеток бактерий. Получение препарата плазмидной ДНК бактерий, пригодной для электрофоретического анализа.
- ▶ **Лабораторная работа № 14.** Амплификация ДНК методом полимеразной цепной реакции. Ознакомление с этапами амплификации и методикой проведения ПЦР.
- ▶ **Лабораторная работа № 15.** Постановка электрофореза ДНК в агарозном геле. Изучение метода электрофореза нуклеиновых кислот в агарозном геле.

Лабораторная работа 15

290

Модуль 10

Оборудование: электрофорезная камера, заливочный столик с рамкой, источник питания «Эльф-4», ультрафиолетовый светильник с фильтром, излучающий свет определённой длины волны, подставка для светильника, электрическая плита, автоматический дозатор (пипетка) объёмом 5–10 мкл, колба коническая без шлифа, весы, кристаллизатор, мерный цилиндр объёмом 50 мл, электрический аквадистиллятор, защитные очки.

Материалы и реактивы: набор материалов и реактивов (TBE или TAE) для определения ДНК, маркеры длины ДНК — GeneRuler 100bp (100–1000 п. н.) «Линейка», краситель нуклеиновых кислот в геле SYBR Green I. Реактивы для электрофореза следует хранить в морозильной камере.

Ход работы

Приготовление 1,8%-го агарозного геля

1. Стабилизируйте горизонтально подставку для камеры электрофореза. Зажмите винты подставки камеры.
2. Установите гребёнки относительно анода в предпоследние пазы.
3. Сделайте навеску 3,6 г агарозы и растворите её в 200 мл дистиллята (рис. 10.11). Для взвешивания удобно использовать электронные весы.
4. Перемешайте полученный раствор и нагрейте его на плитке до закипания и прозрачности (рис. 10.12). Следите за тем, чтобы раствор не образовывал пены и не выливался из колбы.
5. Остудите раствор в кристаллизаторе для предотвращения деформации камеры электрофореза. Раствор должен стать тёплым настолько, чтобы колбу можно было прислонить к руке.
6. Добавьте 5 мкл красителя SYBR Green I и размешайте раствор.
7. Влейте раствор в ванну для электрофореза до середины гребёнки (рис. 10.13).
8. Подождите около 15 минут, пока гель застынет (рис. 10.14).

Постановка электрофореза

9. Приготовьте электродный буфер. Добавьте 20 мл TAE или TBE в 980 мл дистиллированной воды и перемешайте.
10. Залейте электродный буфер поверх застывшего геля до отметки на стенке ванны.
11. Удалите гребёнку, аккуратно раскачивая её (рис. 10.15). Раскачивание необходимо для того, чтобы не закрылись лунки, аккуратность — чтобы не повредить гель.
12. Внесите в одну из получившихся лунок с помощью дозатора 5 мкл маркеров длины ДНК «Линейка». В остальные лунки внесите по 5 мкл исследуемых образцов ДНК (рис. 10.16).



Обратите внимание

Образцы вносят в лунки под слоем буфера, поэтому манипуляцию нужно проводить крайне осторожно, чтобы не допустить перемешивания образца с буфером. Если произойдёт перемешивание, то линии фрагментов ДНК при визуализации результатов электрофореза окажутся смазанными и плохо интерпретируемыми.

Практические и лабораторные работы

291



Рис. 10.11. Взвешивание агарозы



Рис. 10.12. Нагревание раствора



Рис. 10.13. Вливание раствора в рамку



Рис. 10.14. Застывание геля



Рис. 10.15. Удаление гребёнки



Рис. 10.16. Забор образца ДНК

Таблицы

216

Модуль 8

Вопросы и задания для повторения и обсуждения

1. Расширьте приведённые на рисунках родословные так, чтобы это соответствовало характеру наследования заболевания.
2. Почему распространённость носителей X-сцепленных заболеваний значительно ниже, чем аутосомно-рецессивных?
3. Во сколько раз ниже вероятность рождения ребёнка с аутосомно-рецессивным заболеванием, если в брак вступают троюродные, а не двоюродные брат и сестра?

Работа с текстом, рисунками, таблицами

1. Составьте таблицу для сравнения аутосомно-рецессивных и аутосомно-доминантных заболеваний. Критерии сравнения выберите самостоятельно.
2. Для каждого пункта параграфа сформулируйте основную мысль в одном-двух предложениях.
3. Создайте рисунок, иллюстрирующий увеличение частоты мутантного аллеля под действием «эффекта основателя».

§ 8.4. Генные болезни

Рецессивные заболевания

Рецессивная мутация обычно означает потерю функции гена. Поэтому многие болезни, которые наследуются как рецессивные, связаны с недостаточностью того или иного белка. У гетерозигот наряду с мутантным рецессивным аллелем есть нормальный доминантный аллель, который берёт на себя выполнение необходимой функции, и болезнь не развивается. Заболевания могут быть аутосомно-рецессивные (фенилкетонурия, талассемии) и рецессивные, сцепленные с X-хромосомой (гемофилия А и В). Механизм возникновения заболевания наиболее хорошо изучен для различных ферментопатий (недостаточность ферментов) и болезней крови, таких как гемофилия и серповидно-клеточная анемия. Для ряда других болезней, например для миодистрофии Дюшенна, известен ген, в котором произошла мутация, но механизм детально неизвестен.

Фенилкетонурия возникает при повреждении гена, кодирующего фенилаланингидроксилазу — фермент, отвечающий за превращение фенилаланина в тирозин. У гомозигот по мутантному аллелю в организме накапливается избыток фенилаланина и побочного продукта его метаболизма — фенилпировиноградной кислоты, которая токсична для мозга и вызывает умственную отсталость в раннем возрасте. Фенилкетонурия — одна из не-

Генетика человека

217

многих наследственных болезней, которая легко поддаётся лечению. Для предотвращения накопления фенилаланина и токсичных продуктов его метаболизма достаточно снизить поступление фенилаланина с пищей, для чего назначают специальную диету, которая исключает, в частности, мясные, рыбные и молочные продукты (предупреждение «содержит фенилаланин» на некоторых газированных напитках адресовано именно больным фенилкетонурией). Поскольку фенилаланин — незаменимая аминокислота, полностью удалить его из пищи нельзя, но его поступление должно строго контролироваться. Ключевым условием успешного лечения является ранняя диагностика фенилкетонурии и своевременное назначение диеты. В России обследованию на фенилкетонурию подвергаются все новорождённые через несколько дней после рождения. Во взрослом возрасте поступление фенилаланина в организм становится менее опасным и уже не приводит к умственной отсталости.

Существует множество разнообразных *ферментопатий* и болезней с недостаточностью белков, приводящих к метаболическим нарушениям. Возможно накопление или повышенная продукция разных органических или неорганических соединений, в том числе промежуточных и побочных продуктов метаболизма. В отдельную группу среди них выделяют *лизосомные болезни накопления*, которые связаны с недостаточностью некоторых ферментов лизосом и приводят к накоплению в клетках различных трудновыводимых веществ: липидов, гликогена и др. Это опасные болезни, обычно поражающие печень, нервную и мышечную ткани. Некоторые ферментопатии и лизосомные болезни накопления приведены в таблицах 8.1 и 8.2.

Таблица 8.1

Лизосомные болезни накопления

Заболевание	Фермент	Накапливающиеся вещества	Симптомы
Болезнь Нимана—Пика	Лизосомальная сфингомиелиназа	Сфингомиелин	Поражения печени, селезёнки, нервной системы
Болезнь Помпе	α -1,4-глюкозидаза	Гликоген	Повреждение мышц и нейронов
Болезнь Тея—Сакса	Гексозоаминидаза А	Ганглиозиды (гликосфинголипиды)	Неврологические нарушения, атрофия мышц
Болезнь Гоше	β -глюкоцереброзидаза	Глюкозилцерамид	Существуют разные формы, возможна анемия или неврологические нарушения



Графики

140

Модуль 5

ный из единичных молекул. Таким образом, ПЦР — это крайне чувствительная реакция, позволяющая накапливать значительные количества необходимого продукта в чистом виде.

Вопросы и задания для повторения и обсуждения

1. Сколько ДНК можно получить из одной молекулы размером 1000 п. н. за 60 циклов ПЦР; за 100 циклов ПЦР? Считайте, что количество праймеров и реактивов неограниченно.
2. Предположим, что у пары праймеров, взятых для ПЦР, комплементарны 3'-концы на протяжении 10 нуклеотидов. Удастся ли провести ПЦР? Что произойдёт с праймерами? Что будет, если у праймеров комплементарны 5'-концы?
3. К чему приведёт попадание ДНК в реактивы для ПЦР?
4. Какой контрольный эксперимент (с использованием ПЦР) нужно поставить, чтобы убедиться, что реактивы не загрязнены ДНК?
5. Предложите способ приготовления маркера длин для электрофореза с помощью ПЦР.

Работа с текстом, рисунками, таблицами

1. Наглядно проиллюстрируйте скорость накопления ДНК в процессе ПЦР.
2. Изобразите схему эксперимента, основанного на ПЦР: от выделения ДНК до наблюдения результата.
3. Разбейте параграф на смысловые единицы и озаглавьте их.
4. Предложите три темы для рефератов по материалу параграфа.

§ 5.6. Количественная полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Количественная ПЦР. Фиксировать результаты ПЦР можно с помощью электрофореза. Этого достаточно, если требуется качественный анализ — подтверждение наличия определённой последовательности ДНК. Однако современные модификации ПЦР предусматривают и количественный анализ. *Количественная ПЦР* позволяет определять изначальное количество матрицы, вступившей в реакцию.

В начале ПЦР происходит экспоненциальное увеличение количества ДНК в смеси (количество ДНК удваивается после каждого цикла), но при достижении высоких концентраций этот рост замедляется и постепенно реакция останавливается («выходит на плато»), концентрация ДНК больше не растёт (рис. 5.11). Если провести достаточно циклов ПЦР, то при любом исходном количестве матрицы будет накоплено примерно одинаковое ко-

Молекулярно-генетические методы

141

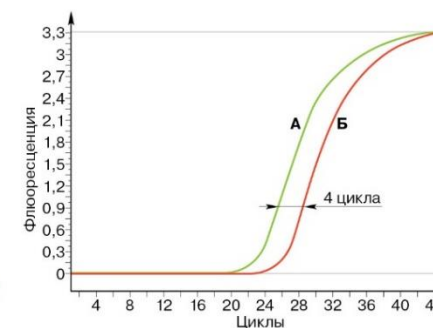


Рис. 5.11. График ПЦР в реальном времени

личество ДНК, которое определяется составом реакционной смеси, но не исходным количеством матрицы.

Таким образом, для точного измерения исходного количества матрицы недостаточно измерить концентрацию ДНК на выходе реакции — необходимо проводить измерение после каждого цикла в течение всей реакции — как говорят, в реальном времени. Термин «количественная ПЦР» обычно подразумевает именно этот метод (другие его названия: «ПЦР в реальном времени», «реал-тайм ПЦР»).

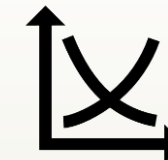
Наиболее удобный способ проведения таких измерений — использование красителей, флуоресцирующих при связывании с ДНК. Интенсивность флуоресцентного свечения пропорциональна количеству двухцепочечной ДНК в образце. Существуют приборы (амплификаторы с детекцией в режиме реального времени), которые дают возможность автоматически регистрировать флуоресцентный сигнал в течение всей реакции. Это позволяет построить для каждого образца график, аналогичный изображённому на рисунке 5.11.

Вычислить исходное количество матрицы можно на основе сравнений графиков опытного и контрольного образцов на экспоненциальном участке. Для этого сравнивают положение кривых двух образцов относительно оси абсцисс, где отложен номер цикла (см. рис. 5.11).

Если в контрольном образце известна концентрация ДНК, то рассуждают следующим образом: «Мы знаем, что образец А сдвинут на два цикла влево относительно образца Б, который содержал 1 пг¹ матрицы, значит, образец А содержит 16 пг матрицы (4 цикла — это 2⁴ = 16)».

Однако чаще всего количество — это безразмерная величина, вычисленная относительно одного из образцов. В этом случае результат будет описан так: «Мы знаем, что образец А сдвинут на два цикла влево относительно

¹ Пикограмм — 10⁻¹² г.



Манипуляции, которые не относятся к генной инженерии

1. Искусственные изменения генетического материала с помощью ненаправленного мутагенеза (химического или радиационного).

2. Целенаправленное получение определённого генотипа методами гибридизации и отбора (практически всегда необходимо в случае генной инженерии на многоклеточных организмах для получения чистых трансгенных линий, но само по себе генной инженерией не является).

Таким образом, генная инженерия всегда предполагает работу непосредственно с нуклеиновыми кислотами.

Области использования генной инженерии

Генная инженерия является важным инструментом для фундаментальных исследований в области наук о жизни, а также в области применения этих наук в народном хозяйстве и находит применение в различных отраслях.

1. **Фундаментальная наука:** искусственное повышение экспрессии генов или, наоборот, подавление работы генов для выяснения их функции, внедрение в живые организмы белковых «сенсоров», позволяющих судить о процессах, происходящих внутри клетки, и многое другое.

2. **Медицина:** производство лекарств (в первую очередь пептидных гормонов, таких как инсулин), генотерапия (разработаны относительно надёжные методы лечения некоторых врождённых иммунодефицитов).

3. **Биотехнология:** получение штаммов микроорганизмов, способных эффективно продуцировать вещества, необходимые для производства в промышленном масштабе (например, лимонная кислота, этиловый спирт, аминокислоты и т. д.).

4. **Сельское хозяйство:** получение новых сортов растений и пород животных. Например, созданы трансгенные растения (в частности, кукуруза и хлопчатник), содержащие бактериальный ген *Cry1Ac*. Он кодирует белковый токсин, который делает растение устойчивым к насекомым-вредителям.

Отдельные направления биотехнологии и генной инженерии вызывают опасения, которые часто возникают в отношении новых и непонятных явлений. Наиболее оживлённые дискуссии возникают в связи с генетически модифицированными организмами (ГМО) и клонированием млекопитающих. Несмотря на то что результат искусственного мутагенеза и даже традиционных методов селекции может быть не вполне предсказуем и порой даже опасен для объекта¹, «картофель с геном скорпиона» возбуждает фантазию сильнее, чем «картофель, обработанный колхицином» и тем более «картофель, отобранный на устойчивость к вредителям». В отличие от СМИ, в научной среде опасения вызывает в первую очередь возможность передачи

¹ Например, у некоторых пород собак, которые давно выведены традиционными методами, встречается тяжёлое наследственное заболевание — атрофия сетчатки.

генов устойчивости к пестицидам от генетически модифицированных культур к родственным дикорастущим сорнякам. В то же время некоторые возможные технологии, такие как клонирование человека, вступают в противоречие с этикой. Вследствие этого некоторые направления исследований и практического применения генной инженерии и биотехнологии регулируются законодательно, например, вводится строгий контроль в отношении использования ГМО в сельском хозяйстве или запрет на клонирование человека.

Вопросы и задания для повторения и обсуждения

1. Подумайте, для каких целей вы хотели бы применить генную инженерию. Обсудите с товарищами, насколько это реалистично.
2. Какие методы получения организмов с необходимым генотипом вы знаете? Каковы преимущества генной инженерии перед этими методами?
3. Объясните человеку, незнакомому с биологией, различие между генной инженерией и межвидовой гибридизацией.
4. Используя дополнительную литературу и ресурсы сети Интернет, найдите примеры наследственных заболеваний у разных пород домашних или сельскохозяйственных животных.
5. Подумайте, что случится с трансгенной мышью, продуцирующей в большом количестве человеческий инсулин. Каким образом можно решить эту проблему? Какое животное лучше, чем мышь, подойдёт для решения этой задачи?

Работа с текстом, рисунками, таблицами

1. Составьте графическую схему, иллюстрирующую области применения генной инженерии.
2. Сформулируйте три-четыре вопроса, которые вы хотите задать по рисунку 7.1, и запишите их. По ходу дальнейшего освоения модуля отметьте те вопросы, на которые вы получили ответ.
3. Найдите в тексте параграфа термины, специфичные для генной инженерии.
4. Выберите критерии и составьте таблицу для сравнения традиционных методов селекции и методов генной инженерии.

§ 7.2. Получение рекомбинантных ДНК

Основные инструменты генной инженерии — это разнообразие ферменты. Абсолютно необходимыми являются эндонуклеазы рестрикции (рестриктазы) и лигазы.

Рестриктазы — ферменты, разрезающие две цепи ДНК в определённом месте (сайте). Известно множество рестриктаз, каждая из которых узнаёт



Методическое пособие

(автор Е.М. Кондратьева)

Содержание

1. Целевой раздел примерной образовательной программы учебного курса «Биология. Генетика» (углублённый уровень) предметной области «Естественные науки» для 10–11 классов образовательных организаций, реализующих программы среднего общего образования

1.1. Пояснительная записка

1.2. Общая характеристика учебного курса

1.3. Цели и задачи учебного курса

1.4. Планируемые результаты обучения (личностные, метапредметные, предметные)

1.5. Рекомендации по системе оценки достижения планируемых результатов освоения Программы

2. Содержательный раздел примерной образовательной программы учебного курса «Биология. Генетика» (углублённый уровень) предметной области «Естественные науки» для 10–11 классов образовательных организаций, реализующих программы среднего общего образования

2.1. Содержание учебного курса

2.2. Примерное тематическое планирование

3. Организационный раздел примерной образовательной программы учебного курса «Биология. Генетика» (углублённый уровень) предметной области «Естественные науки» для 10–11 классов образовательных организаций, реализующих программы среднего общего образования

3.1. Место учебного курса в учебном плане

3.2. Учебно-методическое и информационное обеспечение

4. Методические рекомендации к модулям

1.2. Общая характеристика учебного курса

Содержание учебного курса разработано на принципах непрерывности и преемственности школьного биологического образования, его интеграции на основе внутрипредметных и межпредметных связей.

Примерное распределение учебных часов по тематическим модулям и рекомендуемая последовательность изучения тем учебного курса «Генетика. 10—11 классы» не ограничивают возможности образовательной организации при определении места курса в учебном плане.

Основные модули программы	Количество часов
Модуль 1. Нуклеиновые кислоты — основа наследственности	3
Модуль 2. Локализация наследственной информации	4
Модуль 3. Реализация наследственной информации	7
Модуль 4. Генетика развития	6
Модуль 5. Молекулярно-генетические методы	7
Модуль 6. Секвенирование нового поколения	4
Модуль 7. Генная инженерия	7
Модуль 8. Генетика человека	6
Модуль 9. Генетика спорта	3
Модуль 10. Практические и лабораторные работы	17
Резервное время	6



Группа компаний «Просвещение»

Адрес: 127473, г. Москва, ул. Краснопролетарская, д. 16, стр. 3, подъезд 8, бизнес-центр «Новослободский»

Горячая линия: vopros@prosv.ru