Методическое сопровождение лекции «Классические генетические тест-системы» во внеурочной деятельности по биологии

Н.В. Быковская, Н.В. Савченко, Т.А. Рейм

Дальневосточный федеральный университет. Филиал в г. Уссурийске (Школа педагогики)

Обсуждаются генетические тест-системы с точки зрения преподавания во внеурочной деятельности по биологии.

Ключевые слова: мутация, генетическая тест-система, мутагенез.

Проблема контроля мутагенеза не теряет своей актуальности и требует ознакомления с методами выявления мутаций в разделе «Общая биология» на базе уже полученных знаний.

Нашей целью была разработка лекции по изучению методов обнаружения и учёта летальных мутаций на дрозофиле для использования во внеурочной деятельности по биологии в рамках работы инновационной площадки МБОУ СОШ № 11 г. Уссурийска.

По теме «Классические генетические тест-системы» разработана лекция-беседа с элементами визуализации – презентация по теме лекции. Цель лекции – привлечение обучающихся к изучению генетики.

Вопросы к лекции-беседе:

1. Что такое мутагенез?
2. Назовите примеры вредных и полезных мутаций.
3. Какие примеры летальных мутаций вы знаете?
4. Какие факторы могут вызывать появление мутаций?
5. Что вы знаете о выявлении мутаций и наблюдении за мутационным процессом?

План лекции:

1. Понятие о генетических тест-системах;
2. Метод CIB;
3. Метод Мёллер-5;
4. Метод сбалансированных летелей CyL/Pm.

По первому пункту плана обсуждаем генетические тест-системы. Определение мутационной активности различных факторов проводится на экспериментальных организмах – бактериях, дрозофиле, мышах и других. Изучение мутаций, индуцированных мутагеном, у этих модельных организмов получило название генетических тест-систем. К настоящему времени предложено более 200 тест-систем: бактерии – *Salmonella typhimurium* и *E. coli*; грибы – *Neurospora crassa*, *Aspergillus nidulans*; дрожжи; растения – *Vicia faba*, *Crepis capillaris*, *Tradescantia paludosa*; насекомые – *Drosophila melanogaster*, *Habrobracon juglandis*, *Bombyx mori*; культуры клеток – человека, китайского хомячка, мышинной лимфомы; интактные млекопитающие – мышь, крыса.

К классическим генетическим тест-системам относятся методы обнаружения и учёта летальных мутаций на дрозофиле (Лобашев, 1967; Ватти, Тихомирова, 1979; Дубинин, 1985; Шварцман, 1986; Кайданов, 1996). Наиболее объективно можно учитывать рецессивные летальные мутации, приводящие в гомозиготном состоянии к смерти несущих их особей. Для учёта таких мутаций в половой хромосоме дрозофилы используются метод CIB и метод

Мёллер-5.

По второму пункту плана обсуждаем метод CIB.

Для учёта рецессивных летальных мутаций в половой хромосоме дрозофилы Г. Мёллером была разработана методика CIB, схема которой приведена на рис. 1.

Рис. 1. Метод CIB - метод обнаружения рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций у дрозофилы (по: Лобашёв, 1967)

Генетическая структура линии **CIB** характеризуется тем, что одна из X-хромосом самки маркирована доминантным геном **Bar** (полосковидные глаза). В этой же хромосоме имеется инверсия, обозначенная буквой **C**. Эта инверсия препятствует кроссинговеру и обладает рецессивным летальным эффектом **I**, т.е. зиготы, несущие две такие X-хромосомы, погибают. Этими тремя начальными буквами (**CIB**) обозначена линия-анализатор на летальные мутации в половых хромосомах дрозофилы.

В случае если в одном из спермиев анализируемого самца в X-хромосоме возникает летальная мутация, то при оплодотворении таким спермием яйцеклетки с X – CIB – хромосомой развивается гетерозиготная по данной летали самка. В F₁, будут встречаться самки двух типов: с нормальными (круглыми) и с полосковидными глазами (**Bar**). Каждая из этих самок несет по одной X-хромосоме отца. Самцы, несущие хромосому **CIB**, не развиваются, так как у них леталь находится в гемизиготном состоянии. Поэтому самцы в F₁ встречаются только с нормальными глазами. Для дальнейшего анализа самок F₁ с геном **Bar** скрещивают индивидуально с нормальными самцами (каждая пара в отдельной пробирке).

Если самка F₁ получила X-хромосому анализирующего самца с летальной мутацией и, следовательно, стала гетерозиготной по ней, то в потомстве F₂ такой самки не появится самцов, так как все они погибнут. В результате расщепление по полу в такой культуре оказывается в отношении 2♀:0♂, (причём половина самок с нормальными глазами, а половина – с полосковидными). Очевидно, что число исследованных на обнаружение летальных мутаций самок **CIB** из F₁ – дочерей одного анализирующего самца будет соответствовать числу исследованных X-хромосом в его сперматозоидах.

Хотя эта методика и очень удобна для количественного учёта возникающих летальных

мутаций, но у самок F_1 между половыми хромосомами иногда может происходить двойной перекрёст, что приводит к снижению истинной частоты летальных мутаций (Лобашёв, 1967).

По третьему пункту плана обсуждаем метод Мёллер-5.

В настоящее время для анализа частоты возникновения летальных мутаций в X-хромосоме самцов применяется методика Мёллер-5 или М-5 (рис. 2).

В этой методике применяется линия-тестор М-5. Преимущество такой линии-тестора заключается в том, что обе X-хромосомы самки содержат по две инверсии, не связанные с летальным действием. Эти инверсии более надёжно, чем в случае **CIB**, «запирают» кроссинговер. Линия-тестор имеет X-хромосомы, маркированные тремя генами: **B** (**Bar**) - полосковидные глаза, **w^a** (**white apricot**) – абрикосового цвета глаза, **sc** (**scute**) – бесщетинковые. Самцы в этой линии жизнеспособны.

При анализе самца дикого типа методом М-5 мы получаем в F_2 по два фенотипических класса самок и самцов.

Рис. 2. Метод Мёллер-5 - метод обнаружения рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций у дрозофилы (по: Ватти, Тихомирова, 1979)

Если в анализирующей X-хромосоме исследуемого самца возникла летальная мутация, то в F_2 будут самцы одного фенотипического класса: **sc, B, w^a**, а самцы дикого типа не появятся. При этом каждая индивидуальная культура F_2 , являющаяся потомством только одной самки F_1 , соответствует одной исследованной X-хромосоме самца P (Лобашёв, 1967).

По четвёртому пункту плана обсуждаем метод сбалансированных летелей CyL/Pm.

Для учёта летальных мутаций во второй паре аутосом дрозофилы используется метод сбалансированных летелей **CyL/Pm**.

В этом случае учёт возникающих рецессивных летальных мутаций производится в F_3 . Для проявления летальной рецессивной мутации в аутосоме необходимо, чтобы мутация оказалась в обеих испытываемых хромосомах, т.е. в гомозиготном состоянии. Обычно для этой цели у дрозофилы используют специальную линию, позволяющую учитывать летальные мутации во второй паре аутосом (рис. 3).

Рис. 3. Метод сбалансированных леталей CyL/Pm — метод обнаружения летальных мутаций в аутосомах дрозофилы (по Лобашёву, 1967)

В этой линии мух одна из хромосом содержит две большие инверсии — по одной в каждом плече, доминантные гены **Cy** (**Curly** — загнутые крылья) и **L** (**Lobe** — маленькие глаза), каждый из которых в гомозиготном состоянии вызывает летальный эффект; гомологичная хромосома, также содержащая инверсию, маркирована геном **Pm** (**Plum** — коричневатосливовые глаза). Этот метод обнаружения мутаций называют методом **CyL/Pm**.

Испытуемого самца скрещивают с самкой из линии **CyL/Pm**. В F_1 все мухи **CyL** являются гетерозиготными по той или другой гомологичной хромосоме II анализируемого самца. Из F_1 выбирают самцов **CyL**, поскольку у них кроссинговер не идёт. Каждого такого самца, несущего по одной анализируемой хромосоме, индивидуально скрещивают с самкой исходной линии **CyL/Pm**. В F_2 половина мух (самцов и самок) в каждой культуре оказывается гетерозиготной по одной и той же анализируемой хромосоме. Фенотипически у этих мух проявляются только гены **Cy** и **L**. Таких самок и самцов скрещивают между собой. В случае отсутствия летальной мутации в анализируемой хромосоме происходит расщепление в отношении $2CyL:1Cy^+L^+$. Данное отношение возникает в силу того, что гомозиготные мухи **CyL** не выживают. Если в анализируемой хромосоме имеется леталь, то в культуре F_3 будут мухи одного фенотипа — **CyL**, а нормальные по фенотипу будут погибать из-за гомозиготного состояния рецессивной летальной мутации. Таким методом можно учитывать частоту рецессивных летальных мутаций во второй хромосоме дрозофилы (Лобашёв, 1967). Метод Мёллер-5 и метод CyL/Pm пригодны для оценки как индуцированных, так и спонтанно возникших мутаций.

Дидактические материалы:

Презентация по теме «Классические генетические тест-системы».

Таблицы: Мутационная изменчивость растений и животных; Методы СІВ и Мёллер-5;

Повреждение ДНК при облучении (метод сбалансированных леталей CyL/Pm).

Внедрение разработанной лекции во внеурочную деятельность по биологии способствует расширению у обучающихся представлений о мутациях, методах их учёта и обнаружения и привлечению учеников к изучению генетики и выполнению проектов по генетике.

Литература

- Ватти К.В., Тихомирова М.М.* Руководство к практическим занятиям по генетике. М.: Просвещение, 1979. 189 с.
- Дубинин Н.П.* Генетика. Кишинёв: Штиинца, 1985. 536 с.
- Кайданов Л.З.* Генетика популяций. М.: Высш.шк., 1996. 320 с.
- Лобашёв М.Е.* Генетика. Л.: Изд-во ЛГУ, 1967. 751 с.
- Шварцман П.Я.* Химический мутагенез у *Drosophila melanogaster* и пути его модификации. Автореф.дисс. ...док.биол.наук. Л., 1986. 43 с.

Methodological support of the lecture «Classic genetic test-systems» in extracurricular activities in biology

N.V. Bykovskaya, N.V. Savchenko, T.A. Reim

Far Eastern Federal University. Branch in Ussuriysk city (School of pedagogics)

Genetic test-systems are discussed in terms of teaching in the extracurricular activities in biology.

Keywords: mutation, genetic test-system, mutagenesis.

Сведения об авторах:

Быковская Наталья Владимировна – к.б.н., доцент кафедры естественнонаучного образования филиала ДВФУ в г. Уссурийске (Школы педагогики). 692500, Приморский край, г. Уссурийск, ул. Некрасова, 35. E-mail: bykovskaya_1968@mail.ru.

Савченко Наталия Валерьевна – студентка бакалавриата, кафедра естественнонаучного образования, Дальневосточный федеральный университет, филиал в г. Уссурийске (Школа педагогики). 692500, Приморский край, г. Уссурийск, ул. Некрасова, 35; e-mail: natasha.savchenko.1997@bk.ru.

Рейм Татьяна Андреевна – студентка бакалавриата, кафедра естественнонаучного образования, Дальневосточный федеральный университет, филиал в г. Уссурийске (Школа педагогики). 692500, Приморский край, г. Уссурийск, ул. Некрасова, 35; e-mail: tanya2498@bk.ru.