

Методы изучения живой
природы. Л.р. № 1
«Использование различных
методов при изучении
биологических объектов»

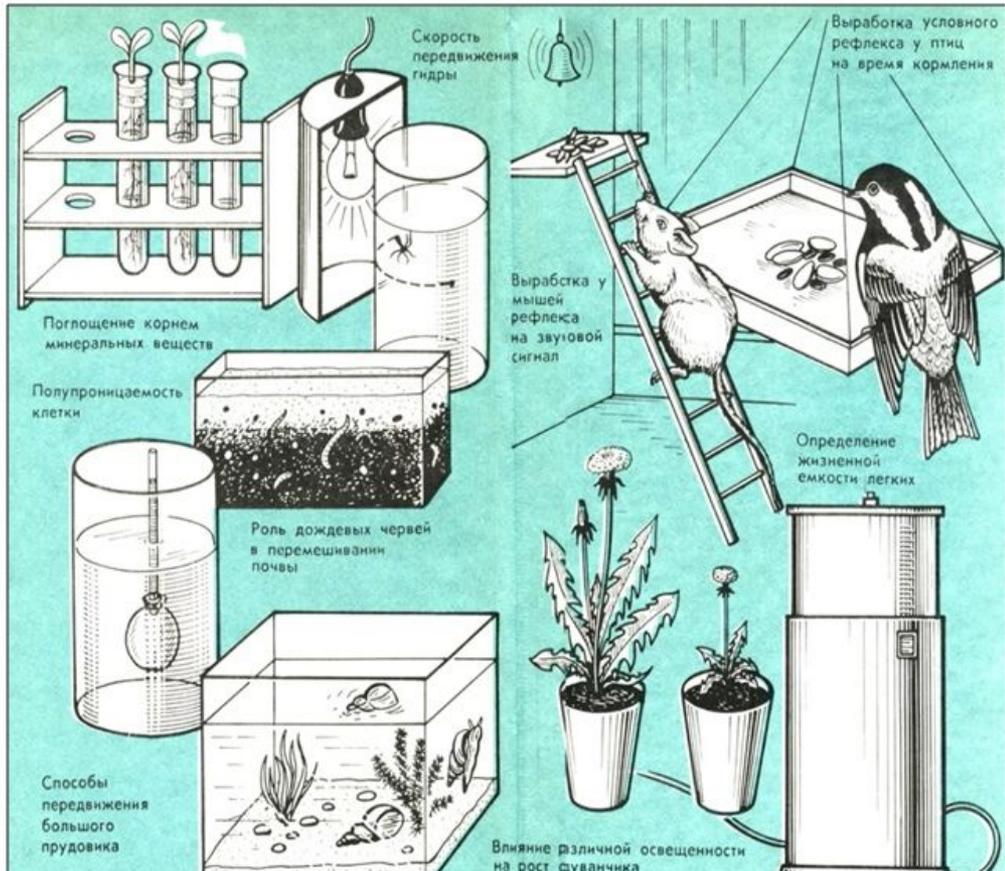
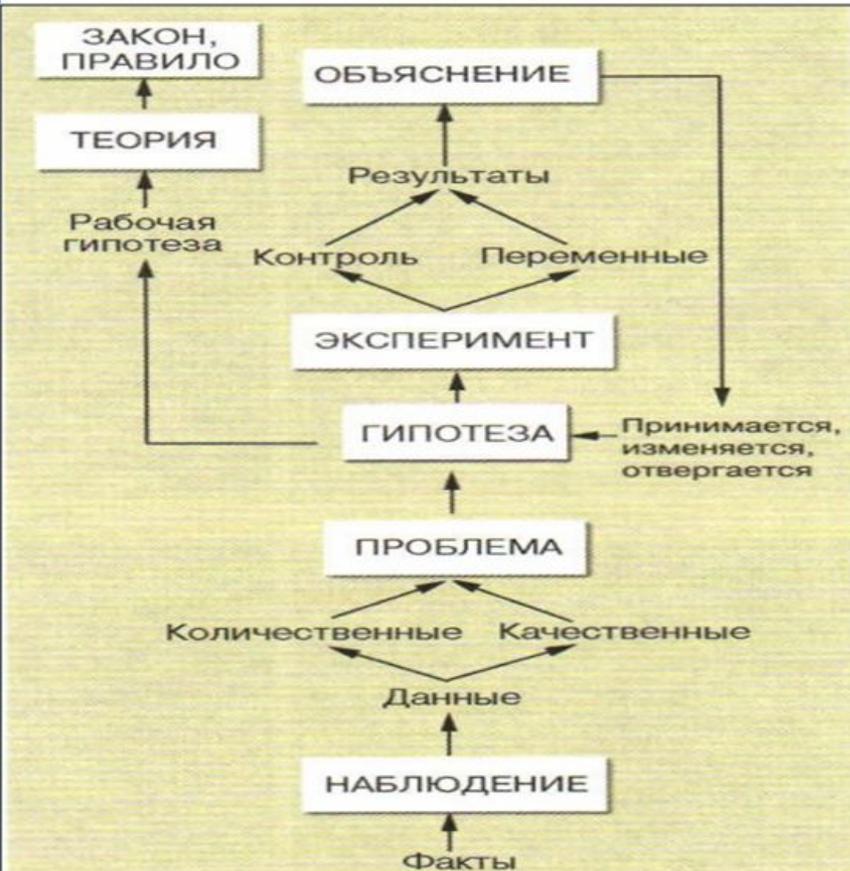
Домашнее задание

Выучить материал введения стр.4-9. Уметь определять
методы и уровни организации жизни по их примерам
(тренировка на сайте Решу ЕГЭ)

Ознакомиться с видео-материалами

<https://www.youtube.com/watch?v=NFQ85Mfp118&t=2005s>

СХЕМА НАУЧНОГО ПОЗНАНИЯ



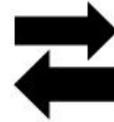
МЕТОДЫ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ
(ЛОГИЧЕСКИЕ)**

**ОСНОВАНЫ НА
«РАБОТЕ МЫСЛИ»:**
АНАЛИЗ
СРАВНЕНИЕ
ОБОБЩЕНИЕ
КЛАССИФИКАЦИЯ
АБСТРАГИРОВАНИЕ
ПРОГНОЗИРОВАНИЕ
МОДЕЛИРОВАНИЕ

**ПРАКТИЧЕСКИЕ
(ЭМПИРИЧЕСКИЕ)**

**ОСНОВАНЫ НА КОНКРЕТНЫХ
ПРАКТИЧЕСКИХ ДЕЙСТВИЯХ:**
ЭКСПЕРИМЕНТ,
НАБЛЮДЕНИЕ
ОПИСАНИЕ
ИЗМЕРЕНИЕ
СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА
АНКЕТИРОВАНИЕ
МОНИТОРИНГ И ДР.



МЕТОДЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ЭМПИРИЧЕСКИЕ

- Наблюдение
- Описание
- Измерение
- Эксперимент

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ

- Сравнение
- Классификация
- Анализ
- Синтез
- Обобщение
- Моделирование

**ЗНАТЬ: метод, определение, где
используется**



**По
Рохлову**

Методы изучения биологии

Общие		Частные
Эмпирические	Теоретические	
1. Наблюдение (рис.1)	1. Анализ	1. Микроскопия (световая, электронная)
2. Эксперимент (рис.2)	2. Синтез	2. Цитологический
3. Измерение	3. Сравнение	3. Центрифугирование (рис.3)
4. Мониторинг	4. Моделирование	4. Авторадиография (метод меченых атомов)
5. Описание	5. Исторический	5. Рентгеноструктурный анализ
		6. Хроматография (рис.4)
		7. Электрофорез
		8. Биохимический
		9. Цитогенетический
		10. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

№	Метод	Суть метода	Для чего применяют
ОБЩЕНАУЧНЫЕ МЕТОДЫ			
1	Наблюдение	Визуально или с помощью приборов следят за различными объектами для достижения поставленной цели.	Для получения новых знаний, сбора фактов для описания объекта. Изучают сезонные изменения в природе, в жизни растений и животных, поведение животных и т.д.
2	Описание	Устная или письменная характеристика объекта по результатам наблюдений	Получение и накопление информации об объектах, процессах
3	Сравнение	Сопоставление и нахождение сходств и различий между объектами (организмами, процессами и др.)	В систематике для распределения организмов по группам, для установления родства и общего происхождения.
4	Классификация	Распределение объектов по различным основаниям	Для упорядочивания имеющейся информации об объектах.
5	Анализ	Изучение объекта (процесса) по отдельным составляющим компонентам	Для получения полной характеристики объекта, процесса, для дальнейшего обобщения полученных результатов
6	Эксперимент	В специальных условиях (управляемых и контролируемых) проводится опыт. Обязательно есть опытная группа, есть контрольная группа.	Для получения новых научных знаний, закономерностей, для подтверждения или опровержения выдвигаемой гипотезы
7	Измерение	С использованием приборов, инструментов определяют какие-то количественные характеристики объекта, процесса	Для дальнейшего их анализа, сравнения, сопоставления, нахождения причинно-следственных связей, для проведения мониторинга
8	Моделирование	Создаются копии прототипа (объектов, процессов) для их изучения. Например, глобус – модель Земли, карта – модель ландшафта, можно создать модели молекул, организма, клетки.	Изучение объектов на моделях позволяет визуализировать невидимые объекты, изучать и прогнозировать изменения, позволяет отрабатывать умения и навыки, оно менее затратное.

9	Мониторинг	Проведение регулярных измерений каких-то величин объектов (процессов организмов, популяций, экосистем, биосферы)	Позволяет выявлять изменения каких-либо параметров, показателей во времени. Благодаря мониторингу своевременно можно выявить и принять меры по предупреждению негативных изменений в природе, в популяциях.
10	Статистический	Проводится сбор и анализ числовых показателей для дальнейшей обработки (в популяциях численность, количество особей с определенными признаками, заболеваниями)	Позволяет получать информацию о динамике изменения показателей, позволяет прогнозировать изменения и своевременно принимать определенные меры.

ЧАСТНОНАУЧНЫЕ МЕТОДЫ

МЕТОДЫ ЦИТОЛОГИИ И БИОХИМИИ

11	Световая микроскопия	Под световым микроскопом рассматриваются объекты (живые или на фиксированных препаратах) и процессы в живых клетках , пропуская через микропрепарат видимый свет	Для изучения строения клеток (формы, размеров, расположения ядра и хромосом, вакуолей, <u>клеточной стенки</u> , пластид, их количества). Для изучения процессов в живой клетке (митоз, мейоз, плазмолиз и др.)
12	Электронная микроскопия	Специально приготовленный неживой микропрепарат (химическим путем зафиксированный) рассматривается под электронным микроскопом (световой пучок заменяется электронным пучком).	Для визуального изучения тонкого строения органоидов клетки (рибосомы, ЭПС, лизосомы, митохондрии, <u>плазматическая мембрана</u> , микротрубочки, центриоли) и даже некоторых молекул.
13	Флуоресцентная микроскопия	Микропрепарат рассматривают через ультрафиолетовые лучи разной длины , которые окрашивают разные вещества в разные цвета.	Для определения содержания разных веществ в разных частях клетки, диагностирования заболеваний, для обнаружения патологий.

14	Центрифугирование	Пробирки с разрушенными клетками вращают под большой скоростью в центрифуге. Из-за разной массы и плотности органоидов клетки при вращении у них возникает разная центробежная скорость , поэтому в конце вращения органоиды в пробирке располагаются слоями .	Для выделения отдельных структур клетки в целях дальнейшего изучения их строения под электронным микроскопом. Более плотные, тяжелые части клетки (ядра) оказываются на дне пробирки, потом митохондрии (пластиды), лизосомы, рибосомы.
15	Цитохимический	Разными реактивами окрашивают препараты и изучают содержание разных веществ в разных клетках.	Для исследования химического состава клеток и тканей живых организмов, обнаружения патологий в тканях
16	Хроматография	Смесь проводят через неподвижное вещество (адсорбент) . Разные молекулы веществ в составе смеси имеют разную массу и скорость движения в адсорбенте, поэтому разделяются.	Для определения составляющих компонентов смеси, их количества. Для разделения светопоглощающих пигментов (хлорофиллов <i>a</i> и <i>b</i>) в растениях.
17	Метод меченых атомов (авторадиография)	В организм вводятся молекулы веществ, содержащие радиоактивные изотопы , дающие излучения. Приборами отслеживаются перемещения этих веществ в организме в ходе обмена веществ (пластического и энергетического), фотосинтеза у растений.	Для изучения участия разных молекул в обменных процессах, их количества, движения в организме, мест накопления, путей выведения, а также определения характера биохимических процессов
18	Рентгеноструктурный анализ	Через вещества пропускают рентгеновские лучи , которые рассеиваются и по характеру рассеивания (дифракции) лучей на экране можно узнать о пространственной структуре молекулы .	Для установления пространственной структуры молекул белков, ДНК и т.д.
19	Электрофорез в геле	Вещества проводят через гель, в котором есть электрическое поле . Отрицательно заряженные компоненты вещества начинают двигаться в сторону положительно заряженного электрода с разной скоростью и происходит их разделение	Для разделения составляющих компонентов вещества (белков, ДНК и др.), имеющих разные заряды.
МЕТОДЫ В ГЕНЕТИКЕ И ГЕНЕТИКЕ ЧЕЛОВЕКА			
20	Гибридизация	Проводится скрещивание родительских особей, отличающихся по признакам, затем результаты скрещивания подвергаются математическому анализу, отслеживается проявление родительских признаков у потомства.	Для установления закономерностей наследственности, характера наследования признака (доминантность, рецессивность, промежуточный характер наследования)

21	Секвенирование	Выделяют разные по длине фрагменты ДНК, отличающиеся концевыми нуклеотидами, окрашивают нуклеотиды разными красителями, пропуская через фрагменты лазерные лучи получают цветную «картину» о последовательности нуклеотидов.	Для определения последовательности нуклеотидов во фрагменте ДНК
22	Генеалогический	Составляются родословные , в которых отмечены определенным цветом родители и потомство, имеющие изучаемый признак или являющиеся носителями гена. Отслеживается передача исследуемого признака в поколениях и определяется вероятность проявления признака в будущих поколениях.	Для определения вероятности проявления наследственных заболеваний, типа наследования заболевания (признака) - доминантность или рецессивность, сцепленность с полом или аутосомность. Определения генотипов родителей и потомства .
23	Цитогенетический (Кариотипирование)	В клетках окрашиваются хромосомы в делящихся клетках на стадии метафазы и рассматриваются под световым микроскопом. Изучаемый кариотип сопоставляется с нормальным кариотипом .	Для изучения кариотипа (формы, количества и размеров хромосом у конкретных видов), для определения пола . Для предупреждения рождения детей с наследственными заболеваниями , вызванными изменениями в числе хромосом (геномные мутации) и в размерах хромосом (хромосомные мутации).
24	Близнецовый	Изучают однойцовых (монозиготных) близнецов и выявляют их различия в фенотипе.	Для выявления влияния условий среды на формирование фенотипа . Так как у монозигот генотип полностью одинаковый, все различия в фенотипических признаков объясняются только влиянием условий среды.
25	Популяционно-статистический	Проводится сбор и анализ числовых показателей в популяциях (численность, количество особей с определенными признаками, заболеваниями и т.д.)	Позволяет получать информацию о состоянии популяций, о распространении отдельных генов и о динамике изменения показателей, позволяет прогнозировать изменения и своевременно принимать определенные меры.

МЕТОДЫ В ЭКОЛОГИИ

26	Биоиндикация	Изучают численность и состояние видов-биоиндикаторов, по которым можно судить о степени загрязненности воздуха, воды, почвы.	Позволяют оценивать качество природной среды по численности и состоянию видов-биоиндикаторов . Например, по лишайникам- о чистоте воздуха, по моллюскам- о чистоте воды, по хвощам- о кислотности почвы.
27	Биологическая борьба с вредителями	Для борьбы с вредителями растений используют их естественных врагов, паразитов .	Для сохранения биоразнообразия экосистем, предотвращения загрязнения окружающей среды химическими веществами, избирательного уничтожения вредителей.
28	Экологический мониторинг	Проведение регулярных измерений проб воды, почвы, воздуха, температуры и т.д., численности особей в популяциях, биоразнообразия экосистем и т.д.	Позволяет выявлять изменения каких-либо параметров, показателей во времени. Благодаря мониторингу своевременно можно выявить и принять меры по предупреждению негативных изменений в природе, в популяциях, в биосфере

МЕТОДЫ В БИОТЕХНОЛОГИИ

29	<p>Клеточная инженерия</p>	<p>1. Метод культуры тканей (микрклональное размножение) -выращивание клеток растений на питательных средах и получение каллусных тканей вне организма.</p> <p>2. Метод гибридизации соматических клеток (скрещивание соматических клеток разных организмов, пересадка органоидов в другие клетки)</p> <p>3. Клонирование -получение клонов – копий организма, из которого берут ядро соматической клетки и пересаживают в безъядерную яйцеклетку и из эмбриона выращивают клоны.</p>	<p>1. Позволяет получать большое количество генетически однородный посадочный материал, сохранять и размножать редкие растения, размножать растения, трудно размножаемые традиционно.</p> <p>2. Позволяет получать цитогбриды с нужными признаками.</p> <p>3. Репродуктивное клонирование – применяется для получения большого количества потомства от выдающихся животных. (эмбрион разделяют на части, затем пересаживают в организм суррогатной матери и получают много потомства от одного животного). Терапевтическое клонирование применяется для получения из стволовых клеток эмбриона донорских органов для дальнейшей трансплантации их донору.</p>
30	<p>Генная инженерия</p>	<p>Метод рекомбинантных ДНК (выделяют нужный ген, пересаживают в ДНК другого организма и получают у данного организма желаемый признак). Часто пересаживают ген в плазмиды (маленькие кольцевые ДНК) бактерий.</p>	<p>Применяется для производства нужных человеку продуктов (антибиотиков, кормовых белков, витаминов, аминокислот) или для создания организмов с желаемыми для человека полезными признаками.</p>

Методы изучения биологии человека

Науки изучающие человека

АНАТОМИЯ - НАУКА - О СТРОЕНИИ

-  Методы изучения трупов
 - Рассечение
 - Мацерация
 - Препарирование
-  Методы изучения трупов и живых людей
 - Световая микроскопия
 - Электронная микроскопия
 - Рентген
-  Методы изучения живых людей
 - Рентген
 - УЗИ
 - МРТ
 - Эндоскопия
 - Биопсия (с последующей микроскопией)
 - Измерения
 - Соматоскопический
 - Соматометрический

ФИЗИОЛОГИЯ - НАУКА О ФУНКЦИЯХ

-  Наблюдения
 - Наблюдения за здоровыми людьми
 - Наблюдения за больными людьми
-  Лабораторные методы (кровь, слюна, кал, моча)
-  Инструментальные методы (кардиограмма, энцефалограмма)
-  Функциональные пробы (измерение пульса при дозированной нагрузке)

ГИГИЕНА - НАУКА О СОХРАНЕНИИ ЗДОРОВЬЯ

-  По способу исследования
 - Физические методы
 - Химические
 - Биологические
-  Наблюдения
 - Физиологические
 - Клинические



Схема. Изучи внимательно. Хотя мы это еще будем учить

ЭТАПЫ ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

1) ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ

постановка проблемы, определение цели, объекта и предмета исследования, его задач и гипотез

2) МЕТОДИЧЕСКИЙ

разработка методики исследования и его плана, программы, методов обработки полученных результатов

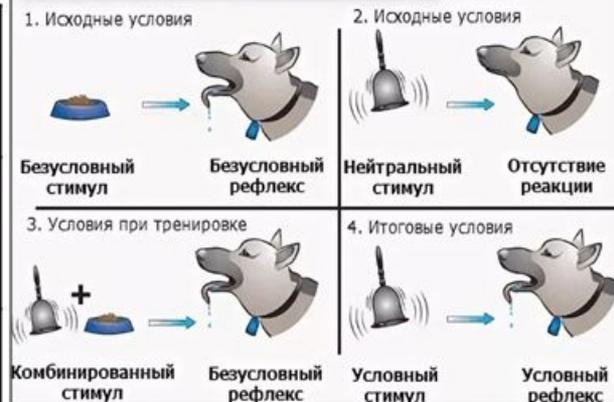
3) СОБСТВЕННО ЭКСПЕРИМЕНТ

проведение серии опытов (создание экспериментальных ситуаций, наблюдение, управление опытом и измерение реакций испытуемых)

4) АНАЛИТИЧЕСКИЙ

количественный и качественный анализ, интерпретация полученных фактов, формулирование выводов и практических рекомендаций

ОПЫТЫ И. П. ПАВЛОВА ПО ВЫРАБОТКЕ УСЛОВНЫХ РЕФЛЕКСОВ



КОНТРОЛИРУЕМЫЙ ЭКСПЕРИМЕНТ, НЕЗАВИСИМЫЕ И ЗАВИСИМЫЕ ПЕРЕМЕННЫЕ

Контролируемый эксперимент – это научный тест, который проводится в контролируемых условиях, то есть когда все факторы влияющие на результат контролируются.

При этом один (или несколько) факторов изменяются, в то время, как все остальные остаются постоянными. При проведении эксперимента обязательно есть контрольная группа и экспериментальная группа (группы).

Эксперимент по влиянию воды на прорастание семян



Совет для определения зависимой и независимой переменной:

1) Задаем вопрос: какие условия задал экспериментатор?

Эти условия и есть **независимые переменные.**

2) Задаем вопрос: что изменилось под действием заданных условий?

Это и есть **зависимые переменные**

Независимая переменная – это фактор, который выбирает или меняет сам экспериментатор и отличается между контрольной и экспериментальной группами (в данном случае количество воды). Она не зависит от того, что происходит в эксперименте, то есть количество воды не зависит от роста семян.

Зависимая переменная – это реакция, которая измеряется (доля проросших семян бобов). Она зависит от независимой переменной (количества воды), а не наоборот.

КОНТРОЛИРУЕМЫЙ ЭКСПЕРИМЕНТ, НЕЗАВИСИМЫЕ И ЗАВИСИМЫЕ ПЕРЕМЕННЫЕ ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ, НУЛЕВАЯ ГИПОТЕЗА

Контролируемый эксперимент – это научный тест, который проводится в контролируемых условиях, то есть когда все факторы влияющие на результат контролируются.

При этом один (или несколько) факторов изменяются, в то время, как все остальные остаются постоянными. При проведении эксперимента обязательно есть контрольная группа и экспериментальная группа (группы).

Независимая переменная – это фактор, который выбирает или меняет сам экспериментатор и отличается между контрольной и экспериментальной группами (в данном случае количество воды). Она не зависит от того, что происходит в эксперименте, то есть количество воды не зависит от роста семян.

Зависимая переменная – это реакция, которая измеряется (доля проросших семян бобов). Она зависит от независимой переменной (количества воды), а не наоборот.

Нулевая гипотеза – принимаемое по умолчанию предположение, что не существует связи между двумя наблюдаемыми событиями, феноменами (например, вода не влияет на прорастание семян)

ЭКСПЕРИМЕНТ ПО ВЛИЯНИЮ ВОДЫ НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН



Отрицательный контроль – это экспериментальный контроль, при котором изучаемый объект не подвергается экспериментальному воздействию. Он проводится для подтверждения отсутствия реакции на какой-либо фактор и дает отрицательный результат в конце эксперимента (одинаковое кол-во воды для полива, одинаковые горшки, одинаковая почва, одинакового размера семена одного растения)

ЭКСПЕРИМЕНТ

Эксперимент – это метод познания, в ходе которого человек создает разные воздействия на изучаемый объект или разные условия влияния на него и наблюдает результат.

Особенность: В процессе эксперимента выполняющий его или исследователь всегда активен, а при наблюдении – пассивен; в этом – существенное отличие данных методов

Гипотеза — это научно обоснованное предположение.

Независимая переменная – параметр, который задается экспериментатором

Представьте, что вы проводите эксперимент. Те параметры, которые изменяете вы, являются независимой переменной

Зависимая переменная – параметр, который меняется в ходе эксперимента.

Это те параметры, которые меняются из-за того, что вы меняете какие-либо условия, т.е. зависят от ваших условий

Нулевая гипотеза — принимаемое по умолчанию предположение о том, что **не существует связи** между двумя наблюдаемыми событиями, феноменами. Так, нулевая гипотеза считается **верной, пока нельзя доказать обратное**. Для обозначения нулевой гипотезы часто используют символ H_0 .

То есть при актуальности нулевой гипотезы если вы меняете какой-то параметр, то он не влияет на другой параметр, потому что они не взаимосвязаны.

Отрицательный контроль — это сопутствующие эксперименты, в которых **изучаемый объект не подвергается экспериментальному воздействию**. Это гарантирует, что положительный результат в основном эксперименте может быть обусловлен только изменением переменных.

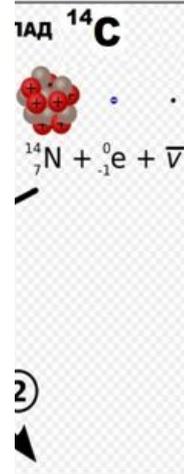
Альтернативная гипотеза — утверждение, **противоположное нулевой гипотезе**.



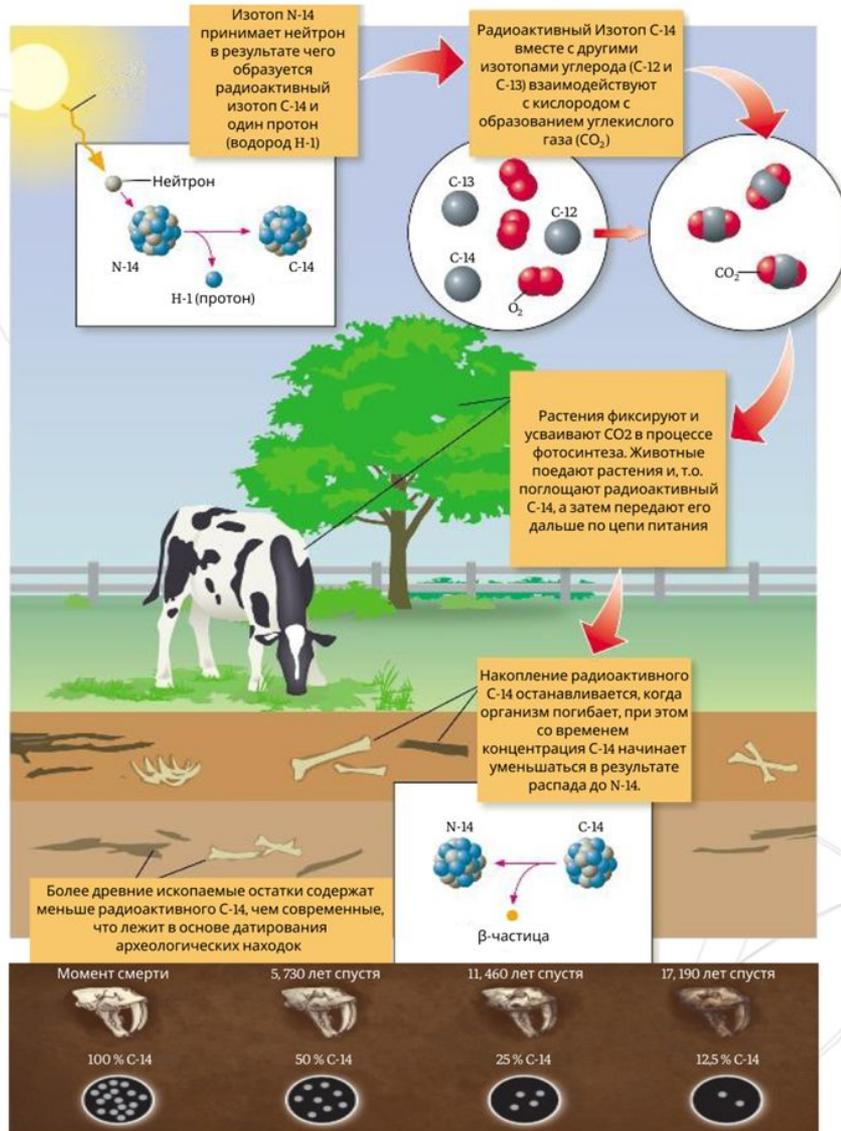
То есть надо независимую переменную (ту, которую меняет сам экспериментатор) теперь сделать постоянной.

МЕТОД РАДИОУГЛЕРОДНОГО ДАТИРОВАНИЯ (был на ЕГЭ 2021)

Метод основан на том, что живые организмы поглощают вместе с пищей и нерадиоактивный, и **радиоактивный углерод**, который постоянно **вырабатывается в атмосфере из-за воздействия космических лучей на атмосферный азот**. После гибели животного или растения обмен углеродом с окружающей средой прекращается, ^{14}C в останках постепенно распадается, и **по его остаточной удельной активности можно оценить время гибели организма**. Данный метод используют для определения возраста самых молодых ископаемых остатков (до 60 тыс. лет), так как период полураспада изотопа ^{14}C составляет 5,5-6 тыс. лет



Радиоуглеродное датирование



В чем суть радиоуглеродного датирования в палеонтологии? Для чего используют этот метод? Почему используют именно углерод?

Элементы ответа:

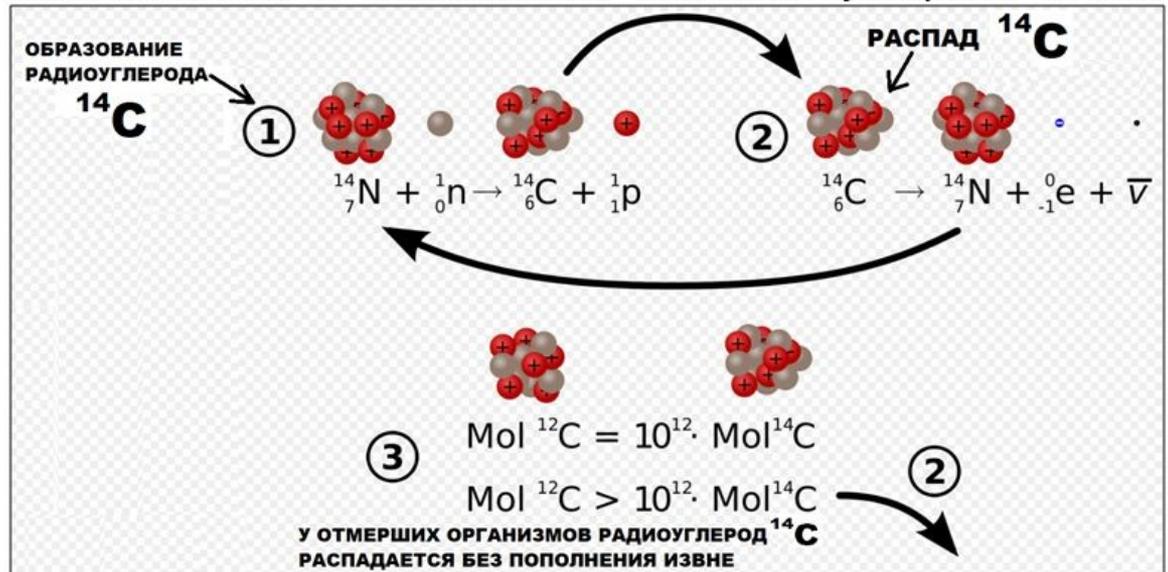
- 1) метод используется для определения возраста ископаемых остатков;
- 2) метод основан на радиоактивных свойствах одного из изотопов углерода;
- 3) в течении жизни организмы потребляют обычный и радиоактивный углерод;
- 4) со временем радиоактивный углерод распадается, а нерадиоактивный — нет;
- 5) по соотношению радиоактивного углерода и стабильного изотопа углерода можно определить возраст ископаемых остатков.



2021. 26. В чем суть радиоуглеродного датирования в палеонтологии? Для чего используют этот метод? Почему используют именно углерод?

Элементы ответа:

- 1) Метод применяется для определения возраста ископаемых остатков.
- 2) В основе метода лежит явление естественной радиоактивности одного из изотопов углерода
- 3) Радиоактивный углерод накапливается в течение жизни организма.
- 4) После смерти организма радиоактивный изотоп углерода распадается, (а нерадиоактивный нет).
- 5) По изменению соотношения радиоактивного и стабильного изотопов углерода можно определить возраст остатков



Важным методом палеонтологии является метод радиоуглеродного датирования. Для чего используется этот метод? Что лежит в его основе? Почему для датирования остатков и окаменелостей используется элемент углерод?

Содержание верного ответа и указания к оцениванию (допускаются иные формулировки ответа, не искажающие его смысла)	Баллы
<p>Элементы ответа:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) метод применяется для определения возраста ископаемых остатков; 2) в основе метода лежит явление естественной радиоактивности одного из изотопов углерода; 3) радиоактивный углерод накапливается в течение жизни организма; 4) после смерти организма радиоактивный изотоп углерода распадается (а нерадиоактивный нет); 5) по изменению соотношения радиоактивного и стабильного изотопов углерода можно определить возраст остатков. <p><i>За дополнительную информацию, не имеющую отношения к вопросу задания, баллы не начисляются, но за наличие в ней ошибок снимается 1 балл</i></p>	
<p>Ответ включает в себя четыре-пять названных выше элементов, не содержит биологических ошибок</p>	3
<p>Ответ включает в себя три из названных выше элементов, которые не содержат биологических ошибок</p>	2
<p>Ответ включает в себя два из названных выше элементов, которые не содержат биологических ошибок</p>	1
<p>Все иные ситуации, не соответствующие правилам выставления 3, 2 и 1 балла. ИЛИ Ответ неправильный</p>	0
<i>Максимальный балл</i>	3

Определение используемого метода задания линии 1

е

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

Методы	Применение методов
Молекулярно-генетический	Изучение молекулы ДНК
...	Разделение клеточных структур

Ответ: _____.



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

Методы	Применение методов
...	Определение структуры митохондрии
Биохимический	Изучение активности фермента

Ответ: _____.

Определение используемого метода задания линии 1

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

Методы	Применение методов
	Разделение основных пигментов из экстракта листьев
	Разделение клеточных структур

Хроматография (хроматографический метод)
Разделение клеточного содержимого и анализ смесей веществ (белков, хлорофиллов, пигментов)

Хроматография – по гречески писать “*graphy*” цветом “*Chroma*”

Хроматография – это метод разделения сложных смесей на компоненты для дальнейших идентификации, измерения количества, выделения либо очистки.



- Разделение
- Идентификация
- Определение количества

Центрифугирование.

В основе метода лежит разделение органелл клетки по их массе и плотности.

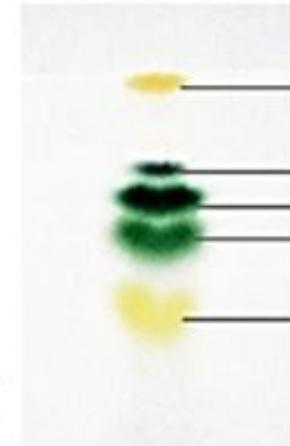
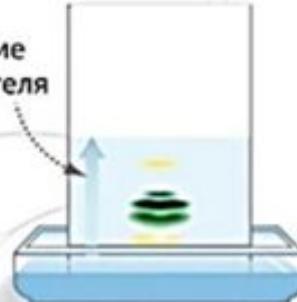
* Порядок оседания органоидов от самого тяжёлого к самому лёгкому:

ядро → митохондрии(хлоропласты) → лизосомы → рибосомы → субъединицы рибосом.

Хроматография



Движение
растворителя



Каротин

Феофитин

Хлорофилл а

Хлорофилл б

Ксантофилл

❶ Зеленые листья измельчаются в присутствии органического растворителя, таким образом пигменты листа переходят в раствор, т.е. экстрагируются.

❷ Экстракт пигментов наносится на линию старта хроматографической бумаги.

❸ Хроматографическая бумага помещается в ёмкость с органическим растворителем, в результате чего растворитель начинает подниматься вверх по хроматографической бумаге, увлекая за собой пигменты, которые будут двигаться с различной скоростью и, таким образом, разделяться. Скорость движения пигментов зависит от их массы, чем она меньше, тем выше скорость и тем дальше поднимется пигмент от линии старта.

Хроматография



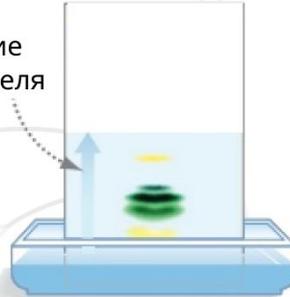
❶ Зеленые листья измельчаются в присутствии органического растворителя, таким образом пигменты листа переходят в раствор, т.е. экстрагируются.



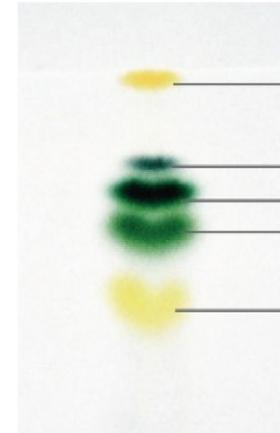
❷ Экстракт пигментов наносится на линию старта хроматографической бумаги.



Движение растворителя



❸ Хроматографическая бумага помещается в ёмкость с органическим растворителем, в результате чего растворитель начинает подниматься вверх по хроматографической бумаге, увлекая за собой пигменты, которые будут двигаться с различной скоростью и, таким образом, разделяться. Скорость движения пигментов зависит от их массы, чем она меньше, тем выше скорость и тем дальше поднимется пигмент от линии старта.



Каротин
Феофитин
Хлорофилл а
Хлорофилл b
Ксантофилл

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

Элементы ответа:

1) метод хроматографии

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



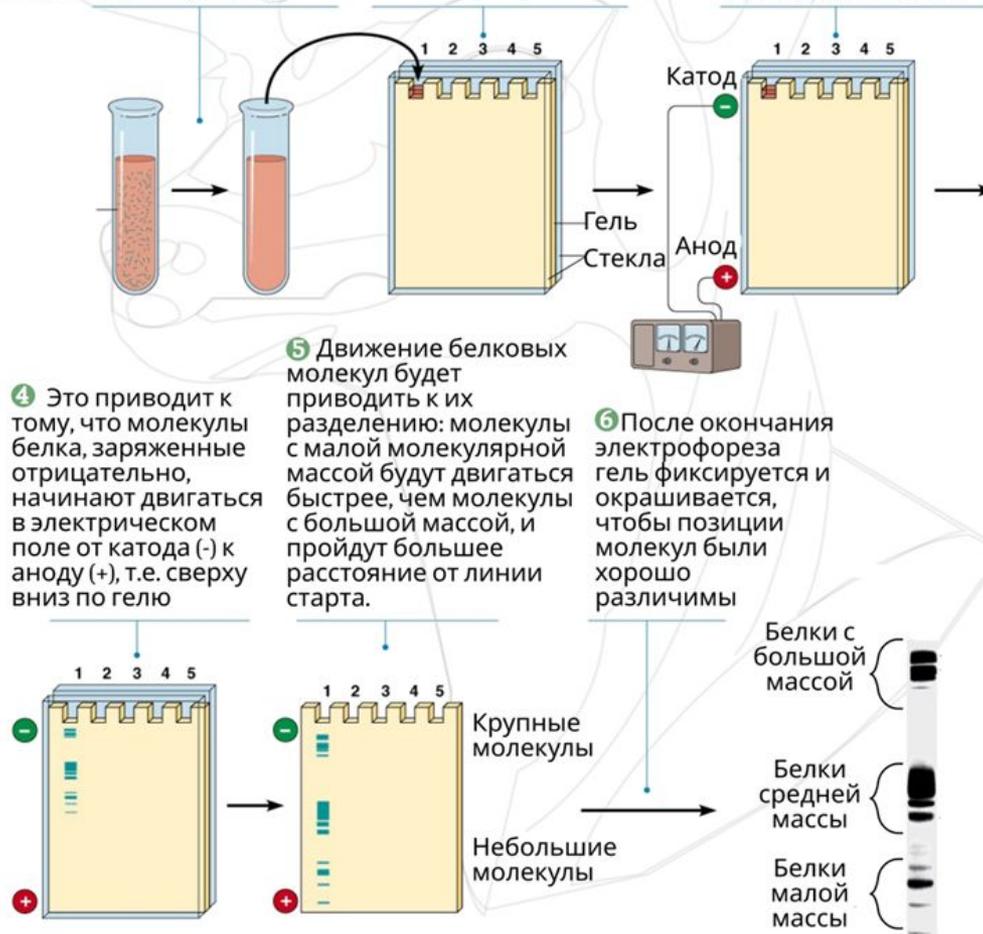
Метод электрофореза

Метод основан на разделении белков и нуклеиновых кислот по массе под воздействием электрического тока

1 Белки отличаются по массе, форме и заряду. Чтобы разделение происходило только по массе, белки обрабатываются раствором SDS, молекулы которого несут отрицательный заряд. После обработки все белки несут отрицательный заряд и имеют нитевидную (фибриллярную) форму.

2 Пробы белка наносят на линию старта в лунки геля, зажатого между двух стекол.

3 Камеру для электрофореза подключают к источнику тока таким образом, чтобы катод (-) располагался у верхнего полюса геля, а анод (+) у нижнего



Определение используемого метода

Выберите два верных ответа. Какие методы исследования помогают изучить процесс фотосинтеза в клетках?

- 1) экспериментальный метод
 - 2) метод микроскопирования
 - 3) метод меченых атомов
 - 4) метод клеточных культур
 - 5) метод центрифугирования
-

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

Метод	Применение метода
	Определение числа хромосом в кариотипе
Статистический	Распространение признака в популяции

Ответ: _____.



Выберите два верных ответа. Цитогенетический метод исследования генетики человека

- 1) основан на составлении родословных человека
- 2) используется для изучения характера наследования признака
- 3) заключается в микроскопическом исследовании структуры хромосом и их количества
- 4) используется для выявления хромосомных и геномных мутаций
- 5) помогает установить степень влияния среды на развитие признаков

* Методы генетики

Кариотипирование

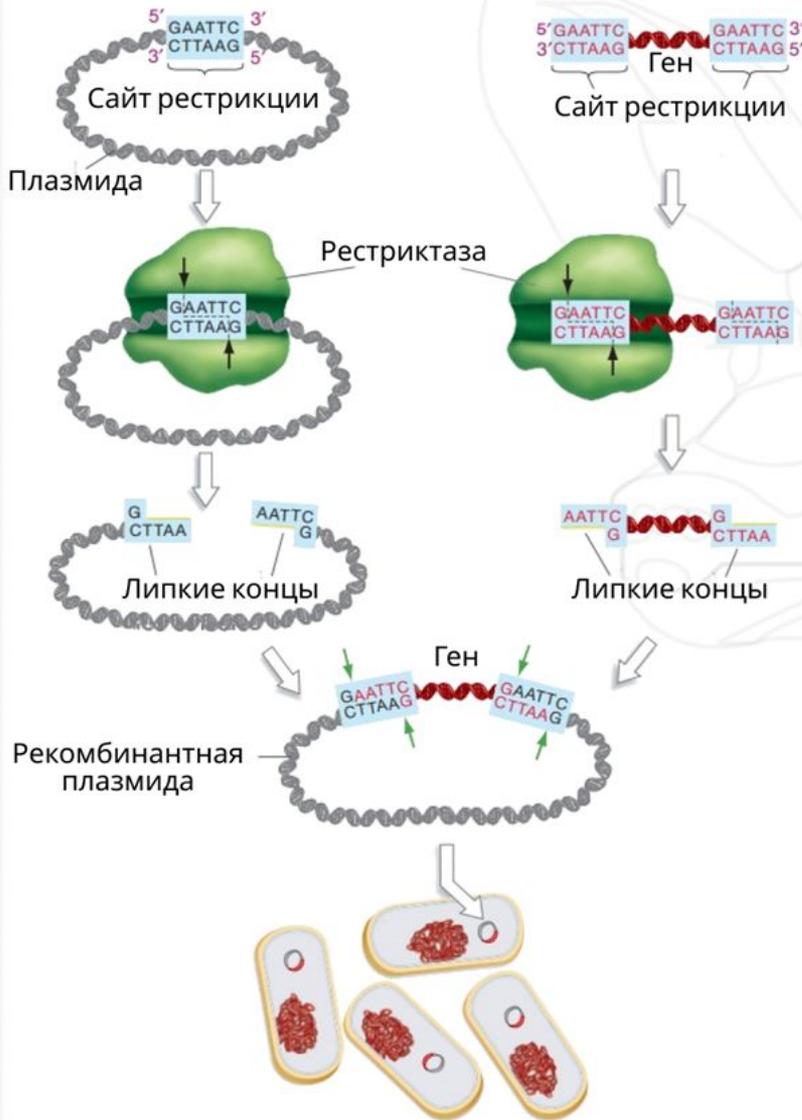
Почти то же самое, что и цитогенетический метод, выстраивание хромосомок по парам от большей к меньшей, определяя кариотип особи



Выберите два верных ответа. Кариотипирование – это метод, позволяющий определить

- 1) наличие предковых генов в геноме человека
- 2) наличие хромосомных перестроек
- 3) возможность проявления генных мутаций
- 4) пол человека на стадии эмбриона
- 5) внешний вид человека

Рестрикция и клонирование



1. Определение сайта рестрикции. Плазмида (слева) содержит определенную последовательность нуклеотидов, которую распознает фермент рестриктаза. Эта последовательность называется сайтом рестрикции. Аналогичные сайты рестрикции имеются в гене (справа), который необходимо вставить в плазмиду.

2. Добавление рестриктазы. Рестриктаза узнает сайты рестрикции и делает разрезы в ДНК.

3. Образование «липких концов». Образование разрезов в ДНК приводит к образованию «липких концов», которые способны соединиться за счет восстановления водородных связей по принципу комплементарности.

4. Внедрение гена в плазмиду. Липкие концы плазмиды и гена совпадают по принципу комплементарности. Фермент ДНК-лигаза соединяет концы гена и плазмиды друг с другом за счет образования фосфодиэфирных связей по позициям, обозначенным на рисунке зелеными стрелками. Такая плазмида с новым геном называется рекомбинантной.

5. Внедрение рекомбинантной плазмиды в бактерию (клонирование). Через бактериальные клетки проводят электрический импульс, что ведет к возникновению повреждений в клеточной стенке и мембране, через которые рекомбинантная плазмида попадает в цитоплазму. Клетки бактерий, получившие плазмиду с геном, начинают размножаться на питательной среде, копировать ДНК и передавать рекомбинантную плазмиду своим потомкам.



Опыт Мезельсона и Сталя

Ход эксперимента

Сначала бактерий выращивали на питательной среде с тяжелым изотопом ^{15}N



Отбор пробы в начале эксперимента (0 мин)

Затем бактерий перенесли на питательную среду с легким изотопом азота ^{14}N для двукратного деления



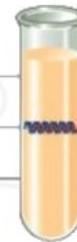
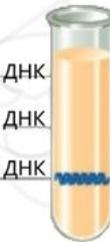
Отбор пробы через 20 мин

Отбор пробы через 40 мин

При благоприятных условиях бактерии делятся каждые 20 мин, таким образом, через 20 мин и 40 мин после начала эксперимента бактерии пройдут 1 и 2 цикла репликации соответственно.

Результаты центрифугирования бактериальной ДНК

$^{14}\text{N}/^{14}\text{N}$ (легкая/легкая) ДНК
 $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ (легкая/тяжелая) ДНК
 $^{15}\text{N}/^{15}\text{N}$ (тяжелая/тяжелая) ДНК



Поколение родителей (обе цепи тяжелые)

Первое поколение (промежуточное значение ДНК по плотности)

Второе поколение (половина ДНК имеет промежуточное значение плотности, другая половина молекул имеет две легкие цепи)

Выводы

Т.к. бактерии росли на среде с тяжелым изотопом ^{15}N , то именно его они использовали для построения двухцепочечной ДНК

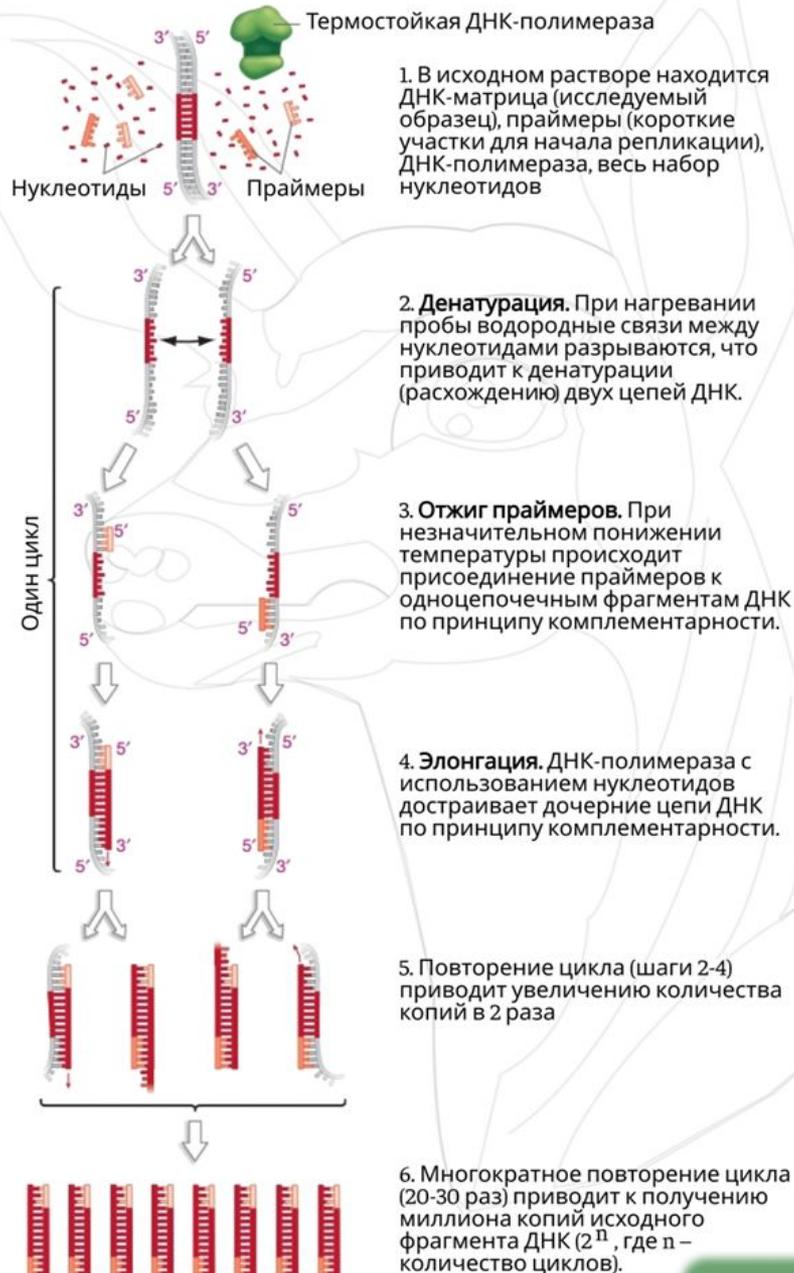


После двух раундов репликации получится 4 новые молекулы ДНК, две из которых будут иметь промежуточное значение по массе (одна цепь легкая, другая тяжелая $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$), а две другие будут занимать более высокое положение при центрифугировании, т.к. имеют самую низкую плотность (обе цепи легкие $^{14}\text{N}/^{14}\text{N}$)



ПЦР (полимеразная цепная реакция)

Метод основан на многократной репликации участка ДНК в пробирке с целью получения большого количества копий исследуемого образца



- ПЦР – циклический процесс, обычно включающий три стадии, которые повторяются по кругу несколько раз. Для выполнения этой процедуры существуют специальные автоматизированные термостаты или термоциклеры – амплификаторы, которые позволяют изменять температуру в соответствии с заложенной экспериментатором программой. Назовите три стадии ПЦР?

- 1) Денатурация молекулы ДНК,
- 2) Отжиг праймеров,
- 3) Синтез комплементарных матриц цепей ДНК – элонгация.

Результат проведения ПЦР можно увидеть с помощью **электрофореза**.

Метод электрофореза

Метод основан на разделении белков и нуклеиновых кислот по массе под воздействием электрического тока

1 Белки отличаются по массе, форме и заряду. Чтобы разделение происходило только по массе, белки обрабатываются раствором SDS, молекулы которого несут отрицательный заряд. После обработки все белки несут отрицательный заряд и имеют нитевидную (фибриллярную) форму.

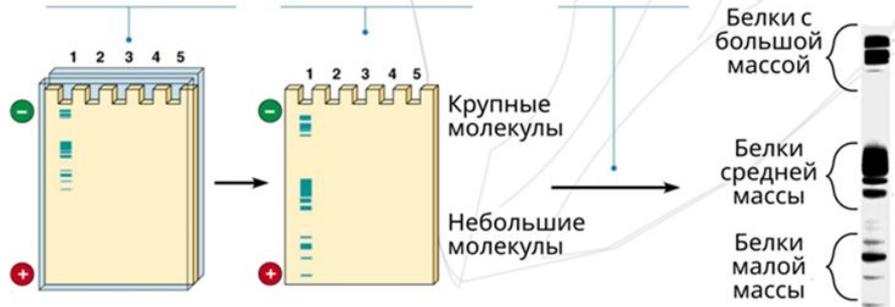
2 Пробы белка наносят на линию старта в лунки геля, зажатого между двух стекол.

3 Камеру для электрофореза подключают к источнику тока таким образом, чтобы катод (-) располагался у верхнего полюса геля, а анод (+) у нижнего

4 Это приводит к тому, что молекулы белка, заряженные отрицательно, начинают двигаться в электрическом поле от катода (-) к аноду (+), т.е. сверху вниз по гелю

5 Движение белковых молекул будет приводить к их разделению: молекулы с малой молекулярной массой будут двигаться быстрее, чем молекулы с большой массой, и пройдут большее расстояние от линии старта.

6 После окончания электрофореза гель фиксируется и окрашивается, чтобы позиции молекул были хорошо различимы



- Результат проведения ПЦР можно увидеть с помощью **электрофореза**. Наличие единственной чёткой полосы говорит об успешном прохождении реакции и отсутствии неспецифических продуктов. Электрофорез также позволит определить размер полученного продукта. Необходимо рассмотреть один важный аспект: В лабораториях всегда отводят отдельное помещение для ПЦР-исследований или, по крайней мере, следят, чтобы посторонняя ДНК не попала в реакционную смесь.
- Почему?
- Что произойдет в таком случае и как это отразится на результатах электрофореза?

(Корректные результаты не будут получены, так как, вероятно, образуется смесь нескольких ДНК в реакционной смеси. Исследование с использованием электрофореза в таком случае покажет вместо одной четкой полосы несколько)



Значимость открытия ПЦР

С самых ранних времен молекулярной биологии именно размножение нужного участка ДНК было одной из центральных проблем. Хромосомная ДНК имеет огромную протяженность, а количество ее копий в биообразце обычно мало, порой в нашем распоряжении есть только единичная молекула. А для мало-мальски удобных исследований нужно, чтобы все было наоборот: много копий сравнительно небольшого участка, с которым мы хотим работать. Вся молекулярная биология разделилась на периоды «до ПЦР» и «после». **За открытие ПЦР Нобелевскую премию в 1993 году получил Кэрри Муллис.**

Для чего используют ПЦР? обнаружение вирусов или бактерий в клинических образцах Например, COVID-19, ВИЧ, гепатит, туберкулезная палочка:

- Для этого необходимо подобрать праймеры, специфично связывающиеся с геномом этих организмов, и провести ПЦР. Если в реакции будет образовываться ПЦР-продукт, значит, патоген в образце присутствует. Как правило, исследователи проводят модифицированный вариант ПЦР, который позволят определить не только наличие инфекции, но и уровень заражения. идентификация личности
- Зачастую на месте преступления остаются следы ДНК преступника, по которым его можно определить. Фрагменты ДНК нарабатывают в большом количестве с помощью ПЦР, затем криминалисты сравнивают с ДНК подозреваемого и базами данных.
- Получение днк из кусочков костей людей и животных, живших сотни и десятки тысяч лет назад ДНК за это время почти полностью деградирует, ее остается очень мало, и без ПЦР тут не обойтись. И многое другое. Давайте попробуем найти ответ на такой вопрос:

Возможно ли использовать **ПЦР для определения неизвестного вируса или бактерии? Нет**, потому что неизвестна последовательность нуклеотидов, и, следовательно, невозможно подобрать праймеры. Поэтому так важен следующий метод.

Обобщенные и конкретизированные названия

В ЕГЭ цитогенетический

Метод биологических исследований	Пример
Наблюдение	Поведение животных в период гона
?	Изучение нуклеотидной последовательности ДНК

В биологии - секвенирование

Секвенирование - определение нуклеотидной или аминокислотной последовательности.

Сначала готовится большое число небольших участков ДНК (клонировается молекула ДНК многократно и «разрезается» в случайных местах), а потом читается каждый участок по отдельности, и определяется нуклеотидная последовательность ДНК

<http://www.vechnayamolodost.ru/articles/poplem/seqdch13/>

ИННОВАЦИОННЫЙ ПРОЕКТ ПО БОРЬБЕ СО СТАРЕНИЕМ

VITASOIN.NET - НЕ ПРОПУСТИТЕ СВОЮ ... ЖИЗНЬ!

главная / статьи / науки о жизни / генетика / секвенирование геномов для «чайников»

СЕКВИНИРОВАНИЕ ГЕНОМОВ ДЛЯ «ЧАЙНИКОВ»

19 СЕПТЕМБРЯ 2013

Геномика: постановка задачи и методы секвенирования

ПостНаука

Сергей Николаенко, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории вычислительной биологии Санкт-Петербургского Академического Университета в серии статей говорит о некоторых задачах биоинформатики, связанных со сборкой и анализом геномов, делая акцент на секвенировании ДНК. В данной статье ставится задача. В данном, вводном, тексте речь идет о том, как выглядит молекула ДНК и как их получают.

Как выглядит молекула ДНК?

Начнем с того, как выглядит молекула ДНК. Молекулы полимера характеризуются левосторонней структурой, под которой понимаются

ЧИТАТЬ СТАТЬЮ ПО ТЕМАМ:

- биоинформатика
- геномика
- секвенирование генома

Версия для печати

Секвенирование собственно говоря, это и есть прочтение ДНК!!

Определение порядка элементарных единиц мономеров в полимере.

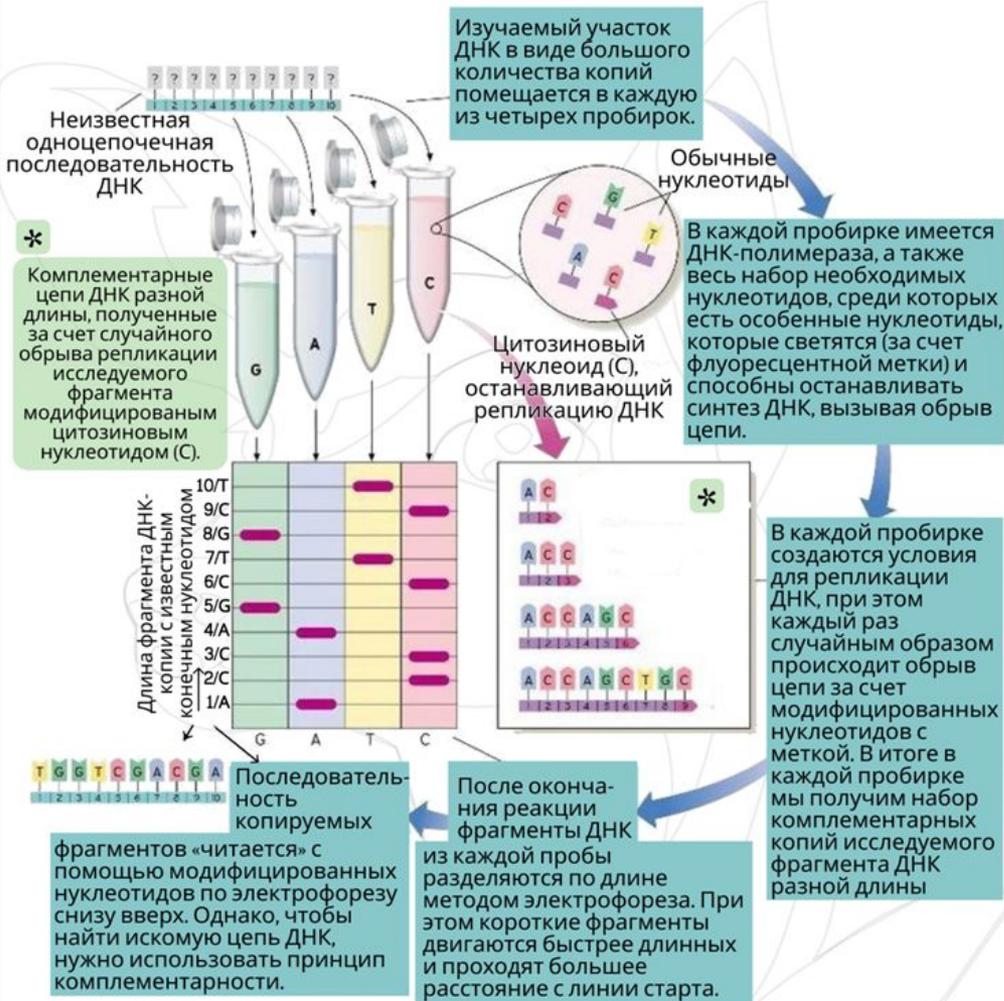
- Приоритет в открытии этой ключевой для биологии концепции принадлежит британскому ученому Фредерику Сенгеру. Объектом первого в мире секвенирования, которое в конце 40-х провел Сенгер, была вовсе не ДНК или РНК. Это был инсулин – единственный в то время пептид, доступный в более-менее чистом виде в достаточных количествах.

Фредерик Сенгер – один из немногих ученых, которые получили Нобелевскую премию дважды.

Нобелевская премия по химии 1958 года
«За установление структур белков, особенно инсулина».

Нобелевская премия по химии 1980 года
«За вклад в определение основных последовательностей нуклеиновых кислот».

Секвенирование по Сэнгеру



Процедура проводится следующим образом: **фрагмент ДНК, помеченный с одного из концов радиоактивным изотопом, разделяют на четыре пробирки.** В каждую из них добавляют реактивы, необходимые для синтеза новой ДНК, в том числе одиночные «буквы», которые полимераза должна будет связать в новую нить — в точном соответствии с исходной матрицей. Однако, помимо обычных «букв», к раствору добавляется некоторое небольшое число специально «испорченных» — таких, после которых невозможно присоединить следующую «букву» (они просто лишены соответствующего места для связи). В результате в конце синтеза в каждой пробирке появляется набор ДНК разной длины, причем каждая из молекул несет радиоактивную метку в начале и испорченную «букву» на конце. Поскольку в каждую из четырех пробирок добавляют только один вид испорченных оснований, мы знаем, какой буквой кончаются все фрагменты ДНК в данной пробирке. **А дальше используют уже известный вам электрофорез.** Прикладывают к нему фотопленку, которая зафиксирует скопления радиоактивности. На пленке появится «лестница» из ступенек, каждая из которых будет соответствовать одной букве в последовательности. Поднимаясь по лестнице, мы прочтем всю последовательность нуклеотидов ДНК.

Рассмотрите таблицу «Методы биологических исследований». Запишите в ответ пропущенный термин, обозначенный в таблице вопросительным знаком.

Частнонаучный метод	Применение метода
близнецовый	Определение степени влияния среды на монозиготных близнецов
?	Определение последовательности нуклеотидов в ДНК с использованием флуоресцентных меток

Ответ: секвенирование

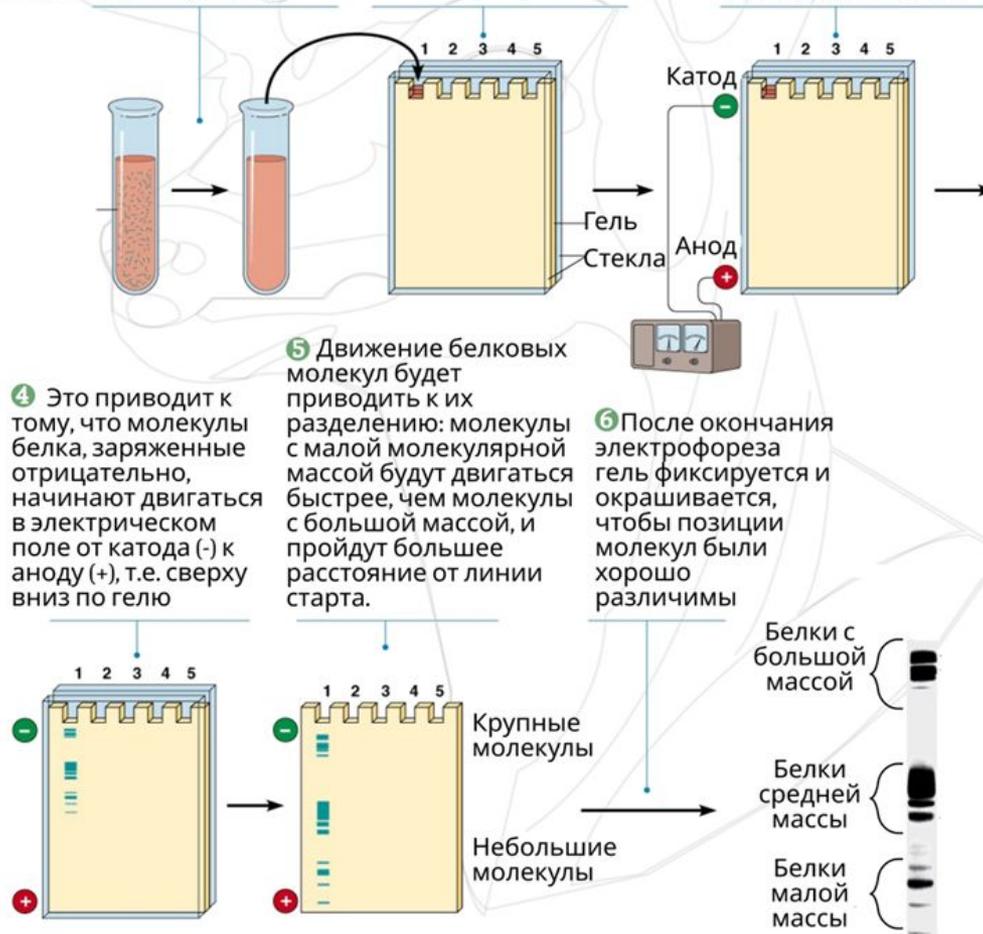
Метод электрофореза

Метод основан на разделении белков и нуклеиновых кислот по массе под воздействием электрического тока

1 Белки отличаются по массе, форме и заряду. Чтобы разделение происходило только по массе, белки обрабатываются раствором SDS, молекулы которого несут отрицательный заряд. После обработки все белки несут отрицательный заряд и имеют нитевидную (фибриллярную) форму.

2 Пробы белка наносят на линию старта в лунки геля, зажатого между двух стекол.

3 Камеру для электрофореза подключают к источнику тока таким образом, чтобы катод (-) располагался у верхнего полюса геля, а анод (+) у нижнего



Селекция или биотехнология???

Селекция

Полиплоидизация (полиплоидия).

Метод кратного увеличения числа хромосом. Преодолевают межвидовую стерильность, повышает урожайность. Применяется в селекции растений.

Гибридизация (гибридологический).

Скрещивание особей друг с другом.

Бывает межвидовая или отдалённая гибридизация - аутбридинг и близкородственная или инбридинг.

Инбридинг применяется для закрепления необходимых признаков в генотипе, так как переводит большинство генов в гомозиготное состояние.

Аутбридинг повышает жизнеспособность особей, способствуя проявлению эффекта гетерозиса, так как повышается гетерозиготность гибридов.

* Методы генной и клеточной инженерии

Генная инженерия занимается получением рекомбинантных ДНК и РНК, пересадкой генов и участков хромосом из одной клетки в другую. (различные манипуляции с плазмидами бактерий)

Клеточная инженерия занимается конструированием новых клеток путём их гибридизации, клонирования или пересадки ядер и целых хромосом из одних клеток в другие.



соматическая гибридизация/клеточная гибридизация
клонирование
пересадка ядер

дисциплина, изучающая возможности использования живых организмов, их систем или продуктов их жизнедеятельности для решения технологических задач, а также возможности создания живых организмов с необходимыми свойствами методом генной инженерии.

Демоверсия ЕГЭ 2022

Задание линии 1

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

Методы	Применения
Статистический	Выявление распространения признака в популяции
	Определение числа хромосом в кариотипе

Демоверсия ЕГЭ 2022

Задание линии 2

2 Экспериментатор поместил зерновки пшеницы в сушильный шкаф. Как изменились концентрация солей и количество воды в клетках семян?

Для каждой величины определите соответствующий характер её изменения:

- 1) увеличилась
- 2) уменьшилась
- 3) не изменилась

Запишите в таблицу выбранные цифры для каждой величины. Цифры в ответе могут повторяться.

Концентрация солей	Количество воды
<input type="text"/>	<input type="text"/>

СЬ

СЬ



Демоверсия ЕГЭ 2022

Задание линии 16

16

Установите соответствие между указанными объектами изучения и методами исследования, используемыми при их изучении: к каждой позиции, данной в первом столбце, подберите соответствующую позицию из второго столбца.

ОБЪЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ

- А) жаберные дуги в онтогенезе человека
- Б) останки зверозубых ящеров
- В) филогенетический ряд лошади
- Г) строение зародышей классов позвоночных
- Д) многообразие флоры каменноугольного периода

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

- 1) палеонтологические
- 2) эмбриологические

Запишите в таблицу выбранные цифры под соответствующими буквами.

Ответ:

А	Б	В	Г	Д



Анализ, как теоретический метод

Анализ табличных данных линия 21

- 21 Проанализируйте таблицу «Выживание птенцов скворца в зависимости от количества яиц в кладке».

Количество яиц в кладке	Доля выживших птенцов (в %)
1	100
2	95
3	90
4	83
5	80
6	53
7	40
8	35
9	32

Выберите все утверждения, которые можно сформулировать на основании анализа представленных данных. Запишите в ответе цифры, под которыми указаны выбранные утверждения.

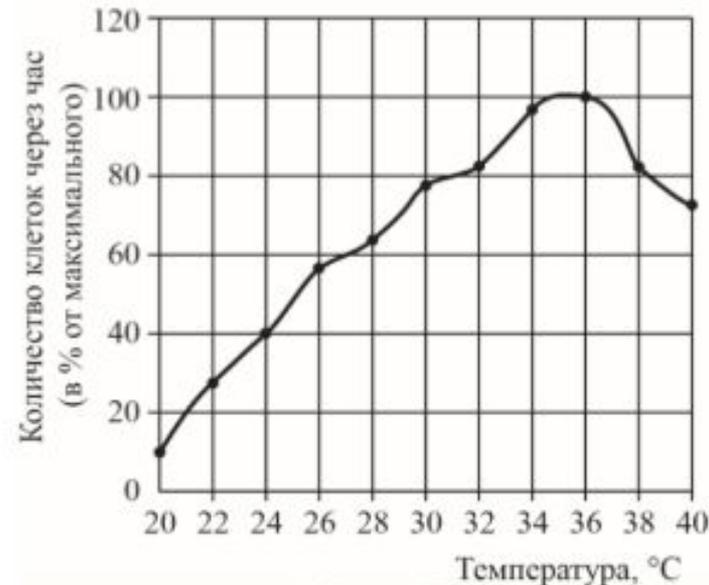
- 1) Оптимальное количество яиц в кладке – 5, что обеспечивает максимальное воспроизведение особей в данной популяции скворцов.
- 2) Гибель птенцов скворца объясняется случайными факторами.
- 3) Чем меньше в кладке яиц, тем ниже смертность птенцов скворца.
- 4) Чем меньше птенцов в гнезде, тем чаще родители кормят каждого из птенцов.
- 5) Количество яиц в кладке зависит от погодных условий и наличия корма.

Анализ как теоретический метод

линия 21

Проанализируйте график скорости размножения молочнокислых бактерий.

Анализ графиков



Выберите все утверждения, которые можно сформулировать на основании анализа представленных данных. Запишите в ответе цифры, под которыми указаны выбранные утверждения.

Скорость размножения бактерий

- 1) всегда прямо пропорциональна изменению температуры среды
- 2) зависит от ресурсов среды, в которой находятся бактерии
- 3) зависит от генетической программы организма
- 4) повышается при температуре 20–35 °C
- 5) изменяется в зависимости от температуры

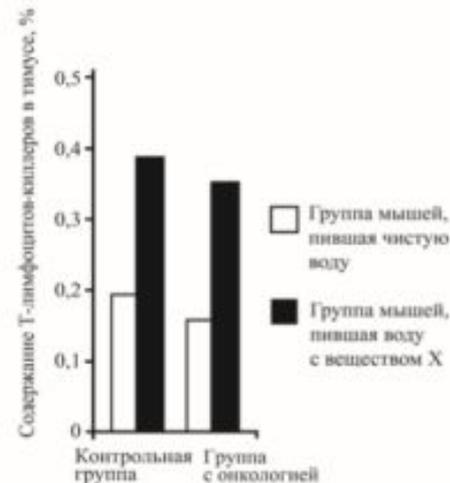
Анализ как теоретический метод

линия 21

Анализ диаграмм

21

Проанализируйте диаграмму «Содержание Т-лимфоцитов-киллеров в тимусе здоровых и больных раком мышей при употреблении вещества X». В эксперименте использовали мышей с онкологией, в качестве контроля использовали здоровых мышей. В каждой группе одну часть мышей поили чистой водой, а другую – водой с добавлением вещества X. Через 14 дней брали на анализ тимус (вилочковую железу).



Выберите утверждения, которые можно сформулировать на основании анализа полученных результатов.

Запишите в ответе цифры, под которыми указаны выбранные утверждения.

- 1) Вещество X способствует увеличению содержания Т-лимфоцитов-киллеров в тимусе.
- 2) Наличие онкологии приводит к незначительному снижению содержания Т-лимфоцитов-киллеров в тимусе.
- 3) Вещество X ослабляет организм.
- 4) Тимус увеличивается из-за употребления вещества X.
- 5) Вода стимулирует иммунный ответ организма.

По описанию эксперимента анализ результатов

Питание ??

Экспериментатор решил исследовать изменения, происходящие с эритроцитами, помещёнными в растворы с различной концентрацией хлорида натрия (NaCl). Перед началом эксперимента он выяснил, что концентрация NaCl в плазме крови составляет 0,9%. В рамках эксперимента он распределил кровь по двум пробиркам, в каждую из которых добавил растворы NaCl с различной концентрацией в соотношении 1:1 (на 1 мл крови – 1 мл раствора NaCl). По результатам наблюдений экспериментатор сделал рисунки эритроцитов А и Б. Какой параметр задаётся экспериментатором (независимая переменная), а какой параметр меняется в зависимости от этого (зависимая переменная)? Какие изменения произошли с эритроцитом в пробирке Б? Объясните данное явление. Раствор какой концентрации NaCl был добавлен в пробирку на рис. А, а какой – в пробирку на рис. Б?

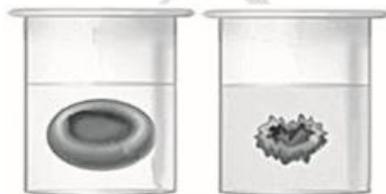


Рис. А

Рис. Б

ОТВЕТ:

