

VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ UNIVERZITA BRNO

FAKULTA VETERINÁRNÍ HYGIENY A EKOLOGIE

Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat

BIOLOGIE

BIOLOGIE A MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÉ METODY

PROTOKOLY NA CVIČENÍ



Kolektiv autorů:

MVDr. Kateřina Kobédová

MVDr. Jiřina Marková

Revize:

Doc. MVDr. Eva Bártová, PhD. (autor fotografií)

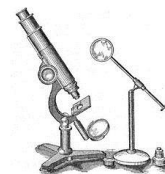
Mgr. Ivo Papoušek, PhD.

BRNO 2016

Cvičení 1: MIKROSKOPICKÁ TECHNIKA

Jméno:

Skupina:

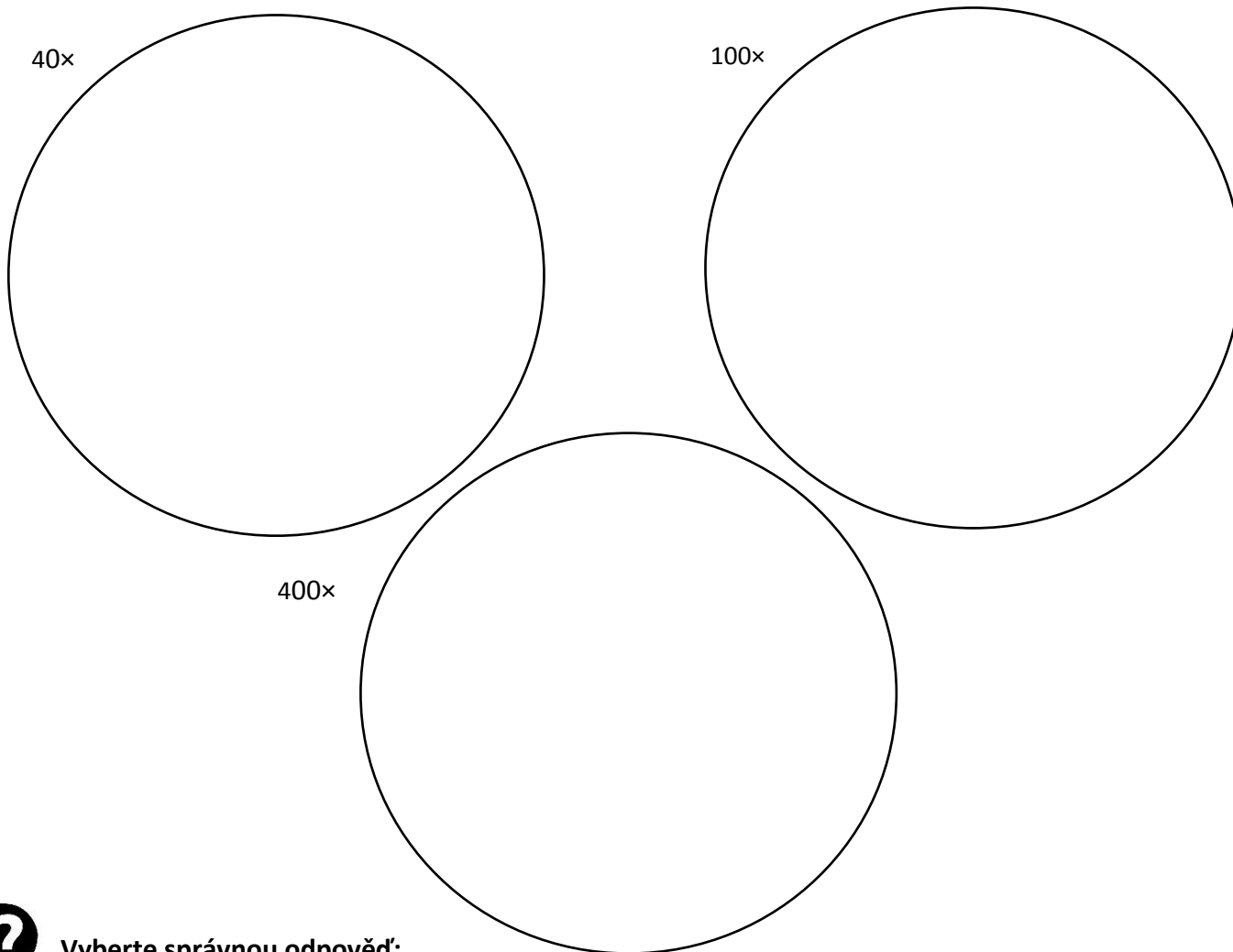


ZASTAVENÍ OBJEKTU V ZORNÉM POLI MIKROSKOPU PŘI RŮZNÉM ZVĚTŠENÍ (40×, 100×, 400×)

Trvalý preparát: písmeno

Umístěte preparát na stolek mikroskopu tak, aby natištěné slovo bylo z vaší strany dobře čitelné "pouhým okem". Zastavte preparát při různých zvětšeních objektivu (4×, 10× a 40×)

➤ **Zakreslete vše, co vidíte v zorném poli při jednotlivých zvětšeních**



Vyberte správnou odpověď:

1. Jaký obraz v mikroskopu vzniká? A) nezměněný B) zmenšený a převrácený C) zvětšený a převrácený
2. Jak se mění volná pracovní vzdálenost, velikost zobrazené plochy a detaily v zorném poli v závislosti na použitém zvětšení?
 - A) S rostoucím zvětšením volná pracovní vzdálenost klesá, zobrazená plocha se zmenšuje a v zorném poli jsou vidět větší detaily
 - B) S rostoucím zvětšením volná pracovní vzdálenost stoupá, zobrazovací plocha se zvětšuje a v zorném poli jsou vidět větší detaily

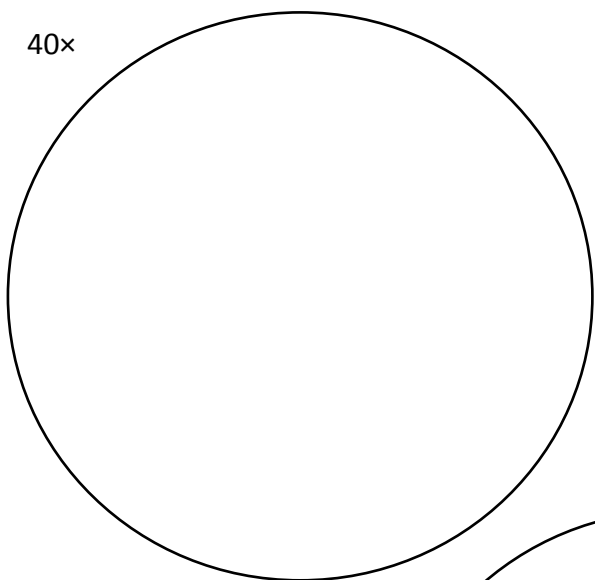
STŘEDĚNÍ OBJEKTU

Trvalý preparát: barvená vlna

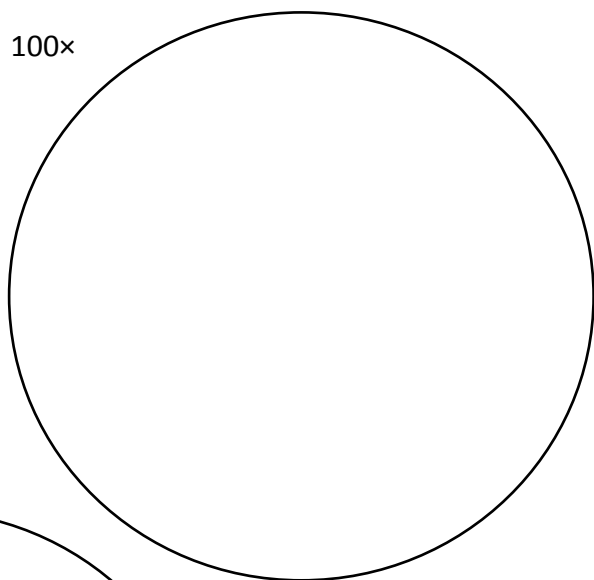
Zastavte barvenou vlnu (překřížení vláken nebo jiný charakteristický bod) co možná nejpřesněji ve středu zorného pole při nejmenším zvětšení objektivu (4×). Použijte větší zvětšení objektivu (10× a 40×), aniž byste pohybovali preparátem a pozorujte posun vlny (překřížení či bodu) mimo střed zorného pole.

➤ **Zakreslete vše, co vidíte v zorném poli při jednotlivých zvětšeních**

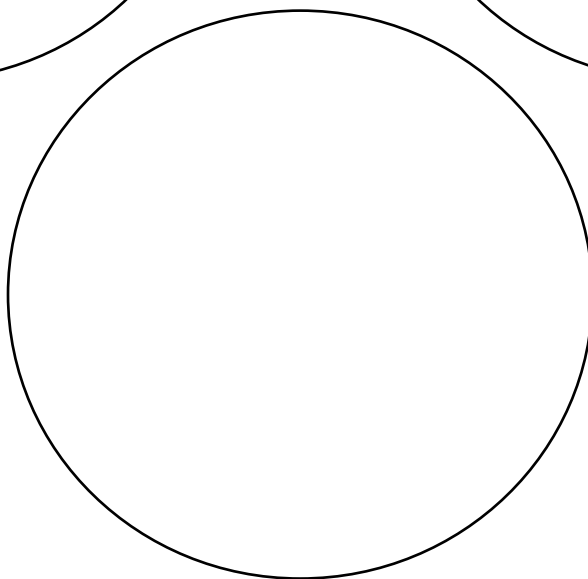
40×



100×



400×



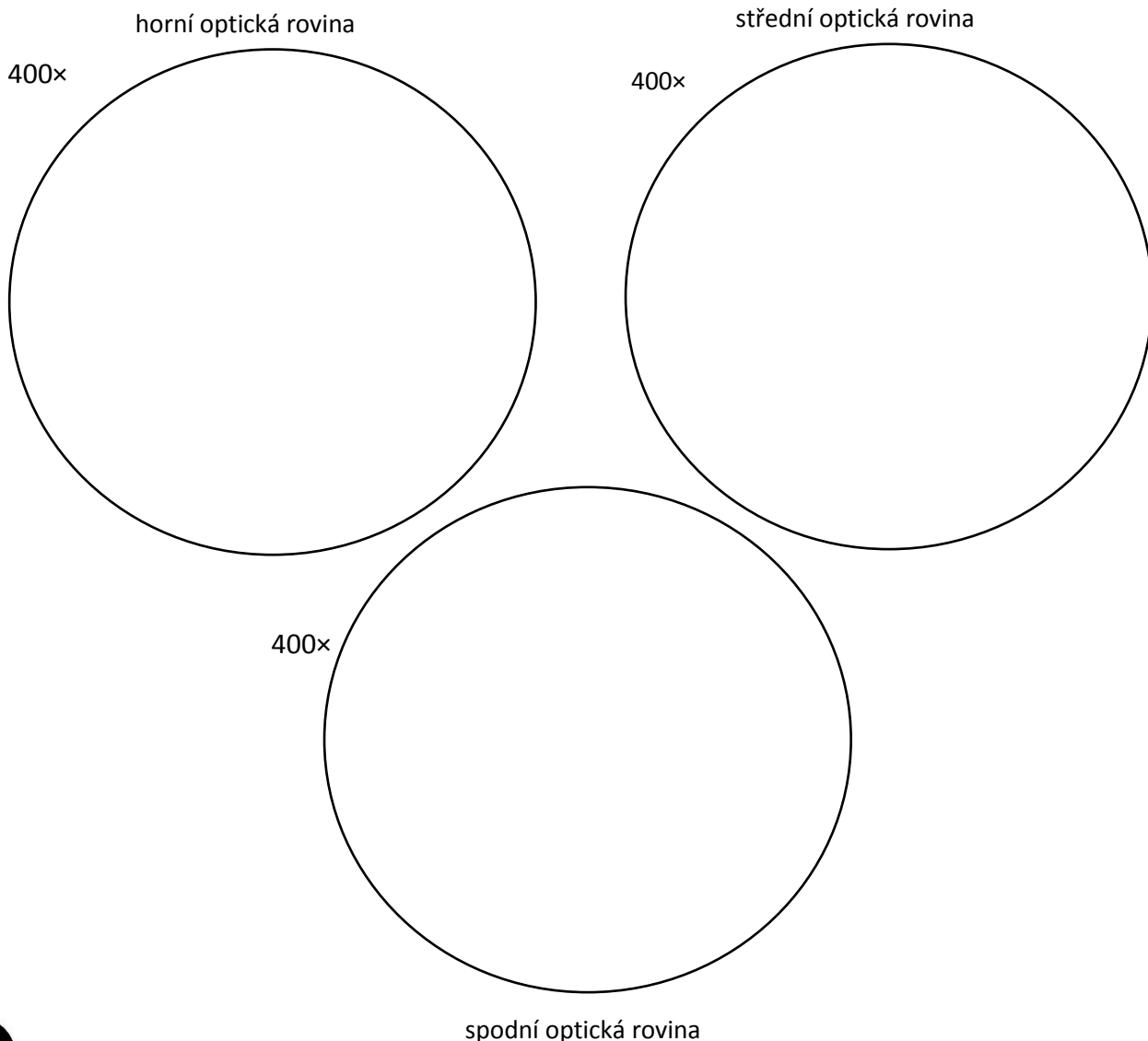
Jaká zásada z toho vyplývá?

OPTICKÉ ROVINY A MĚŘENÍ VÝŠKY OBJEKTU

Trvalý preparát: křídlo hmyzu

Zastavte preparát při nejmenším zvětšení objektivu (4×) a vyberte vhodné místo pro pozorování (např. s mnoha chloupky). Poté zastavte preparát při zvětšení objektivu 40×.

- Pomocí mikroposuvu zaostřete objekt v horní optické rovině a zakreslete část, kterou vidíte ostře. Nehýbejte preparátem, pouze zaostřete do střední optické roviny a opět zakreslete a to stejné zopakujte ve spodní rovině.
- Změřte tloušťku křídla



1. Jaká zásada z toho vyplývá?

2. Tloušťka křídla byla μm

SLOŽENÍ SVĚTELNÉHO MIKROSKOPU

- Přiřaďte čísla k jednotlivým částem mikroskopu:
- Vyznačte, které části patří do optické (O), světelné (S) a mechanické (M) části



1. Kondenzor s clonou
2. Clona zdroje světla
3. Okulár
4. Objektiv
5. Revolverový měnič objektivů
6. Držák preparátu s upínací svorkou
7. Stolek
8. Tubus
9. Stativ
10. Koaxiální ovládání křížového posunu
11. Makroposuv a mikroposuv
12. Podstavec



Doplňte, nebo vyberte správnou odpověď:

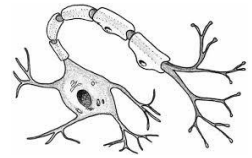
1. Celkové zvětšení mikroskopu se zjistí vynásobením zvětšení kondenzoru/objektivu se zvětšením okuláru/délky tubusu. *Nehodící se škrtněte.*
2. Co je to rozlišovací schopnost mikroskopu?
 - A) schopnost objektivu zachytit co nejvíce paprsků
 - B) schopnost objektivu zobrazit ostře současně několik optických rovin pozorovaného objektu
 - C) vlastnost objektivů rozlišit dva od sebe nepatrně vzdálené body ještě jako dva samostatné body
3. Rozlišovací schopnost světelného mikroskopu je μm
4. Jaké jsou dva typy objektivů podle použitého média mezi objektem a čelní čočkou objektivu?
5. Doplňte text do šedých políček v tabulce:

Optická část mikroskopu	Zvětšení			
	10x	10x		10x
		10x	40x	100x
Celkové zvětšení	40x		400x	

Cvičení 2: ŽIVOČIŠNÁ BUŇKA, PROTOZOA

Jméno:

Skupina:

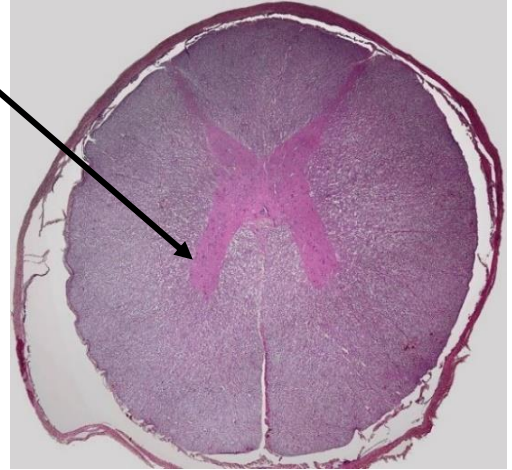


TVAR BUNĚK – NERVOVÁ BUŇKA

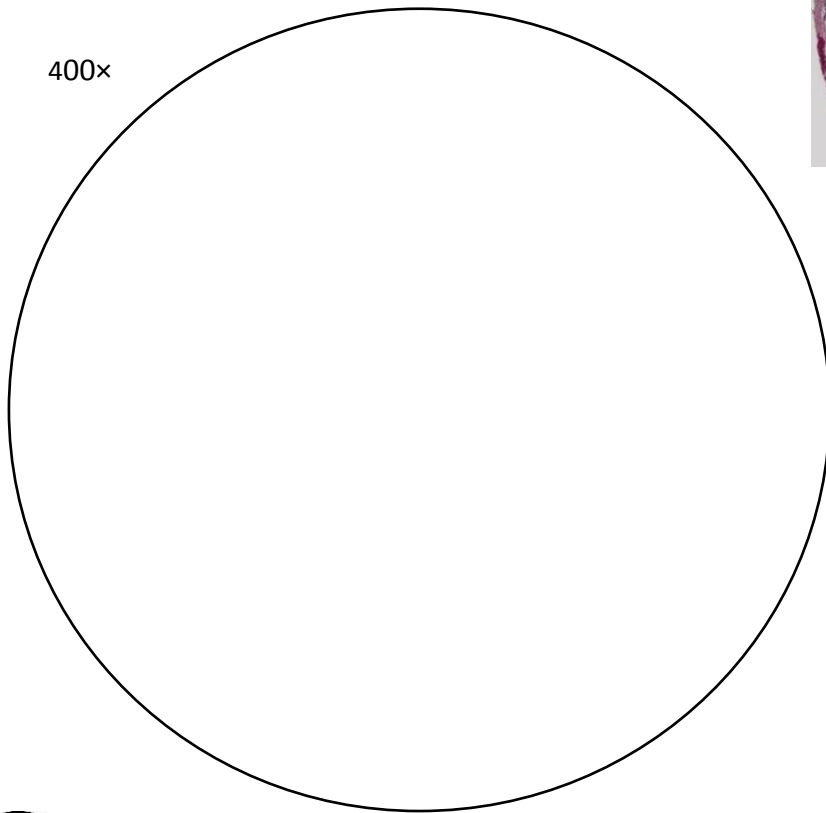
Trvalý preparát: mícha

Vyhledejte nervové buňky (neurony) ve **ventrálních rozích šedé hmoty míšni**.

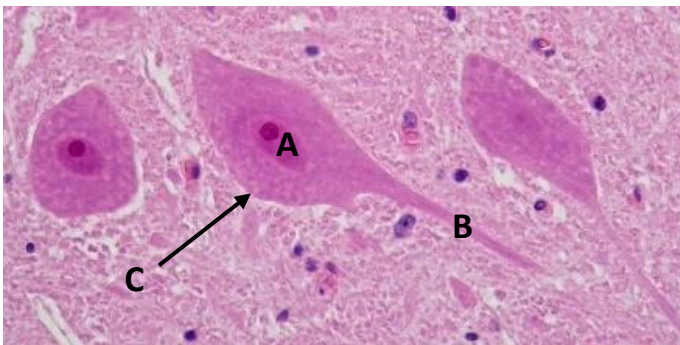
- **Pozorujte při zvětšení 400x, zakreslete a popište nervovou buňku**



400x



Popište obrázek neuronu:



A

B

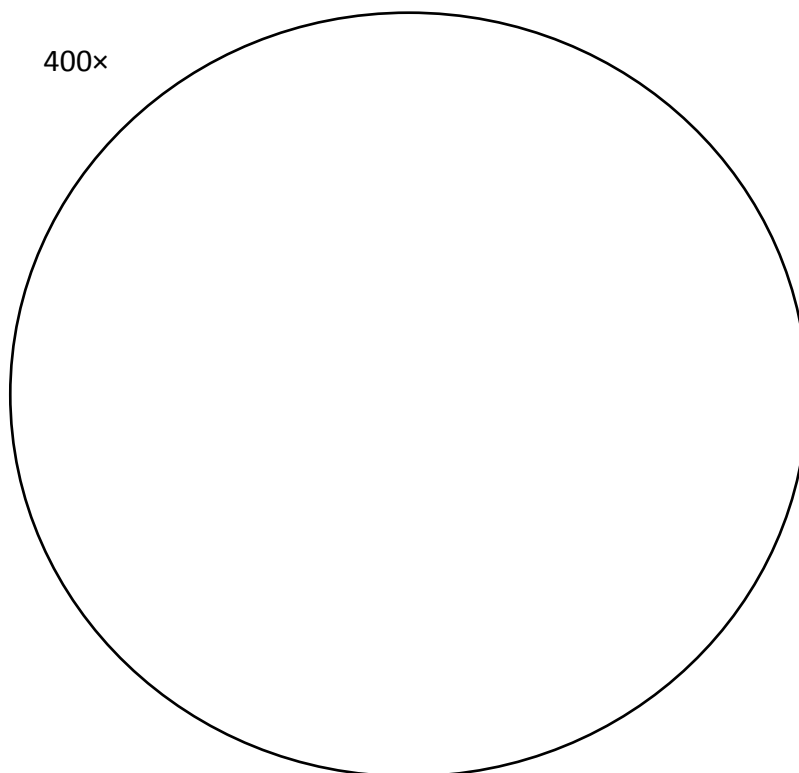
C

TVAR JADER - LEUKOCYTY

Trvalý preparát: leukocyty

Preparát nejprve pozorujte při menších zvětšeních (40× a 100×), až najdete vhodné místo, přejděte na větší zvětšení 400× a pozorujte bílé krvinky.

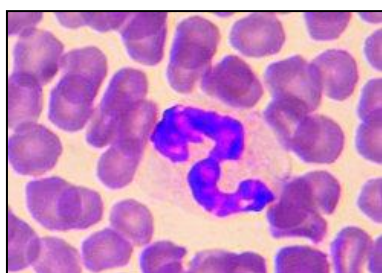
➤ **Zakreslete 2 – 3 různé typy jader (fialově zbarvená) leukocytů**



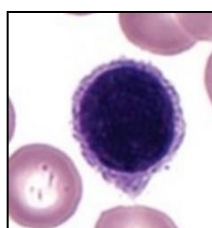
K jednotlivým obrázkům přiřaďte správný název bílých krvinek a tvar jejich jádra

Název buňky: monocyt, lymfocyt, granulocyt

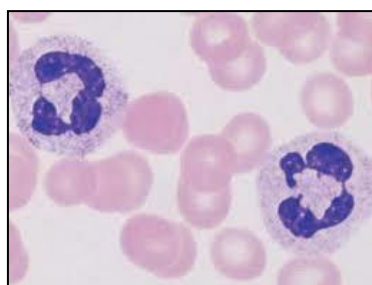
Typ jádra: laločnaté, kulovité, bobovité (ledvinovité), esovité



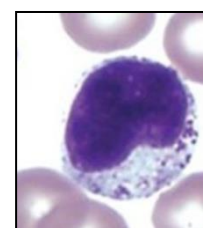
A



B



C



D

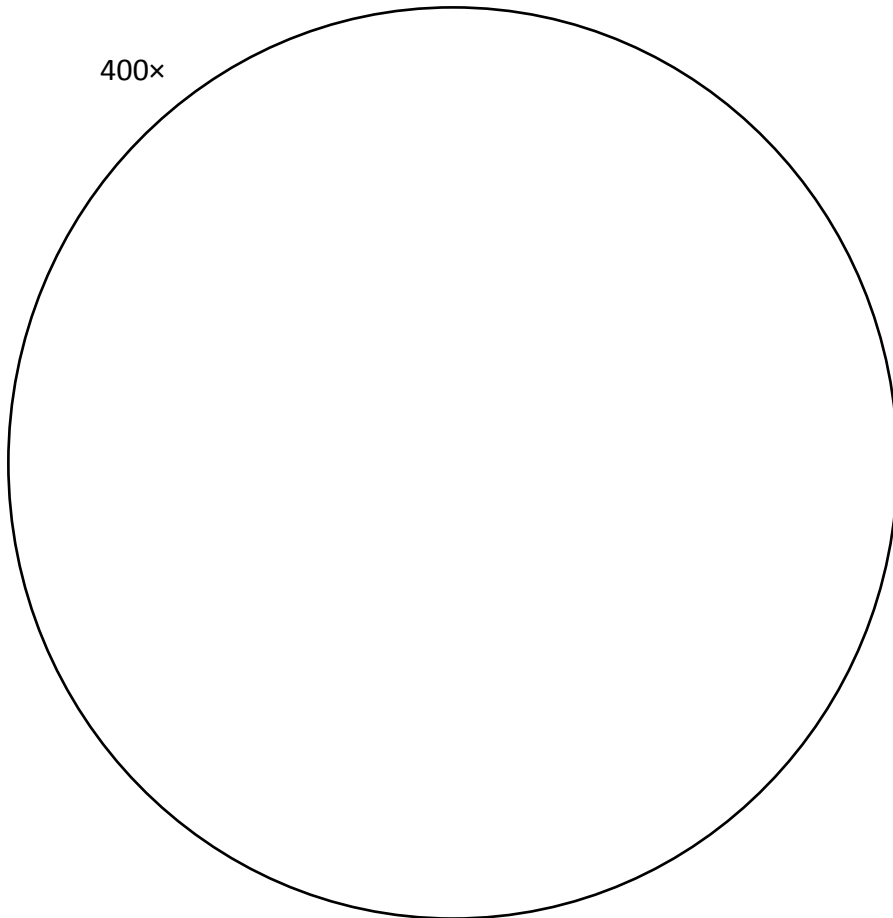
TVAR JADER - PLAZIVENKA

Trvalý preparát: plazivenka (*Spirostomum* sp.)

Preparát nejprve pozorujte při menších zvětšeních (40× a 100×), tak abyste viděli plochu zorného pole. Až najdete plazivenku, použijte větší zvětšení 400×.



➤ **Zakreslete plazivenku (*Spirostomum* sp.)**



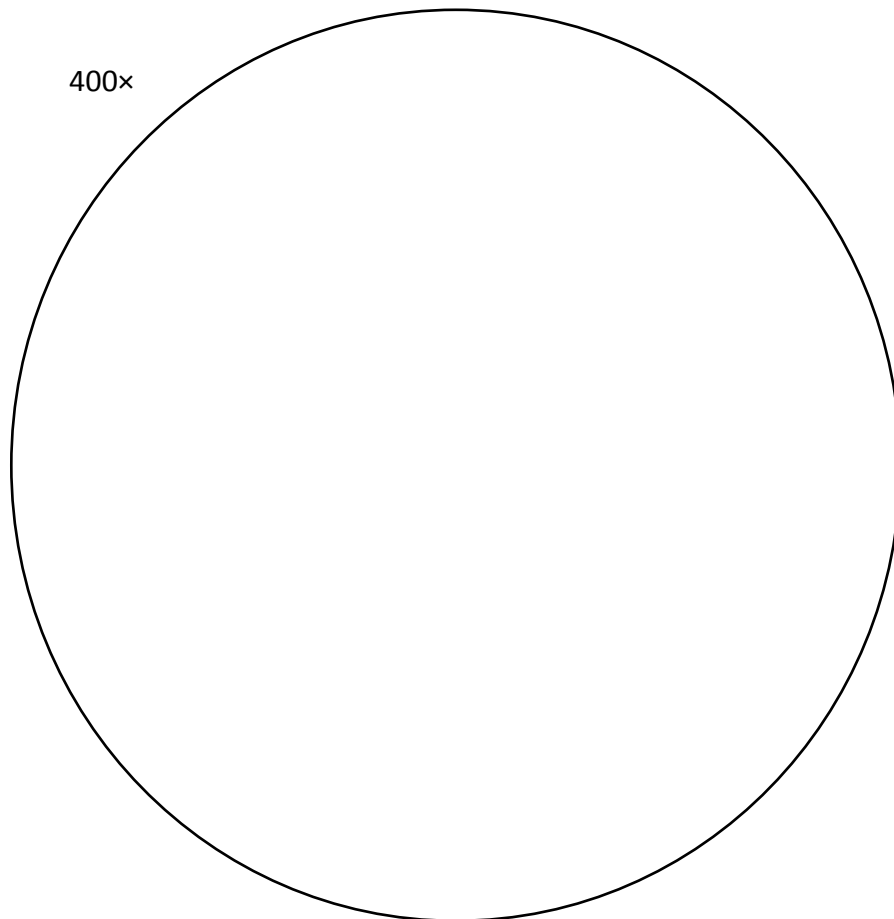
Kolik má plazivenka jader a jakého tvaru?

POČET JADER - NÁLEVNÍCI

Trvalý preparát: nálevník - trepka (*Paramecium* sp.)

Preparát nejprve pozorujte při menších zvětšeních (40× a 100×), tak abyste viděli větší plochu zorného pole. Až najdete hledaný objekt, použijte větší zvětšení 400×.

➤ **Zakreslete a popište trepku (*Paramecium* sp.)**



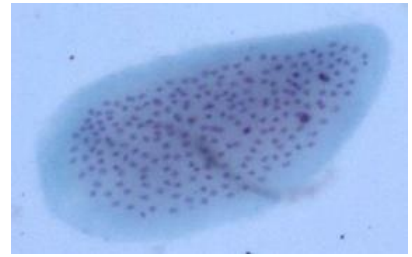
1. Jaké dva typy jader můžeme pozorovat u trepky (*Paramecium* sp.)?

2. Jak se od sebe liší a jakou mají funkci?

POČET JADER - OPALINKA

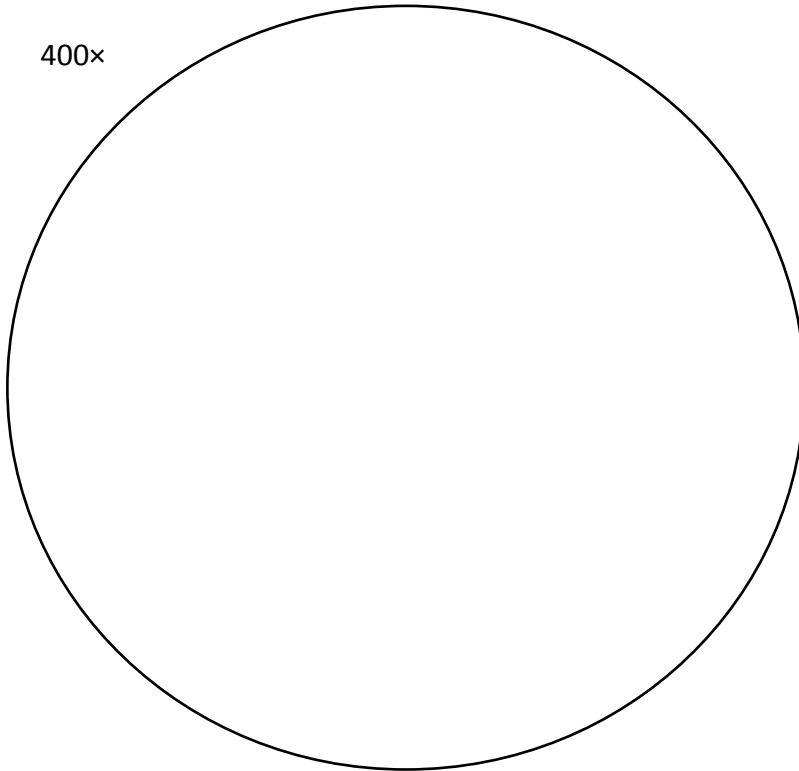
Trvalý preparát: nálevník - opalinka žabí (*Opalina ranarum*)

Preparát nejprve pozorujte při menších zvětšeních (40× a 100×), tak abyste viděli větší plochu zorného pole. Až najdete hledaný objekt, použijte větší zvětšení 400×.

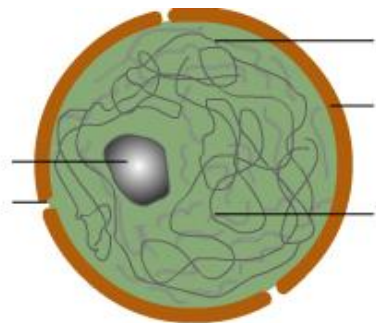


➤ Zakreslete opalinku žabí (*Opalina ranarum*)

400×



1. Doplňte písmena k jednotlivým strukturám jádra eukaryotické buňky



- A) jadérko
- B) jaderné póry
- C) chromatin
- D) dvojitá jaderná membrána
- E) nukleoplasma

2. V které fázi buněčného cyklu je v jádře buňky viditelné jadérko?

BUNĚČNÉ ORGANELY – GOLGIHO APARÁT

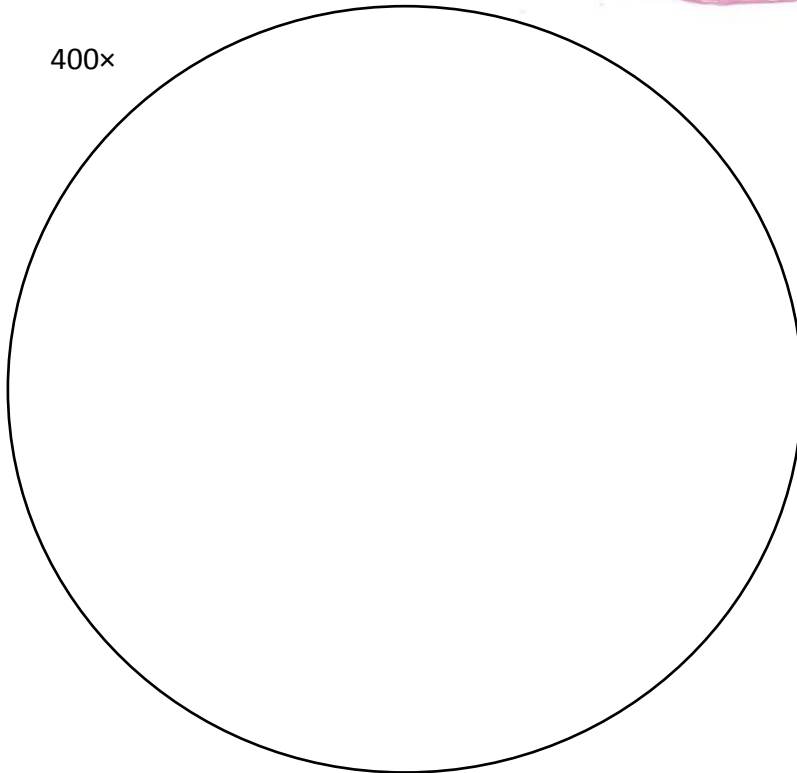
Trvalý preparát: tenké střevo (stříbřené a dobarvené hematoxylin-eosinem)

Do středu zorného pole zastavte klky střevní sliznice a při větším zvětšení (400×) prohlédněte jejich povrchové buňky (enterocyty). V apikální (horní) části enterocytu nad fialově zbarveným jádrem můžete nalézt Golgiho aparát v podobě hnědého klubkovitého útvaru.

- **Zakreslete průřez klkem s enterocyty. Vyznačte Golgiho aparát a jádra**



400×



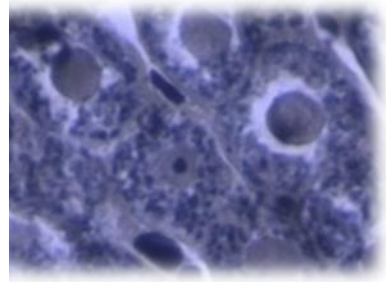
1. K čemu slouží Golgiho aparát v živočišné buňce?

2. Nakresli schéma Golgiho aparátu

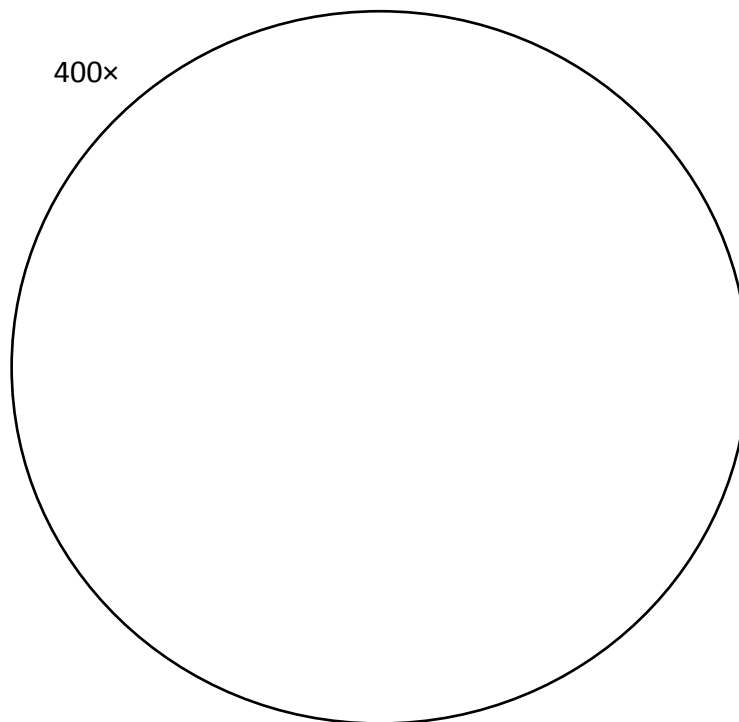
BUNĚČNÉ ORGANELY – MITOCHONDRIE

Trvalý preparát: játra obarvená na mitochondrie (podle Heidenheina)

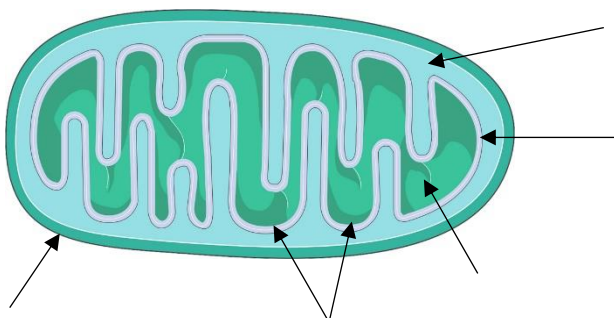
V jaterních buňkách (hepatocyty) je možné po obarvení vidět mitochondrie jako drobné, tmavě zbarvené čárkovité až oválné útvary. Obarvená jsou i jádérka na světle šedavém pozadí buněčných jader (nebo naopak světlá na tmavém pozadí).



➤ **Zakreslete jaterní buňku (hepatocyt) s mitochondriemi.**



1. Doplňte čísla k obrázku mitochondrie



1. vnější membrána
2. vnitřní membrána
3. kristy tvořené vnitřní membránou
4. matrix
5. mezimembránový prostor

2. K čemu slouží v buňce mitochondrie?

3. Doplňte větu: Na membráně mitochondrií dochází k syntéze molekul ATP při procesu zvaném

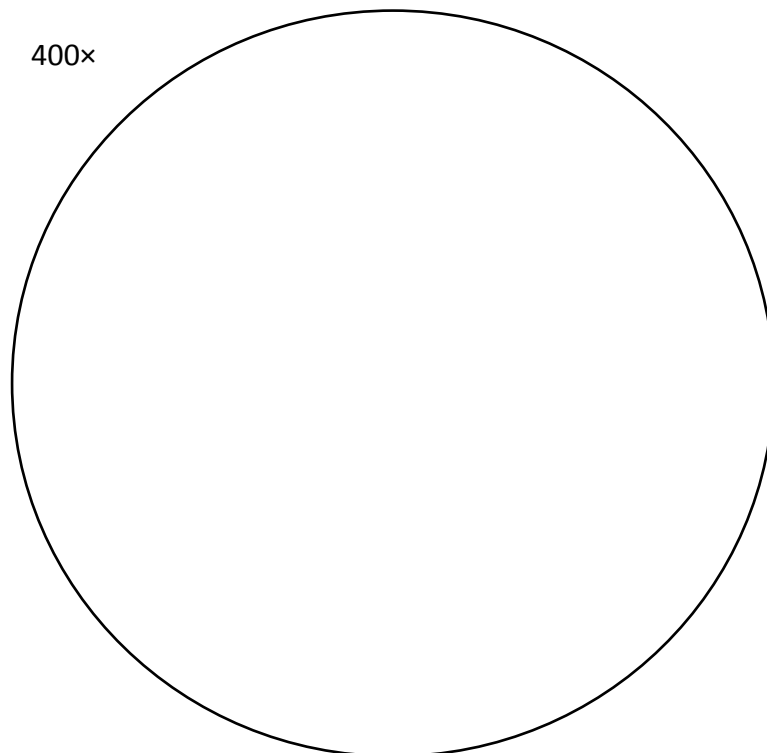
PIGMENTOVÉ INKLUZE

Trvalý preparát: kůže žáby - melanofory

V mikroskopu budou viditelné buňky epidermis žáby s tmavým pigmentem melaninem (tzv. chromatofory resp. melanofory). Buněčné inkluze v podobě drobných hnědých zrněk se v cytoplasmě shlukují do hvězdicovitých útvarů s různě dlouhými výběžky.



- **Zakreslete buňky epidermis (melanofory) žáby obsahující inkluze pigmentu melaninu**



1. K čemu slouží v buňce pigment melanin?

2. Zakroužkujte ANO/NE dle pravdivosti jednotlivých tvrzení

- | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 1. Eukaryotická buňka je vývojově mladší než prokaryotická buňka | ANO – NE |
| 2. Průměrná velikost eukaryotické buňky se pohybuje kolem 10 - 100 μm | ANO – NE |
| 3. Mezi eukaryota patří houby, rostliny a živočichové | ANO – NE |
| 4. Jádra eukaryotických buněk mohou mít různý tvar a může jich být více v jedné buňce | ANO – NE |
| 5. Na membránách Golgiho aparátu probíhá proces oxidativní fosforylace | ANO – NE |
| 6. Mitochondrie je zásobárnou vápníku pro buňky | ANO – NE |
| 7. Hladké endoplasmatické retikulum nemá ribozomy a probíhá v něm syntéza lipidů | ANO – NE |
| 8. Mitochondrie mají chromozomy s cirkulární dvouřetězcovou DNA bez histonů | ANO – NE |
| 9. Lysozomy obsahují především trávicí enzymy a dochází v nich ke kyselé hydrolýze | ANO – NE |
| 10. Živočišná buňka je od vnějšího prostředí ohraničena buněčnou stěnou | ANO – NE |

Cvičení 3: POHYB A DRÁŽDIVOST

Jméno:

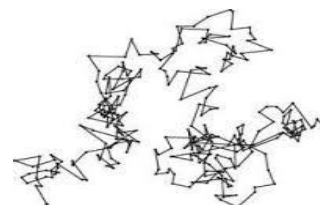
Skupina:



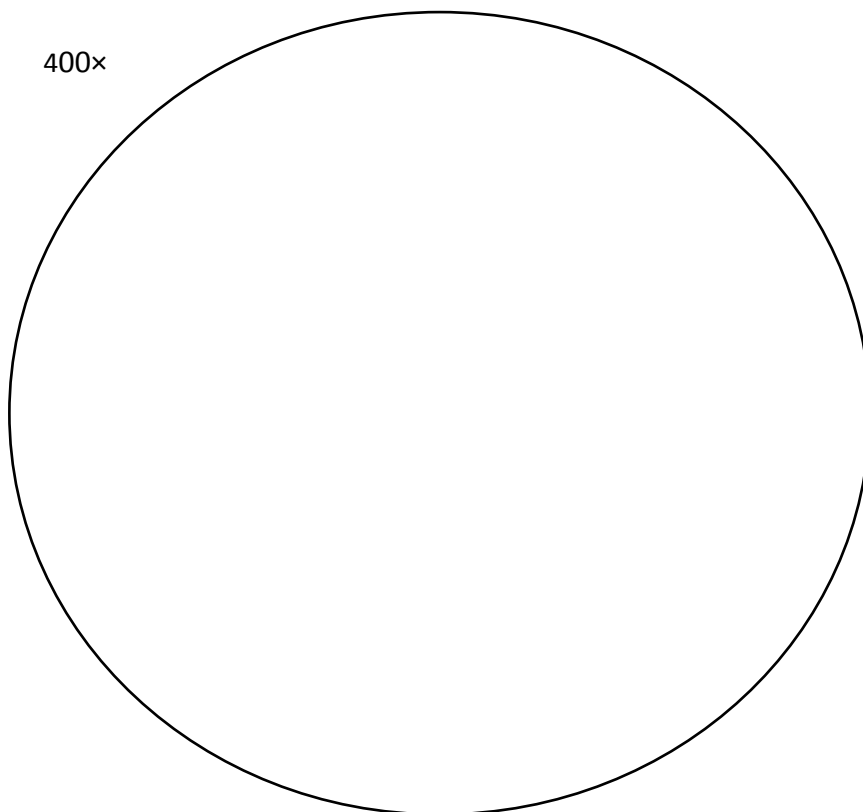
BROWNŮV MOLEKULÁRNÍ POHYB

Kápněte na podložní sklo suspenzi oxidu železitého (Fe_2O_3) a přikryjte krycím sklem a pozorujte pohyb jedné malé částice.

➤ Zakreslete trajektorii pohybu této částice



400×



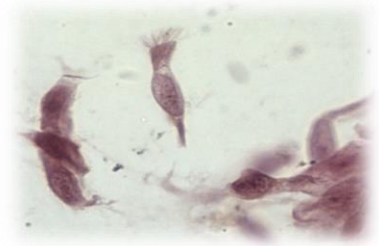
Vyberte správnou odpověď (nehodící se škrtněte):

1. Brownův molekulární pohyb je náhodný/orientovaný pohyb makroskopických/mikroskopických částic v plynném nebo kapalném médiu.
2. Brownův molekulární pohyb je závislý na mechanické/chemické/kinetické energii molekul vody/ATP.
3. Čím je pohybující se částice větší/menší, tím je pohyb výraznější/méně výrazný.

BUŇKY S ŘASINKAMI

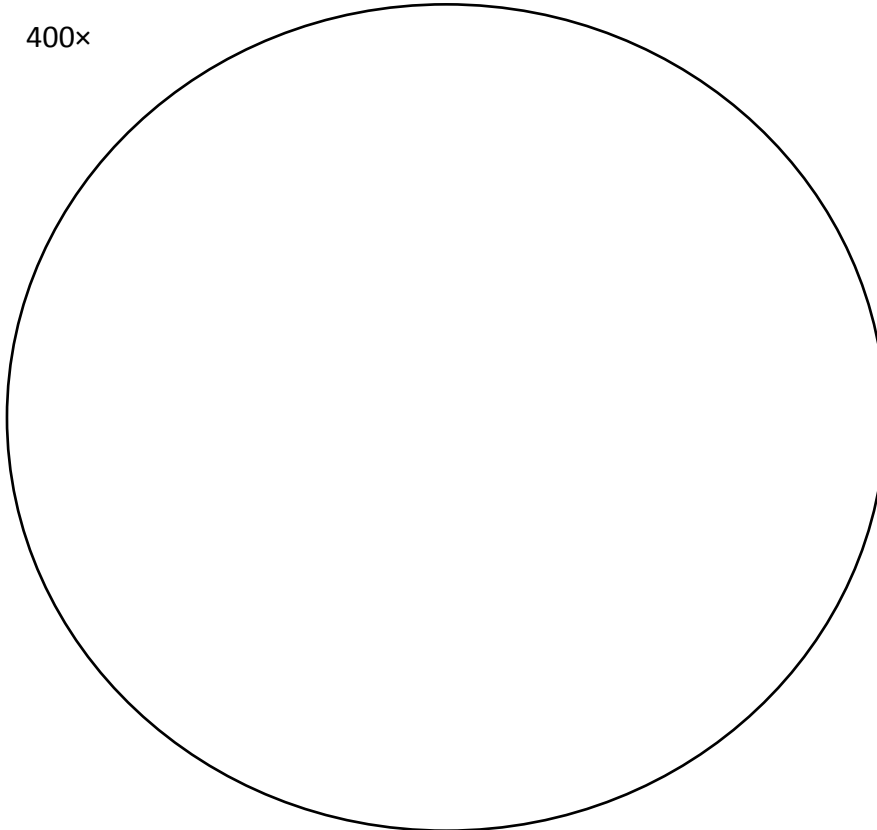
Trvalý preparát: buňky s řasinkovým epitelem obarvené hematoxylin-eosinem

Pozorujte a zakreslete buňky cylindrického nebo kónického tvaru s viditelným jádrem a řasinkami na širší základně.



➤ **Zakreslete a popište buňky řasinkového epitelu.**

400×



1. Doplňte šedá políčka v tabulce:

POHYB	VLÁKNA	MOLEKULOVÝ MOTOR
řasinkový		
		myosin I
bičíkový		
		myosin II

2. Které buňky v lidském těle mají na svém povrchu řasinky? K čemu tyto řasinky slouží?

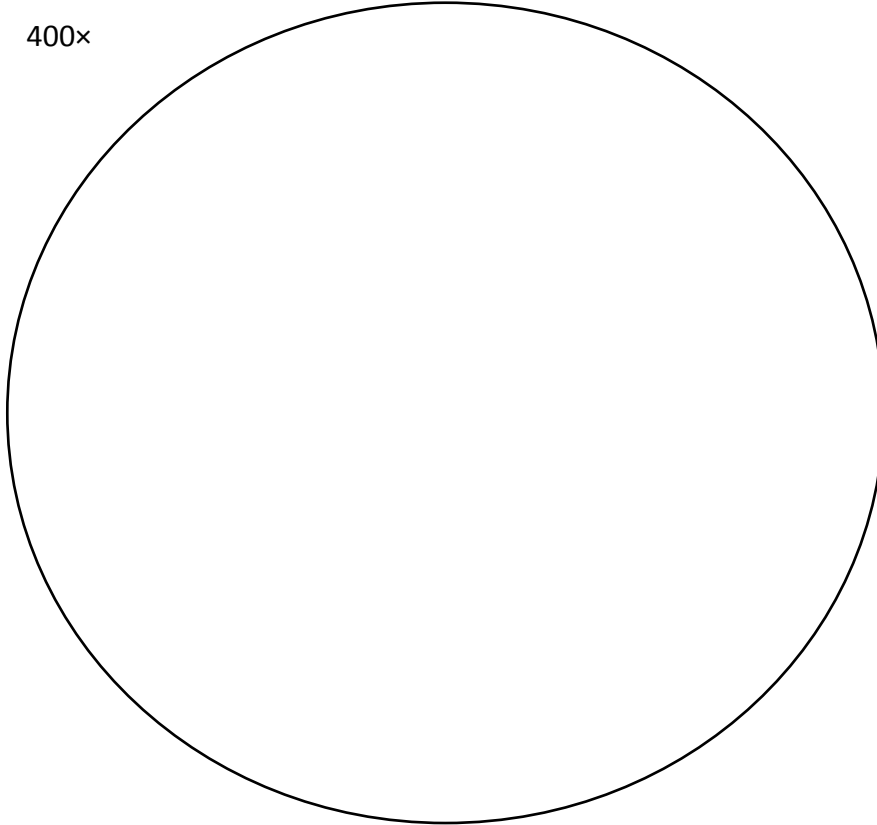
ŘASINKOVÝ POHYB

Nativní preparát: senný nálev/detrit z akvária

Pozorujte řasinkový pohyb u obrvených nálevníků ze senného nálevu, případně na povrchu mikroskopických živočichů z akvária (ploštěnky, vířníci).

➤ **Zakreslete a popište nálevníka**

400×



1. Napište pod jednotlivé obrázky správný název (vířník, bobovka, háďátko, slávinka)



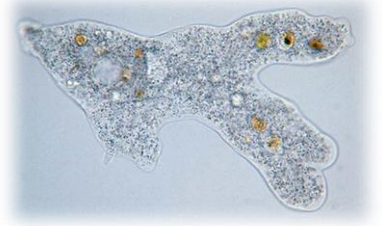
.....

2. Jaké 2 typy vakuol se nachází u nálevníků a k čemu slouží?

AMÉBOIDNÍ POHYB

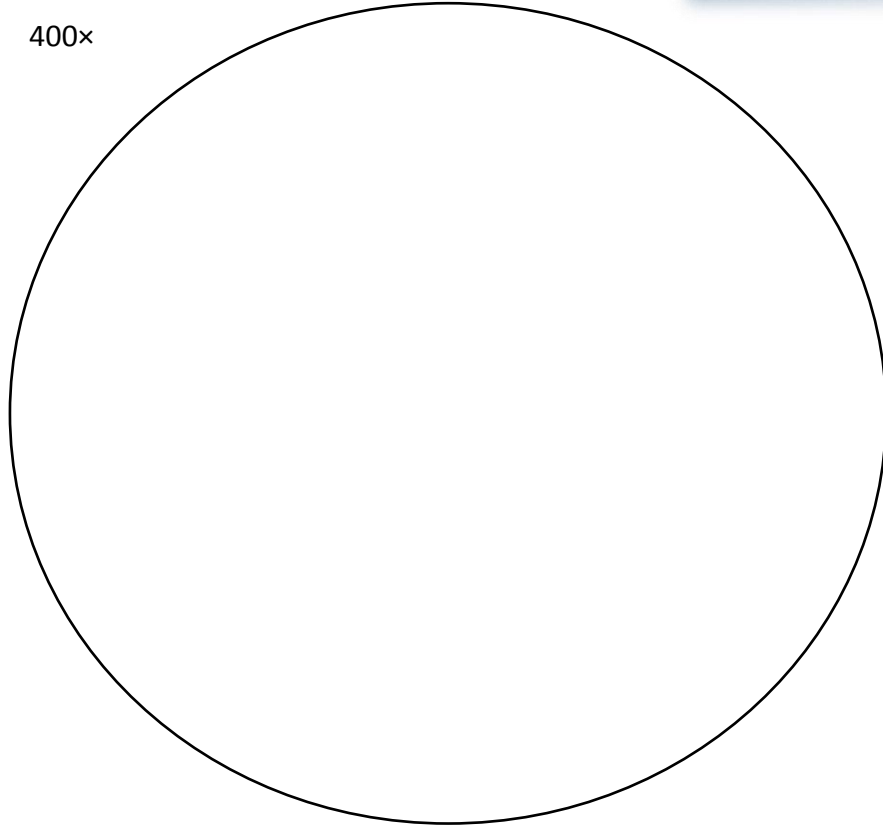
Nativní preparát: senný nálev/video:

Připravte nativní preparát z povrchové blanky senného nálevu a pozorujte améby, případně shlédněte video.

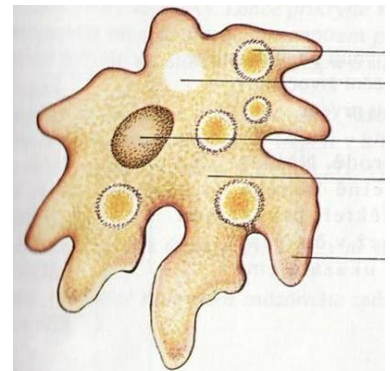


➤ **Pozorujte a zakreslete měňavku a vyznačte její pohyb**

400×



1. Přiřaďte správně pojmy k obrázku měňavky (jádro, potravní vakuola, panožka, cytoplazma, pulzující vakuola)



2. Popište princip améboidního pohybu (jaká cytoskeletální vlákna a motor se na tomto pohybu podílí?)

BIČÍKOVÝ POHYB

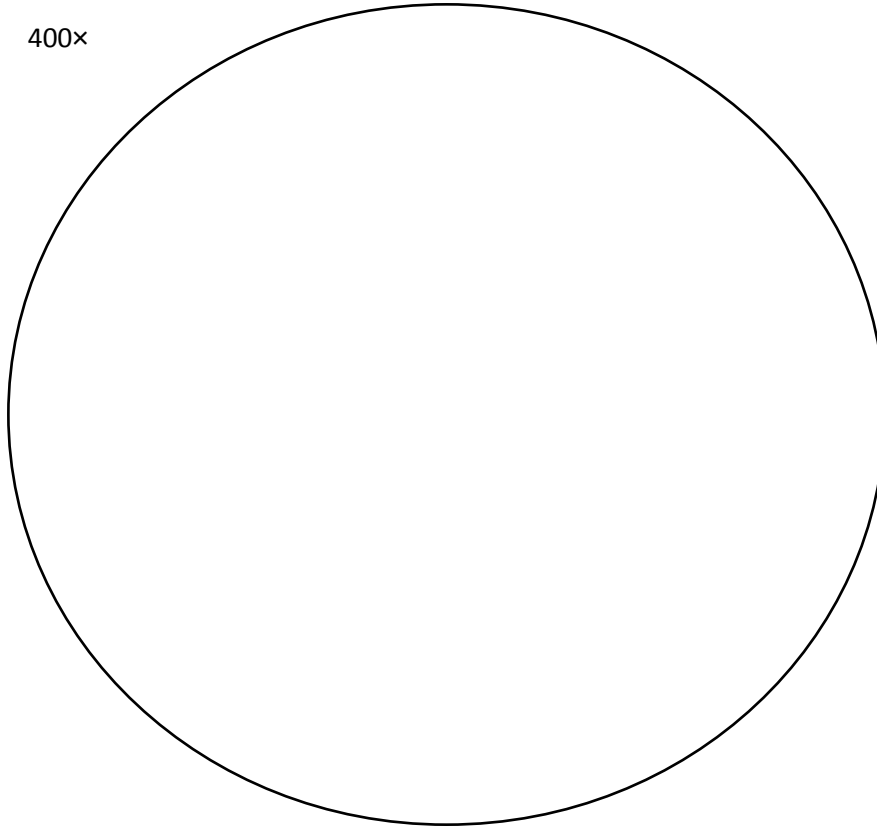
Nativní preparát: spermie, senný nálev/video

Pozorujte bičíkový pohyb u spermií (případně bičíkoců ze senného nálevu). Pro zpomalení pohybu odsajte část vody pod sklíčkem pomocí filtračního papíru.

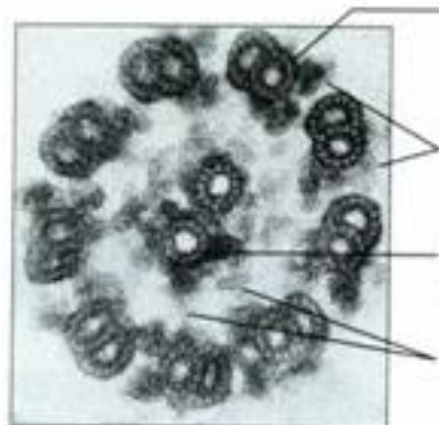


➤ **Zakreslete spermii a vyznačte její pohyb**

400×



1. Přiřaďte správně pojmy k průřezu bičíku (dynein, mikrotubulový pár, centrální mikrotubuly, radiální spojka)

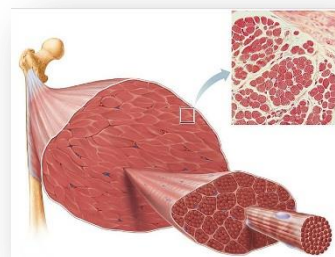


2. Doplňte do věty čísla: Hlavní strukturu kinocilií tvoří.....párů mikrotubulů, tzv. struktura+.....

STRUKTURA PŘÍČNĚ PRUHOVANÉHO SVALU

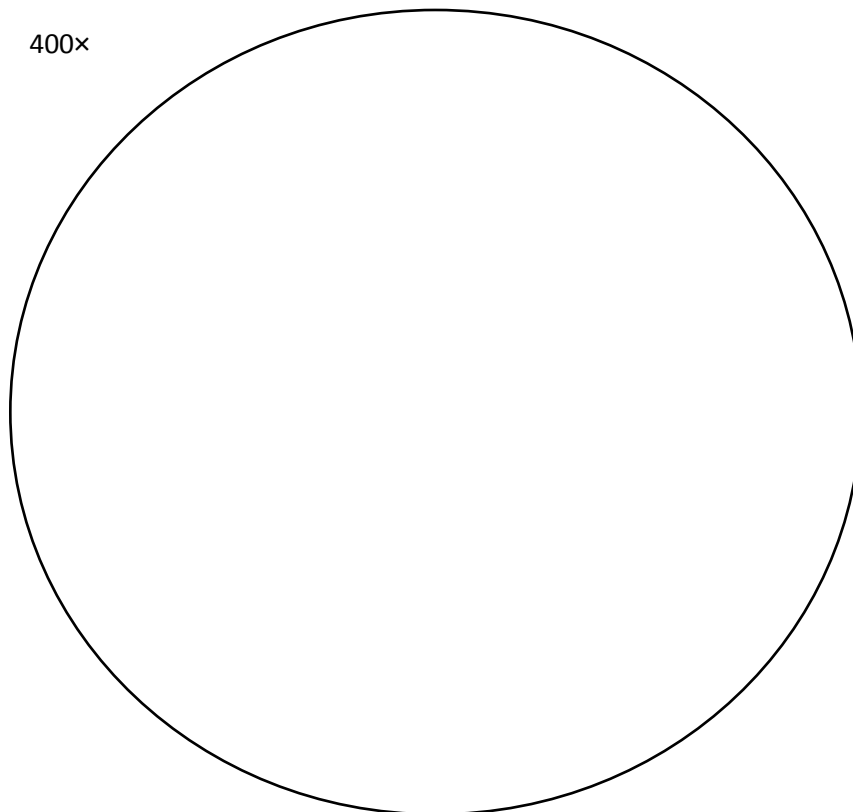
Trvalý preparát: příčně pruhovaný sval z končetiny hmyzu obarvený Heidenheinovým hematoxylinem a preparát obarvený haematoxylin-eosinem

Pozorujte oba dva preparáty a zakreslete příčné pruhování svaloviny, které je způsobené rozdílnou barvitelností cytoskeletálních vláken.

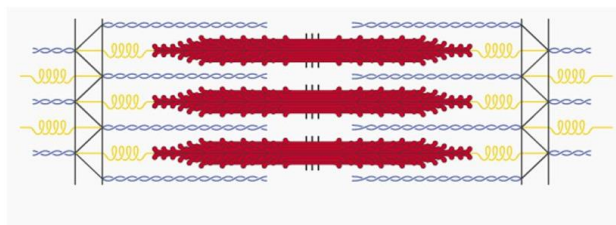


➤ Zakreslete a popište příčně pruhovaný sval

400×



1. Přiřaďte pojmy k obrázku (Z linie, sarkomera, myosin, aktin)



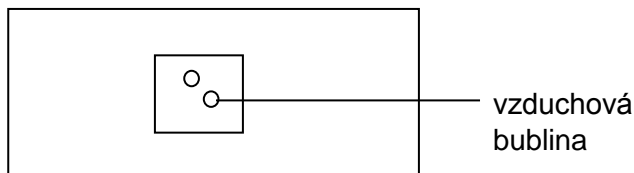
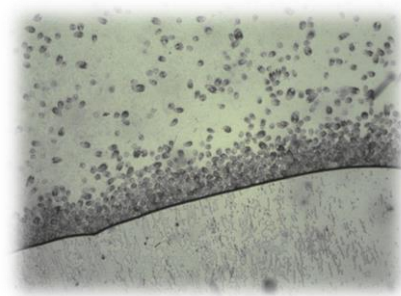
2. Doplňte

- Jak se nazývá základní kontraktlní jednotka svalu?
- Která minerální látka se uplatňuje při svalovém stahu?
- Jaké dva typy cytoskeletálních vláken se uplatňují při svalovém stahu?
- Jaké bílkoviny blokují svalový stah?

OXYGENOTAXE U NÁLEVNÍKŮ

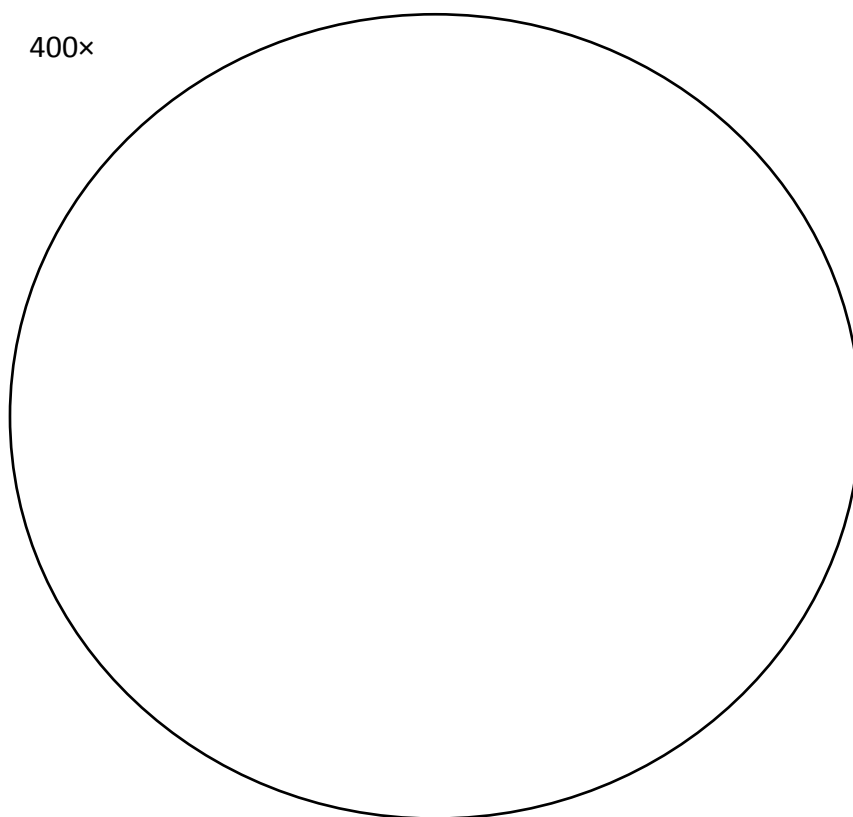
Nativní preparát: senný nálev

Připravte nativní preparát ze senného nálevu a přikryjte krycím sklíčkem tak, aby pod sklíčkem vznikly vzduchové bubliny (podobný jev můžete pozorovat při krajích krycího sklíčka). Pozorujte, jak budou reagovat nálevníci.



➤ **Zakreslete a popište, k čemu dojde**

400x



1. Přiřadte správně pojmy k typům pohybu (chemotaxe, fototaxe, oxygenotaxe)

- pohyb do prostředí se zvýšenou koncentrací kyslíku
- pohyb vyvolaný přítomností chemické látky
- pohyb orientovaný ke světlu

2. Doplňte:

Vyvolaný pohyb orientovaný směrem k podnětu se nazývá **taxe**

Vyvolaný pohyb orientovaný směrem od podnětu se nazývá **taxe**

Cvičení 4: CHEMICKÉ SLOŽENÍ BUŇKY, PROKARYOTA

Jméno:

Skupina:

PROKARYOTA



PŘÍPRAVA TRVALÉHO PREPARÁTU SUCHOU CESTOU – ROZTĚR BAKTERIÍ

Praktický úkol: bakterie (koky, tyčky)

- vyžehněte bakteriologickou kličku v plamenu a nechte chvíli vychladnout
- proveďte kličkou stěr z povrchu agarové půdy porostlé koloniemi bakterií (zástupci Gram-pozitivních a Gram-negativních bakterií)
- obsah kličky homogenizujte v kapce vody (čím menší, tím lepší) na podložním sklíčku
- fixujte nad plamenem (3x protáhnout nad plamenem roztěrem nahoru)
- obarvíte preparát dle Grama



Barvení dle Grama:



VLAK (violeť-Lugol-alkohol-karbofuchsin)

- na sklíčko s roztěrem bakterií kápněte barvivo **krystalová violeť (3 min)**
- slijte do Petriho misky, opláchněte destilovanou vodou a převrstvěte **Lugolovým roztokem (2KI + I + H₂O) (2 min)**
- slijte, opláchněte destilovanou vodou a přidávejte alkohol (**etanol**), dokud se bude barvivo vyplavovat (šetřete ale alkoholem!)
- opláchněte destilovanou vodou a převrstvěte **karbofuchsinem (1,5 min)**
- opláchněte destilovanou vodou a zlehka osušte preparát filtračním papírem



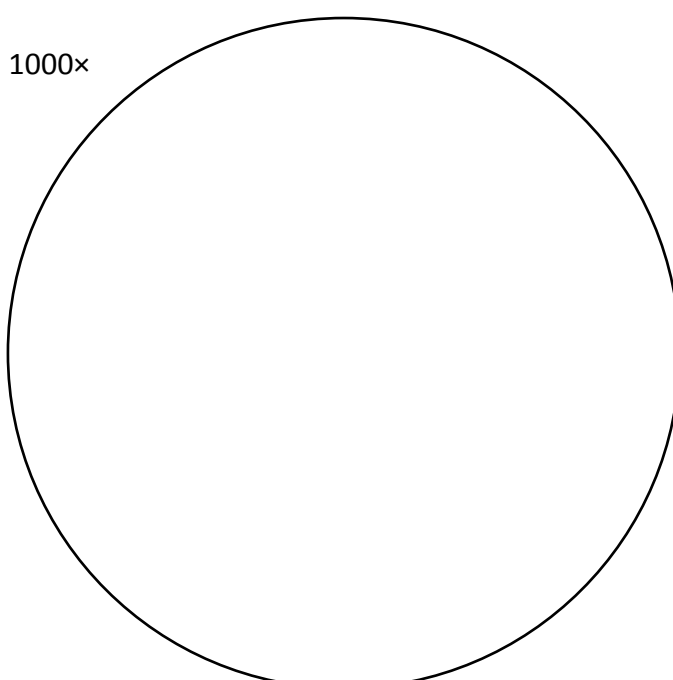
PROKARYOTA – POUŽITÍ IMERZNÍHO OBJEKTIVU

- zastavte preparát s bakteriemi pod všemi objektivy (od 4× až po 100×), nejděte vhodné místo k pozorování a vystředte objekt v zorném poli, pootočte revolverový měnič objektivů a na krycí sklo kápněte **imerzní olej**
- sjeďte stolkem dolů, nastavte imerzní objektiv (100×) do optické osy mikroskopu a zaostřete preparát pomocí makroposuvu a mikroposuvu

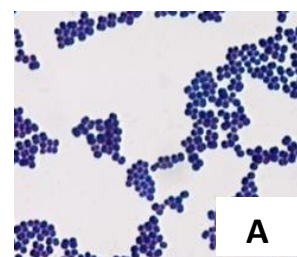


!!! (po skončení práce s imerzním objektivem je nutné očistit čočku objektivu i sklíčko preparátu ethanolem)

- **Pozorujte preparát s obarvenými bakteriemi pod imerzním objektivem a zakreslete oba typy bakterií**

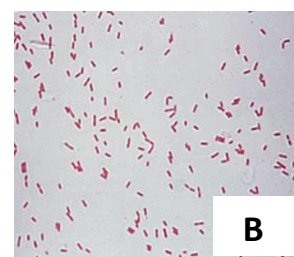


1. Které bakterie se nachází na obrázku A a B, z hlediska barvení Gram? Uveďte konkrétní příklady jejich zástupců.



A

2. Vysvětlete, proč dochází při Gram barvení k rozdílnému obarvení buněčné stěny u G+ a G- bakterií.

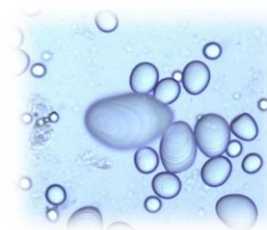


B

CHEMICKÉ SLOŽENÍ BUŇKY – PRŮKAZ ŠKROBU

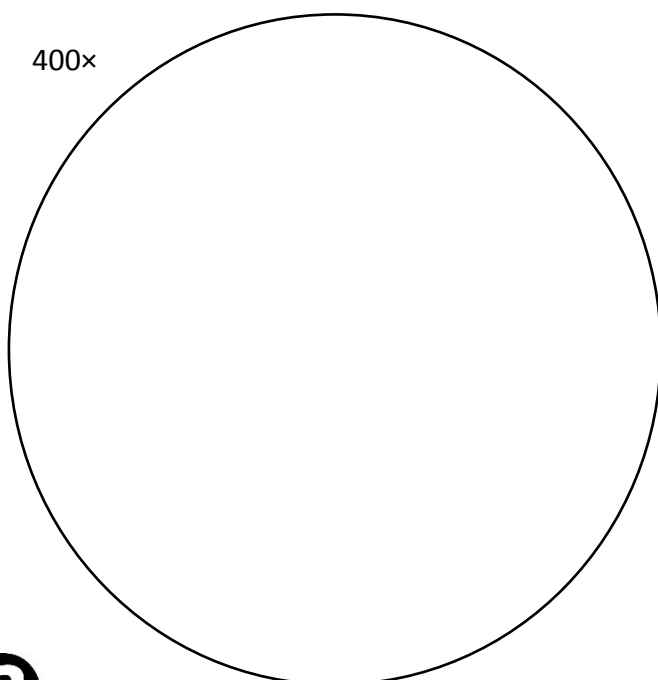
Praktický úkol: brambor

Rozkrojte bramborovou hlízu, skalpelem setřete tekutinu z povrchu řezné plochy a naneste na podložní sklo. Přidejte vodu a přikryjte krycím sklíčkem.

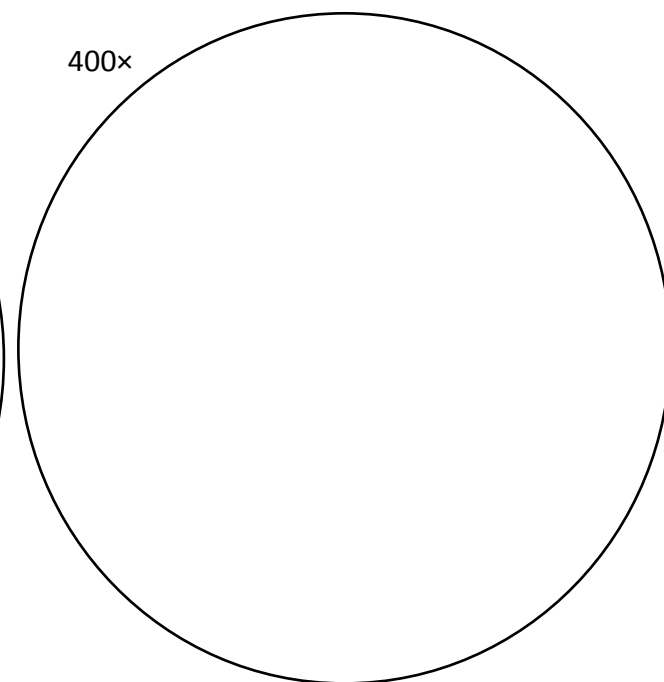


- **Nakreslete škrobové zrnó – všiměte si jaký má tvar a zbarvení**
- **Přidejte k preparátu Lugolův roztok ($2KI + I_2 + H_2O$) a znovu nakreslete škrobové zrnó**

400×

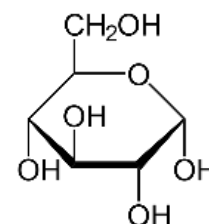


400×



1. Jak se změnila barva škrobových zrn?

2. K čemu se v praxi využívá barvení škrobu?



3. Doplňte do vět správné názvy sacharidů:

a) Hlavním energetickým zdrojem pro buňku je Sumární vzorec je

b) Zásobní polysacharid u živočichů je....., u rostlin

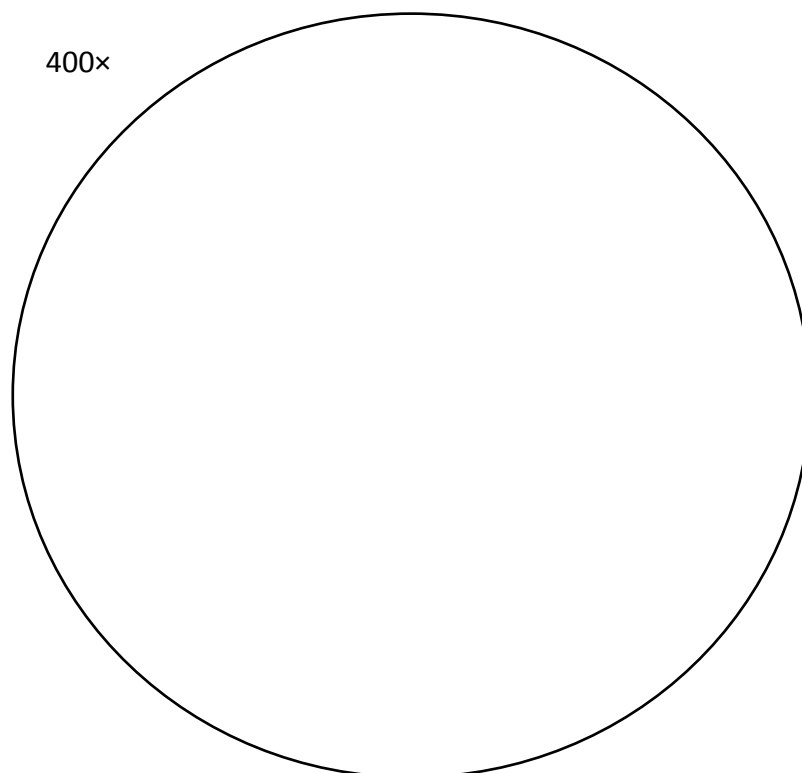
c) Polysacharid nacházející se v buněčné stěně hub je, v buněčné stěně rostlin

CHEMICKÉ SLOŽENÍ BUŇKY – PRŮKAZ TUKŮ V BIOPLAZMĚ

Trvalý preparát: jaterní tkáň s tukovou infiltrací barvená na tuky (Sudan III, olejová červeň)

Tuk se v buňce nachází v podobě tukových kapének, nebo vyplňuje celý obsah buňky.

➤ **Nakreslete jaterní buňky s tukovými kapénkami**



1. Jakou barvu mají tukové kapénky?

2. V které buněčné organelle dochází k syntéze lipidů?

3. Přiřadte pojmy k jednotlivým funkcím lipidů:

- | | |
|---------------------------------------------|--------------------|
| A) podkožní tuk | 1. zásoba energie |
| B) tukové kapénky | 2. strukturní |
| C) orgánový tuk | 3. signální |
| D) součást biologických membrán | 4. metabolická |
| E) vitamíny rozpustné v tucích (A, D, E, K) | 5. ochranná |
| F) steroidní hormony | 6. tepelná izolace |

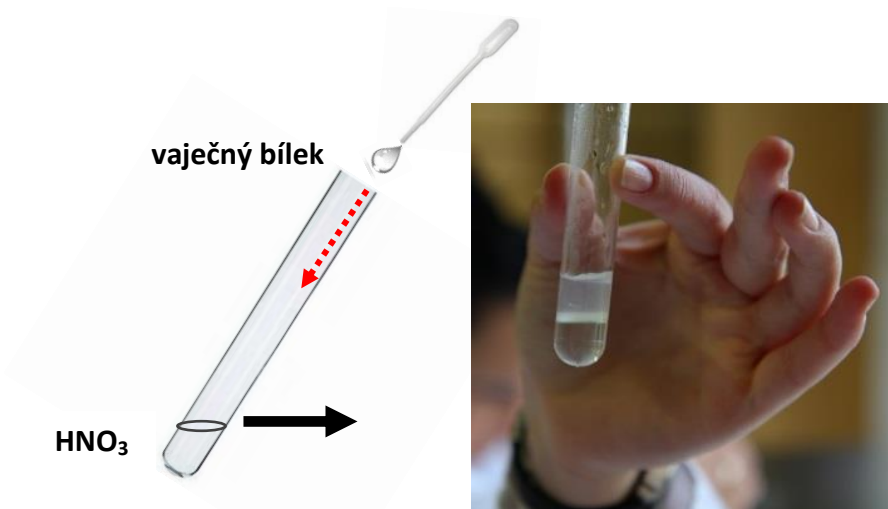
4. Nakresli a popiš strukturu biomembrány. Jaké lipidy jsou součástí membrán?

CHEMICKÉ SLOŽENÍ BUŇKY – PRŮKAZ BÍLKOVIN

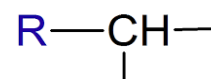
(HELLEROVA ZKOUŠKA - SRÁŽECÍ REAKCE S KONCENTR. KYS. DUSIČNOU)

Praktický úkol: vaječný bílek

Do zkumavky nalijte asi 2 ml koncentrované **kyseliny dusičné (HNO₃)** a po stěně zkumavky přilijte vodný roztok vaječného bílku tak, aby nedošlo k promíchání tekutin. Na styčné ploše obou vrstev se vytvoří bílý prstenec.



1. Čím je tvořen bílý prstenec vzniklý ve zkumavce?
2. Jaké další metody lze použít k průkazu bílkovin?
3. Na které buněčné organele jsou syntetizovány proteiny?
4. Jak se nazývá vazba, kterou jsou spojeny aminokyseliny v bílkovině?
5. Doplňte a popište obecný vzorec aminokyselin



6. Nakresli a popiš 2 typy sekundární konformace bílkovin:

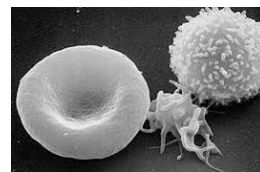
7. Uveď konkrétní příklady u funkcí bílkovin:

1. stavební
2. enzymatická
3. informační
4. transportní

Cvičení 5: VYŠETŘENÍ KRVE

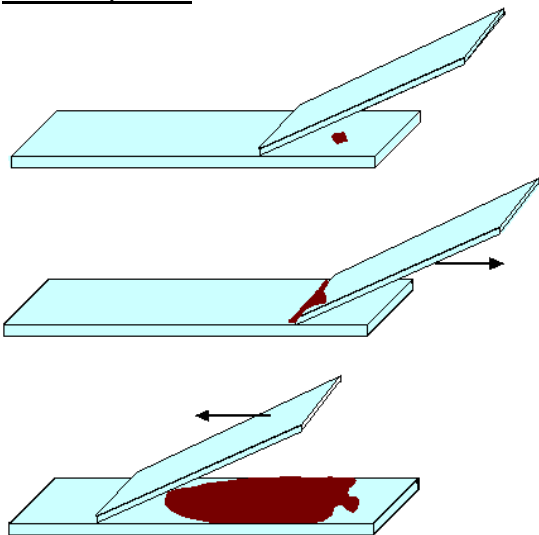
Jméno:

Skupina:



PŘÍPRAVA TRVALÉHO PREPARÁTU SUCHOU CESTOU - KREVNÍ NÁTĚR

Praktický úkol:



1. K jedné straně podložního skla kápněte malou kapku savčí krve.

2. Před kapku přiložte pod úhlem 45° podložní sklo se zabroušenými rohy a nechte krev roztéct podél hrany sklíčka.

3. Plynulým tahem roztáhněte kapku po podložním skle.

4. Krevní nátěr nechte zaschnout a prohlédněte jej pod mikroskopem.

Závěr (*nehodící se škrtněte*): V preparátu pozorujeme jaderné/bezjaderné savčí erythrocyty oválného/kruhovitého tvaru se světlejším/tmavším středem.



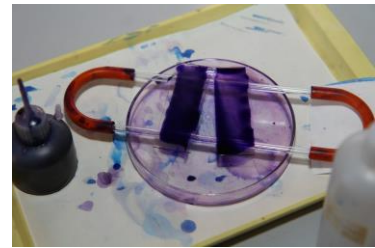
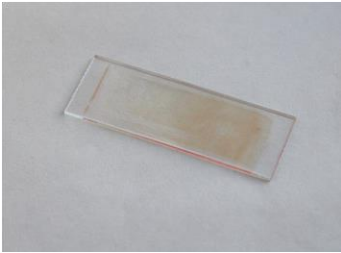
Zakroužkujte ANO/NE dle pravdivosti jednotlivých tvrzení

- | | |
|---------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 1. Mezi základní metody pro vyšetření krve patří metoda sérologická | ANO – NE |
| 2. Krevní obraz nám poskytuje jen údaj o počtu krevních elementů | ANO – NE |
| 3. Krevní destičky mají ledvinovité jádro | ANO – NE |
| 4. Lymfocyty a monocyty patří mezi červené krvinky | ANO – NE |
| 5. Krevní destičky se podílí na procesu srážení krve | ANO – NE |
| 6. Ptačí erythrocyty jsou bezjaderné | ANO – NE |
| 7. Savčí a ptačí erythrocyty mají stejnou velikost | ANO – NE |

BARVENÍ KREVNIHO NATĚRU (PANOPTICKÉ BARVENÍ DLE PAPPENHEIMA)

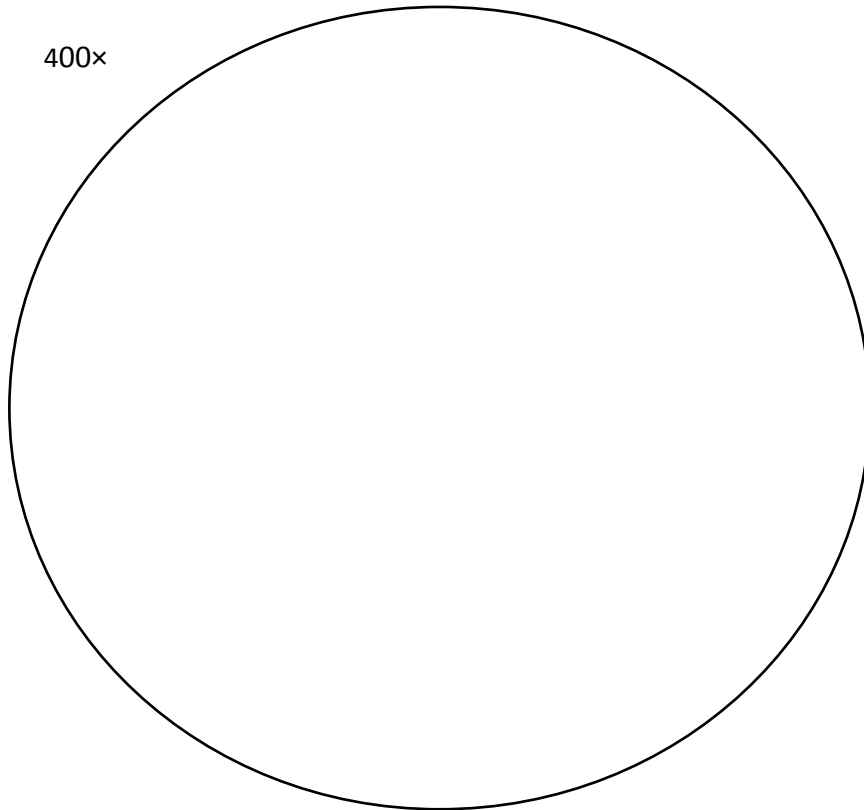
Praktický úkol:

1. nechte zaschnout krevní nátěr (viz předchozí úkol)
2. převrstvěte barvivem **May-Grünwald** (5 min)
3. přidejte **destilovanou vodu** (5 min)
4. slijte barvivo a převrstvěte barvivem **Giemsa-Romanowski** (10 min)
5. slijte barvivo a opláchněte **destilovanou vodou**
6. nechte zaschnout a pozorujte obarvený krevní nátěr (viditelné bílé krvinky)



- **Nakreslete a popište, které krevní buňky vidíte po obarvení v preparátu**

400×

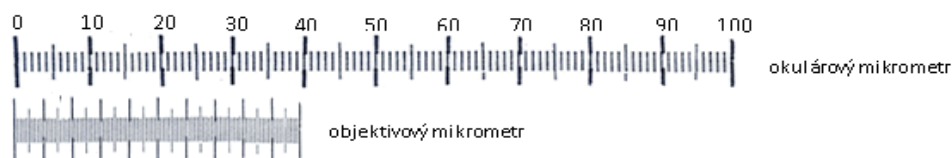


K čemu slouží barvení dle Pappenheima? Co se barví a jak?

MĚŘENÍ VELIKOSTI MIKROSKOPICKÝCH OBJEKTŮ

Trvalý preparát (ptačí krev), nativní preparát (savčí krev)

Měření velikosti objektů se provádí pomocí okulárového mikrometru (měřítka), který je umístěn v jednom z okulárů. Při měření velikosti objektu je třeba zjistit, kolika dílkům okulárového mikrometru odpovídá měřený objekt. Tento počet dílků se vynásobí mikrometrickým koeficientem pro daný objektiv (každý objektiv má svůj koeficient) a výsledek se vyjádří v μm .

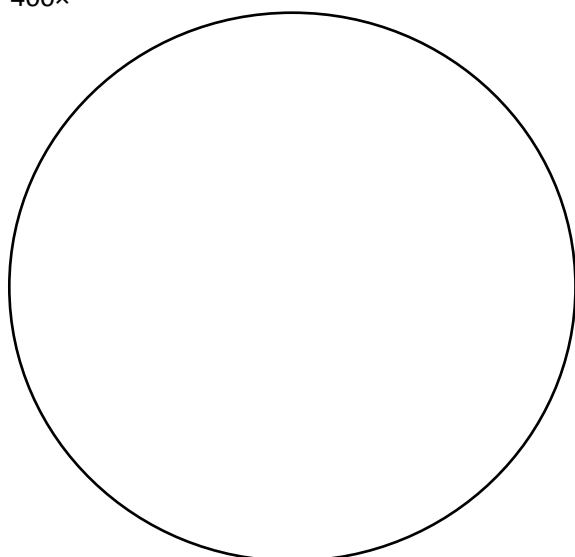


Mikrometrické koeficienty pro různé objektivy: **25** (4 \times), **10** (10 \times), **2,5** (40 \times), **1** (100 \times)

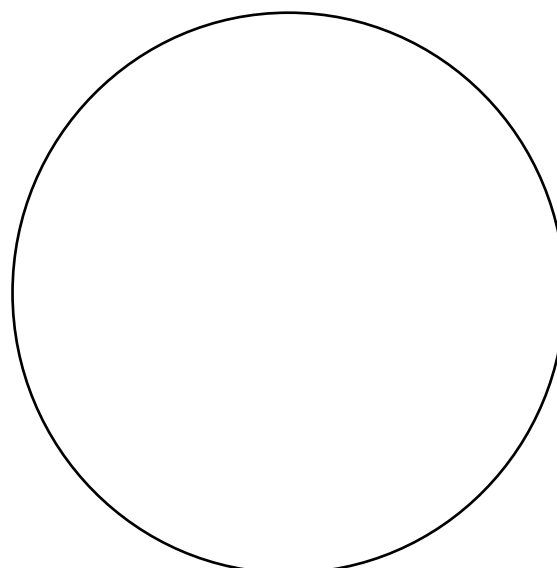
➤ **Nakreslete a změřte ptačí erythrocyt**

Nakreslete a změřte savčí erythrocyt

400 \times



400 \times



Velikost ptačího erythrocytu je

Velikost savčího erythrocytu je



Uvedte, jaký je rozdíl mezi ptačím a savčím erythrocytem (tvar, velikost a přítomnost jádra):

Ptačí:

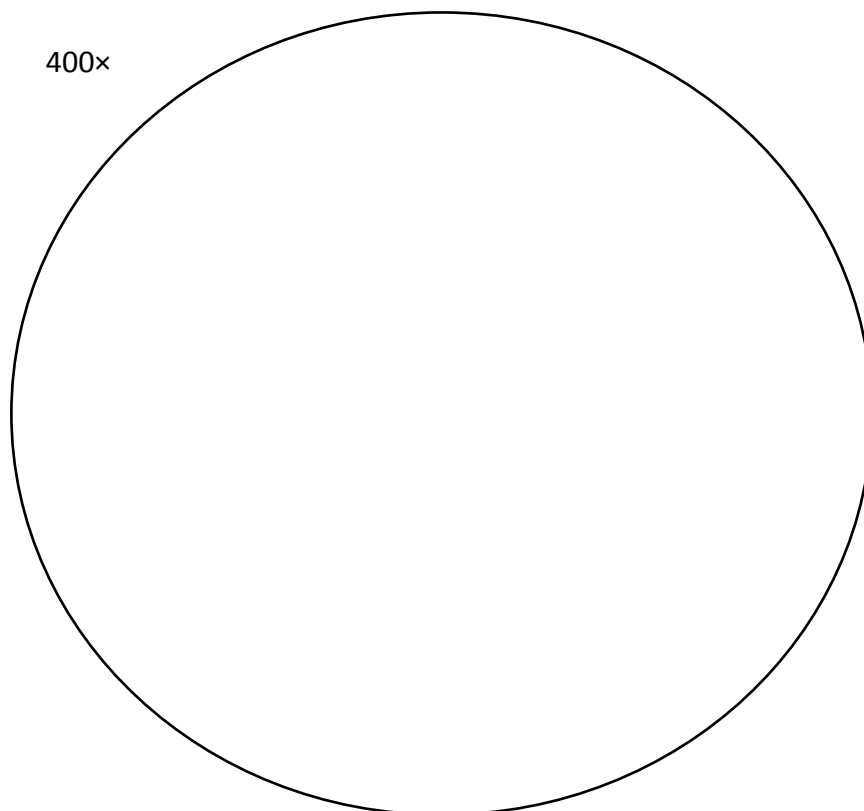
Savčí:

PLAZMORHIZA

Praktický úkol: krev, 1M KNO₃

Na podložní sklo naneste kapku krve a přikápněte k ní kapku **1M KNO₃**. Po přiložení krycího skla pozorujte, co se bude dít s krvinkami.

➤ **Zakreslete červené krvinky**



➤ **Závěr** (doplňte, k čemu došlo, a jaký to mělo vliv na červené krvinky):



Doplňte nebo vyberte (zakroužkujte):

1. Z hlediska osmotických jevů rozlišujeme tři typy prostředí:
2. Plazmorhiza je jev, ke kterému dochází u buněk v prostředí.
3. Při plazmorhize dochází k exosmóze/endosmóze, což znamená, že voda proudí do buňky/z buňky ven a následně se buňka svraští/buňka praskne

OSMOTICKÁ HEMOLÝZA

MAKROSKOPICKY

- Do dvou zkumavek nalijte po 1 ml savčí krve. Do jedné ze zkumavek přidejte 3 ml fyziologického roztoku a do druhé stejné množství destilované vody. Mírně protřepejte, porovnejte obě zkumavky a zamyslete se nad tím, k čemu ve zkumavkách došlo.



Vyberte správné odpovědi (zakroužkujte)

1. Ve zkumavce s **destilovanou vodou** je prostředí hypotonické/hypertonické/izotonické, voda se dostává do buněk/ven z buňky a dochází k prasknutí buněk/svraštění buněk a vyplavení myoglobinu/hemoglobinu. Při provedení čtecí zkoušky je výsledek negativní/pozitivní, zkumavka je průhledná/neprůhledná. Voda byla ve zkumavce A/B.
2. Ve zkumavce s **fyziologickým roztokem** je prostředí hypotonické/hypertonické/izotonické. Při provedení čtecí zkoušky je výsledek negativní/pozitivní, zkumavka je průhledná/neprůhledná. Fyziologický roztok byl ve zkumavce A/B.

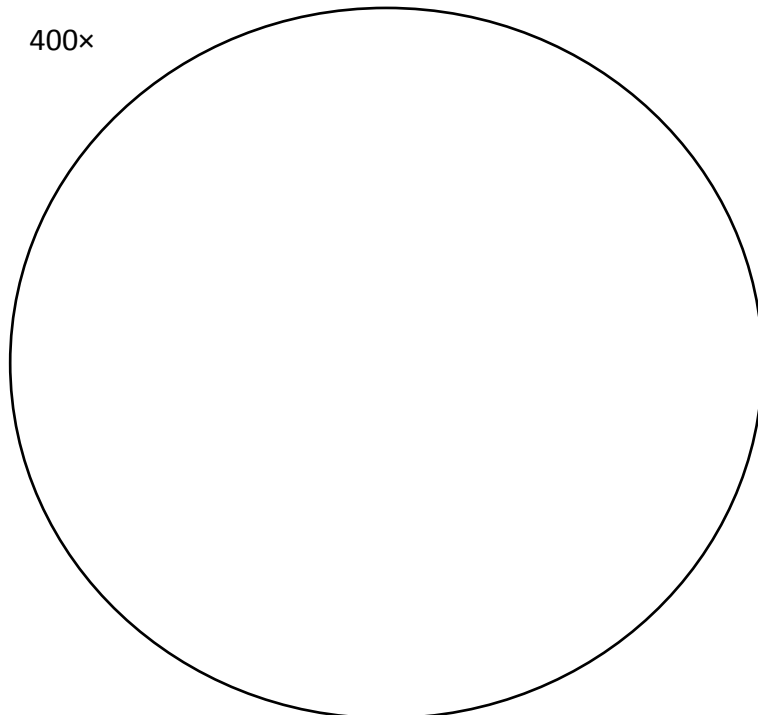


MIKROSKOPICKY

- Na podložní sklíčko naneste malou kapku krve a přikryjte krycím sklíčkem. K okraji sklíčka kápněte kapku destilované vody. Pozorujte pod mikroskopem a nakreslete změněné erythrocyty.



400×



- **Závěr (vyberte správnou odpověď):** V preparátu pozorujeme postupné ubývání/přibývání erythrocytů, způsobené jejich praskáním/bobtnáním. Erythrocyty jsou hůře viditelné/stejně viditelné.

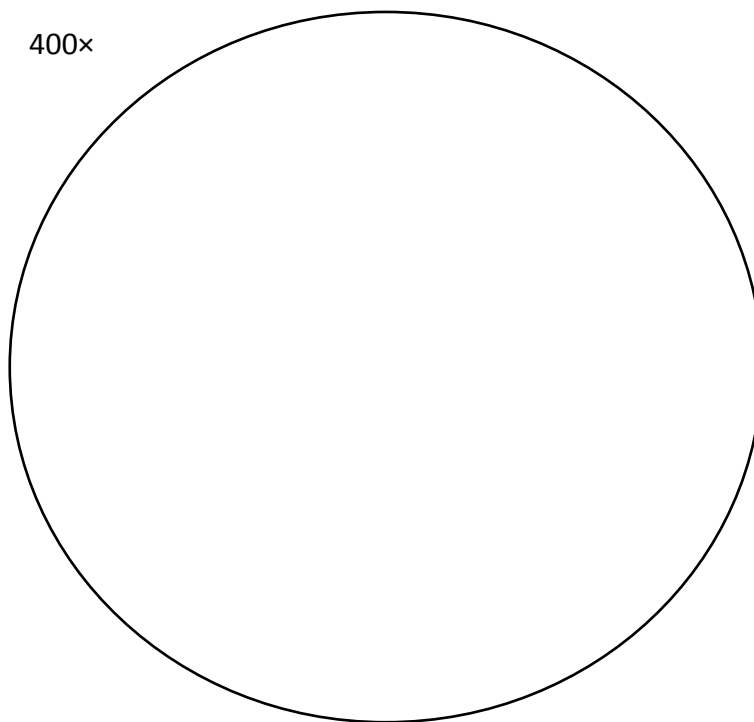
FAGOCYTÓZA

Trvalý preparát: fagocytující bílé krvinky, barvené Pappenheimovou metodou

Fagocytární aktivita = počet fagocytujících buněk/počet počítaných buněk

- Prohlédněte si preparát, najděte a nakreslete bílé krvinky s fagocytovanými partikulami. Pokud bude čas, spočítejte fagocytární aktivitu.

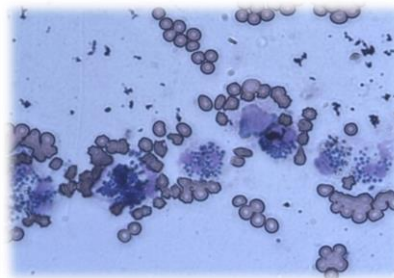
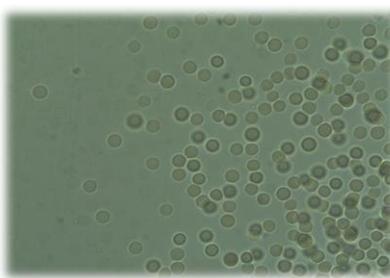
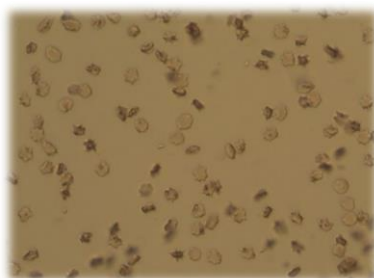
400×



1. **Přiřaďte pojmy (ENDOCYTÓZA, EXOCYTÓZA, PINOCYTÓZA, FAGOCYTÓZA) k popisu:**

- příjem kapalin a různě velkých částic vchlípením plazmatické membrány buňky
- příjem rozpuštěných látek buňkou
- příjem pevných částíček buňkou
- výdej kapalin a různě velkých částic buňkou

2. **Který z následujících obrázků znázorňuje fagocytózu, hemolýzu a plazmorhizu (napište pod obrázky)?**



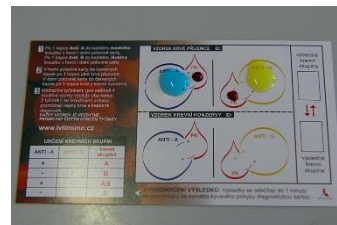
URČOVÁNÍ KREVNÍCH SKUPIN

Praktický úkol:

Pomocí diagnostické soupravy pro určování krevních skupin systému ABO si určete svoji krevní skupinu a zaznamenejte výsledek.

Pracovní postup:

1. Do modrého kroužku karty kápněte 1 kapku monoklonálního diagnostika **Anti-A**
2. Do žlutého kroužku kápněte 1 kapku monoklonálního diagnostika **Anti-B**
3. Do červeného kroužku kápněte 1 kapku krve (po píchnutí do prstu tenkou jehlou stiskněte prst a vymáčkněte kapku krve)
4. Přiloženými tyčinkami se promíchají kapky monoklonálních diagnostik s kapkami krve a to každý vzorek jiným koncem tyčinky



➤ **Závěr: Jaká byla Vaše krevní skupina?**

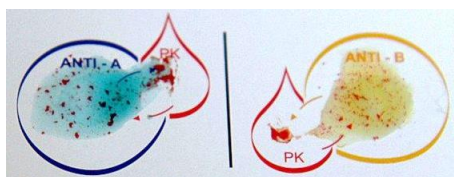


1. Jak se nazývá pozitivní reakce indukující přítomnost odpovídajícího antigenu na erythrocytech?

A) hemokoagulace, B) sedimentace, C) aglutinace, D) precipitace, E) hemolýza

2. O jakou krevní skupinu se jedná na obrázku viz. níže?

3. Doplňte prázdná místa v tabulce:



Krevní skupina	Aglutinogen	Aglutinin
A	A	
		anti-A
AB		-
	-	anti-A, anti-B

4. Odpovídá zastoupení krevních skupin

v České republice jiným zemím v Evropě a ve světě? Zjisti případné rozdíly.

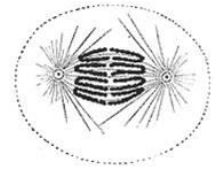
5. Doplňte a vyberte správné termíny: Rh faktor je sedimentační faktor krve/faktor srážlivosti krve/systém určující krevní typ; a na základě Rh faktoru rozdělujeme jedince na Rh..... a Rh

6. Jaké jsou krevní skupiny u zvířat (např. u koček)?

Cvičení 6: BUNĚČNÝ CYKLUS, MITÓZA

Jméno:

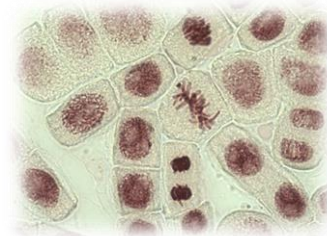
Skupina:



MITÓZA V BUŇKÁCH KOŘÍNKU CIBULE

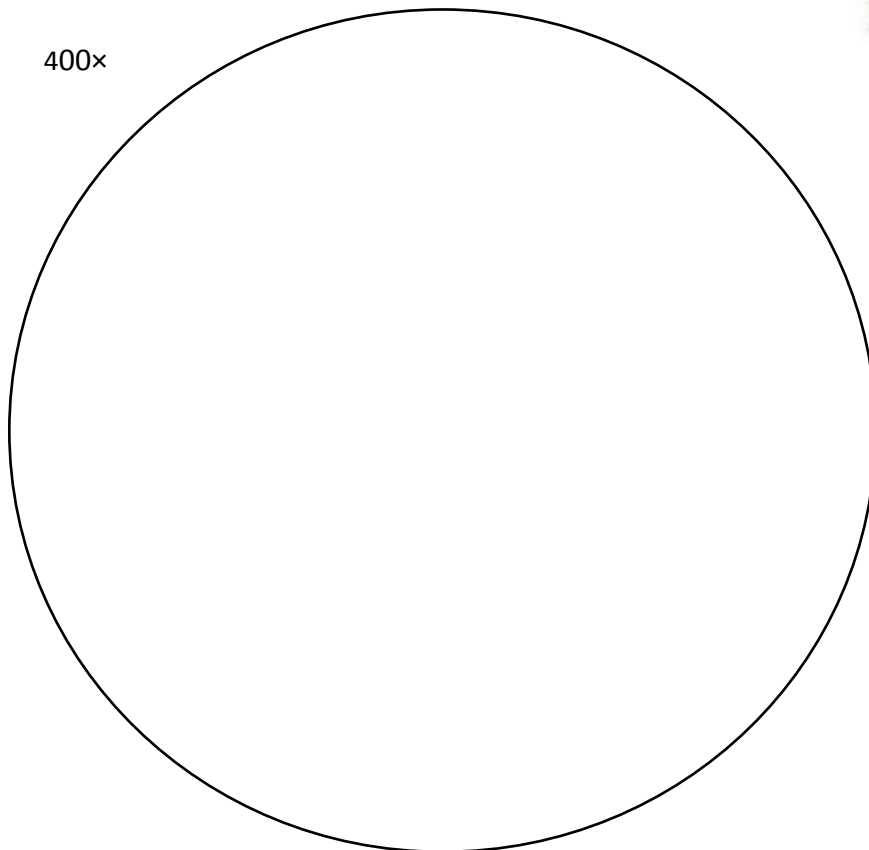
Trvalý preparát: kořínek cibule obarvený v acetoceinu

V buňkách kořínku cibule jsou viditelné různé mitotické figury. Po obarvení acetoceinem jsou patrné jednotlivé chromozomy a mikrotubuly dělicího vřeténka.



➤ **Pozorujte a nakreslete buňky ve všech fázích mitózy a v interfázi**

400×



1. Vyjmenujte fáze buněčného cyklu tak, jak jdou za sebou:
2. Co je to interfáze a které fáze buněčného cyklu do ní patří?

3. Napište odpovídající fázi buněčného cyklu k jednotlivým charakteristikám:

..... : kondenzace zreplikovaných chromozomů, karyokineze, cytokineze, rovnoměrné rozdělení genetického materiálu do dvou dceřiných buněk

..... : replikace jaderné DNA, duplikace centrozomů a chromozomů

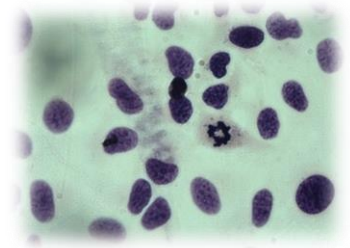
..... : růst buňky, množení organel, syntéza proteinů a enzymů

..... : počátek formace mitotického vřeténka, množení organel, růst buňky, syntéza proteinů a enzymů

MITÓZA V TKÁŇOVÉ KULTUŘE

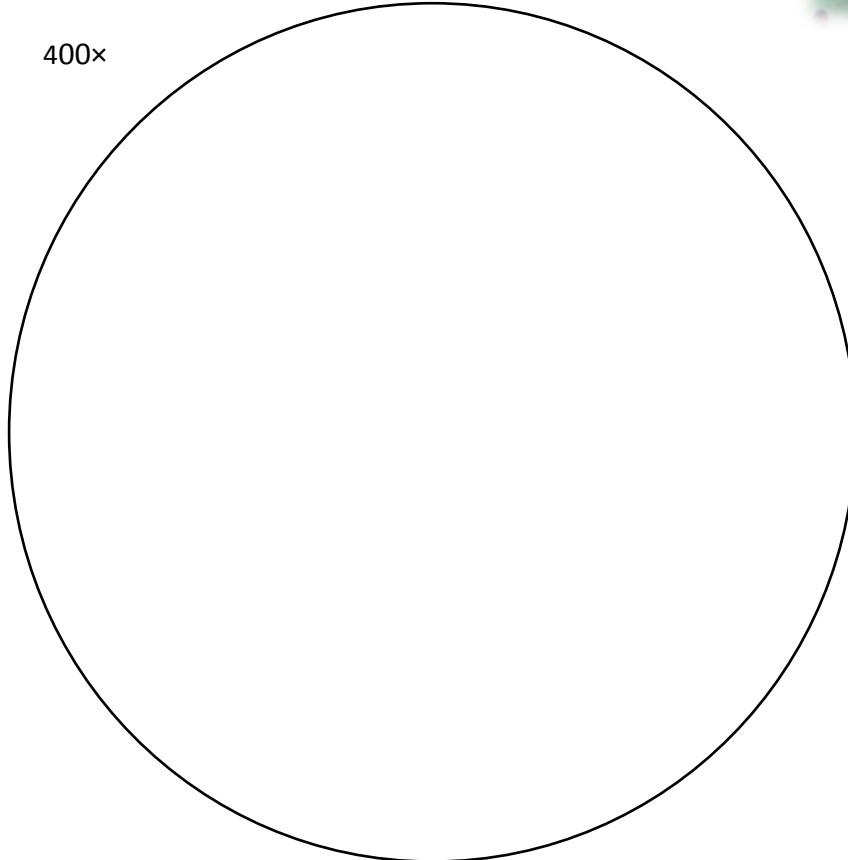
Trvalý preparát: preparát z tkáňové kultury z ledvin králíka

Mitotické buňky jsou oproti buňkám v interfázi větší, světlejší, bez jádra (místo něj některá z mitotických figur). V preparátu lze najít **monaster** (buňka v metafázi) a poruchy mitózy (např. **anafázový most**).



➤ **Nakreslete jednotlivé fáze mitózy a buňku v interfázi**

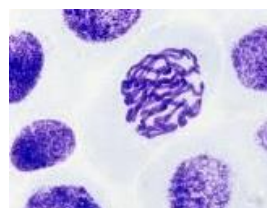
400×



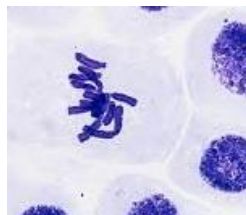
1. Napište k písmenům pod obrázky odpovídající názvy mitotických fází



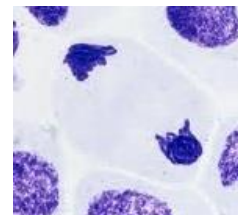
A



B



C



D

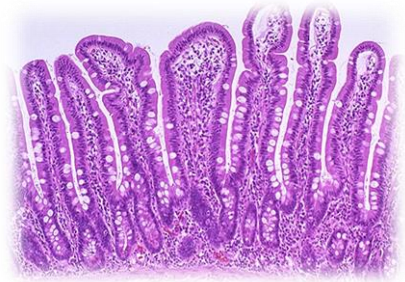
2. Co je to mitotický index a k čemu se používá?

3. Nakresli monaster a anafázový most

MITOTICKÉ BUŇKY V HISTOLOGICKÉM ŘEZU TENKÉHO STŘEVA

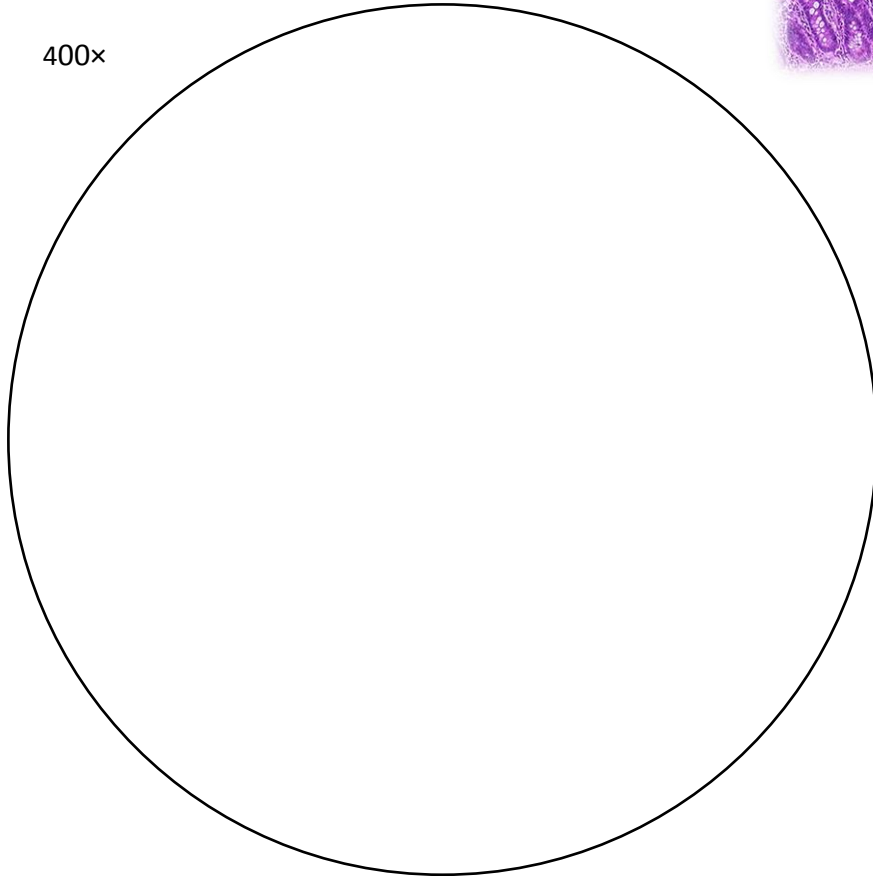
Trvalý preparát: střevo laboratorního potkana barvené hematoxylin-eosinem

Preparát střeva nejdříve prohlédněte při malém zvětšení a najděte místo, kde budete pozorovat mitotické buňky (**při bázi klků**).



- **Nakreslete průřez střevem a místo, kde se nachází buňky v mitóze**

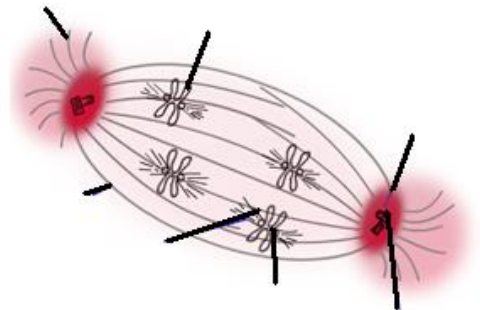
400×



1. Jaký útvar je zobrazen na obrázku?

2. Přiřaďte názvy k jednotlivým strukturám

- A) astrální mikrotubuly
- B) centrioly
- C) kinetochorové mikrotubuly
- D) polární mikrotubuly
- E) centrozom
- F) kinetochor
- G) chromatida

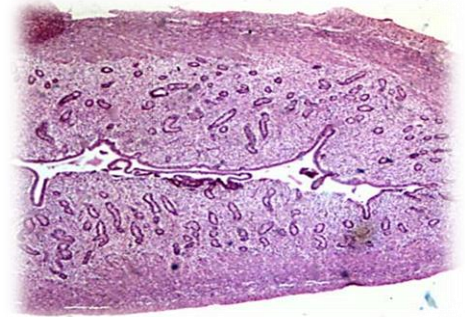


MITOTICKÉ BUŇKY V HISTOLOGICKÉM ŘEZU DĚLOHY

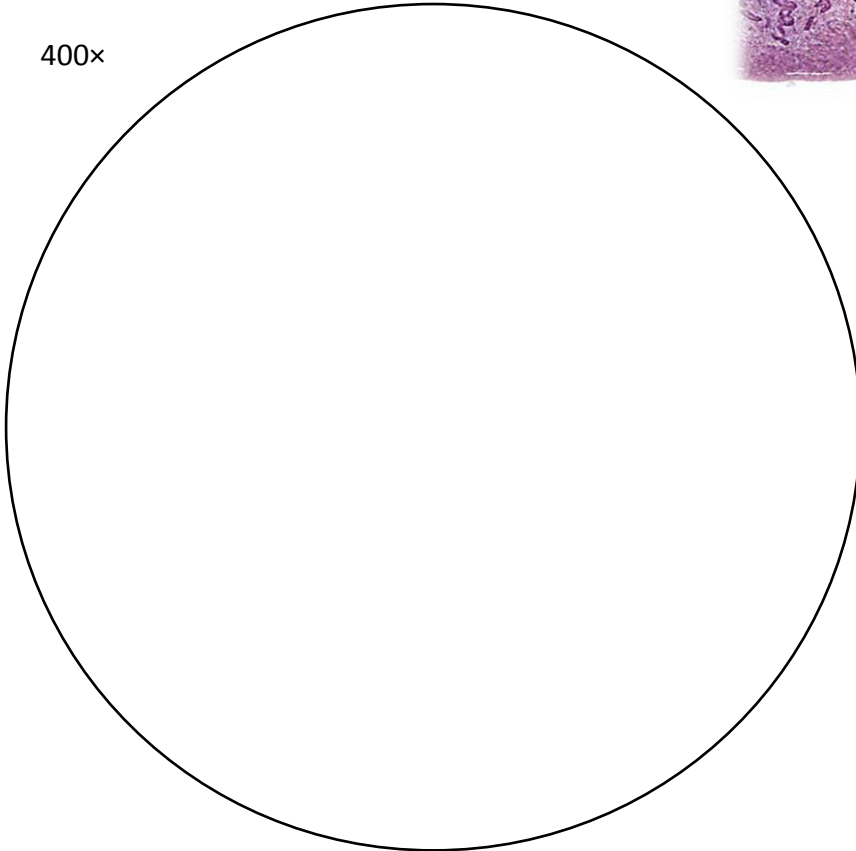
Trvalý preparát: děloha laboratorního potkana barvená hematoxylin-eosinem

Preparát dělohy nejdříve prohlédněte při malém zvětšení a najděte místo, kde je možné pozorovat buňky v mitóze (**kubický epitel děložní sliznice**).

- **Nakreslete průřez dělohou a místo, kde se nachází buňky v mitóze**



400×



Napište fáze mitózy tak, jak jdou za sebou a přiřaďte k nim odpovídající charakteristiky.

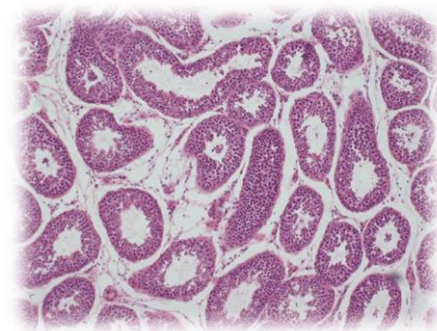
- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

a) rozpad jaderného obalu; **b)** chromozomy se shromáždí v ekvatoriální rovině za pomoci mikrotubulů a mol. motorů kinezinů; **c)** navázání kinetochorových mikrotubulů na kinetochor chromozomu; **d)** oddělení sesterských chromatid pomocí proteolytické separázy; **e)** zánik jadérka a kondenzace zreplikovaných chromozomů; **f)** tvorba jaderného obalu z váčků jaderné membrány kolem každé sady chromozomů; **g)** segregace sesterských chromatid k opačným pólům vřeténka zkracováním mikrotubulů a za pomoci molekulových motorů dyneinů; **h)** formace dělicího vřeténka a vznik kinetochorů; **i)** vznik 2 jader s jadérky a zánik dělicího vřeténka

MITOTICKÉ BUŇKY V HISTOLOGICKÉM ŘEZU VARLAT

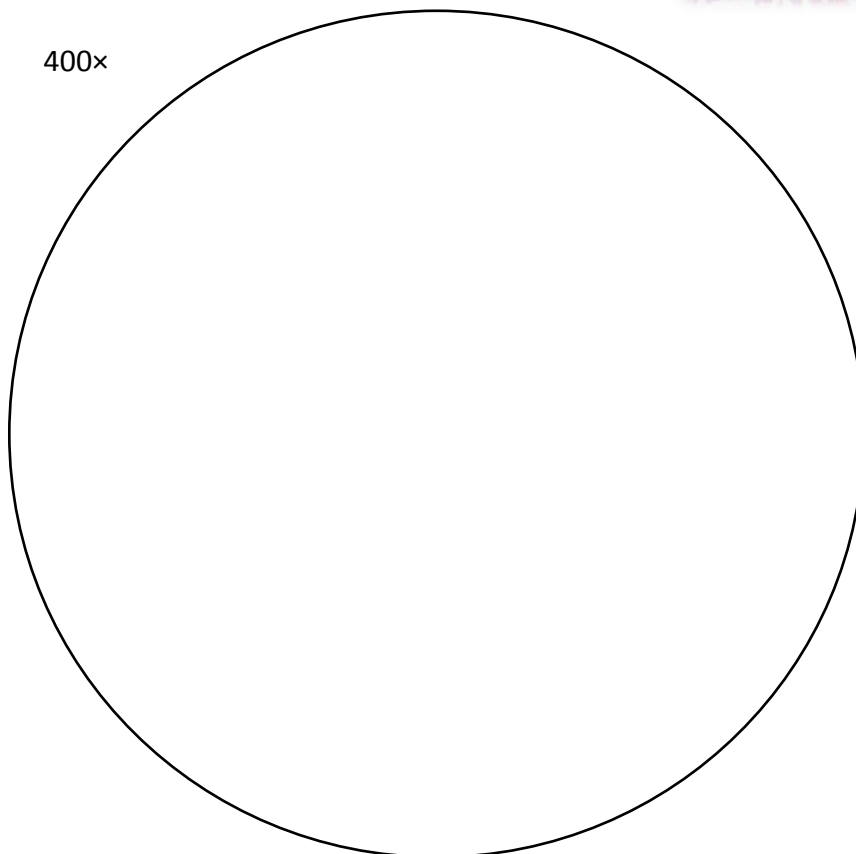
Trvalý preparát: varle laboratorního potkana barvené hematoxylin-eosinem

Preparát varlete nejdříve prohlédněte při malém zvětšení a najděte místo, kde je možné pozorovat buňky v mitóze (**na obvodu semenotvorných kanálků**).



- **Nakreslete semenotvorný kanálek s vyznačením místa, kde se nachází buňky v mitóze**

400×



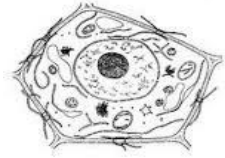
Doplňte chybějící slova do vět:

1. Mitóza zahrnuje 2 období: (dělení jádra) a (dělení cytoplazmy).
2. Cytokineze u živočišné buňky probíhá pomocí, který je tvořen cytoskeletálním vláknem (.....) a molekulovým motorem (.....).
3. Cytokineze u rostlinné buňky je zajištěna pomocí, který je vytvořen ze zbytků polárních, podél nichž jsou transportovány váčky z (buněčná organela).

Cvičení 7: EUKARYOTA, ROSTLINNÁ BUŇKA

Jméno:

Skupina:



VAKUOLY, CHLOROPLASTY

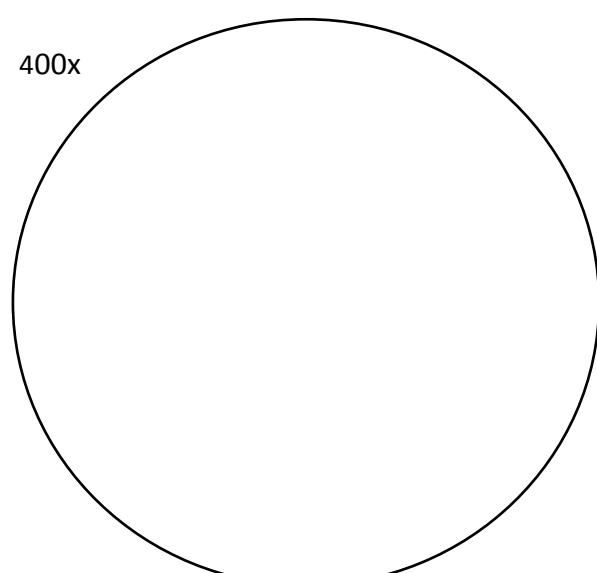
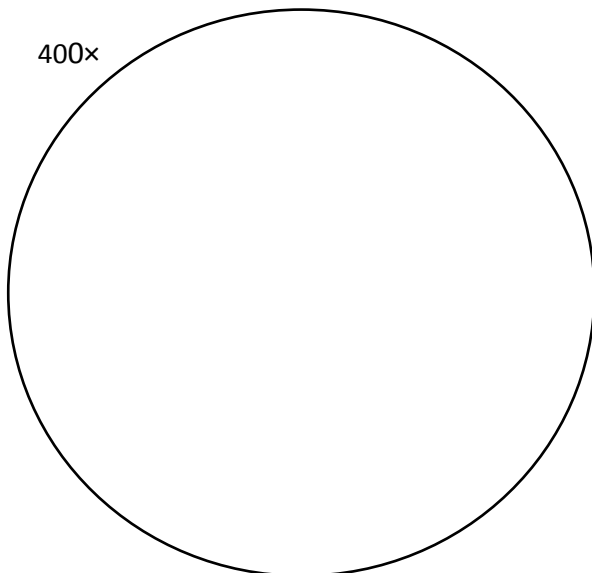
Nativní preparát: bobule ptačího zobu (*Ligustrum vulgare*)

Rozřízněte bobuli ptačího zobu a obtiskněte na podložní sklíčko dužninu, přidejte vodu, přikryjte krycím sklíčkem a pozorujte. Poté vyzkoušejte, jak se změní zbarvení vakuol po přidání kyseliny octové a NaOH. Kromě vakuol lze uvnitř buněk pozorovat i drobné zelené chloroplasty.



➤ **Nakreslete buňku s vakuolami po přidání NaOH**

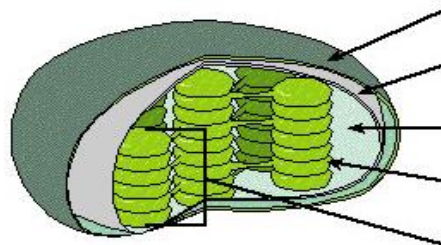
➤ **Nakreslete buňku s vakuolami po přidání kys. octové**



1. Doplňte tabulku

Roztoky	Prostředí (z hlediska pH)	Zbarvení vakuol
Voda		
NaOH		
Kys. octová		

2. Popište obrázek chloroplastu (granum, thylakoid, stroma, vnější a vnitřní membrána):

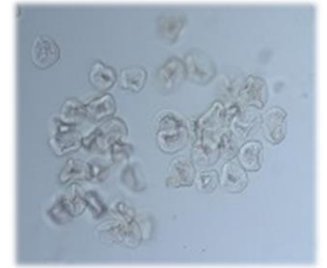


3. Co jsou to antokyany a k čemu slouží?

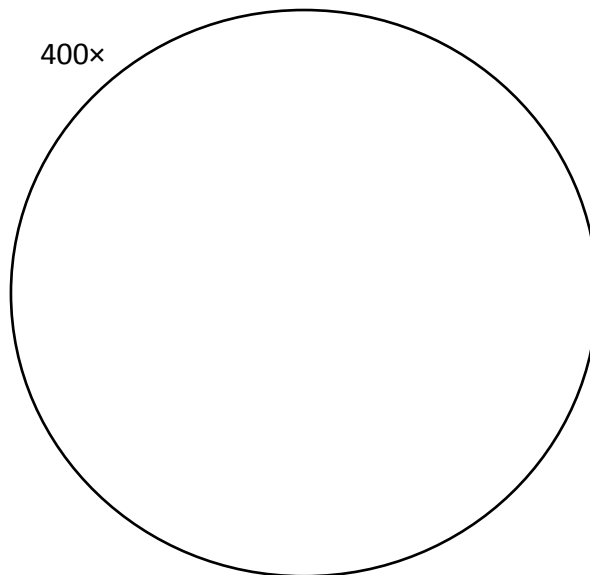
ZVÝŠENÍ TURGORU

Nativní preparát: pylová zrna, H₂O

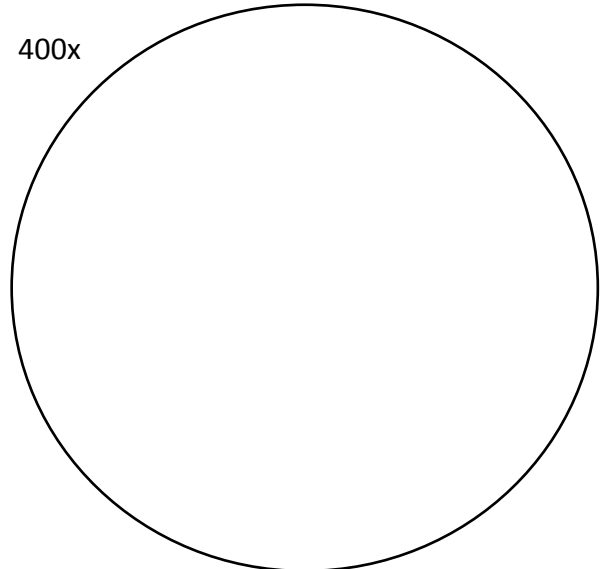
Na podložní sklíčko naneste špejlí pylová zrna, pozorujte a nakreslete jejich tvar. Poté přikápněte k pylu kapku destilované vody, přikryjte krycím sklíčkem a znovu pozorujte a nakreslete.



➤ Pylová zrna



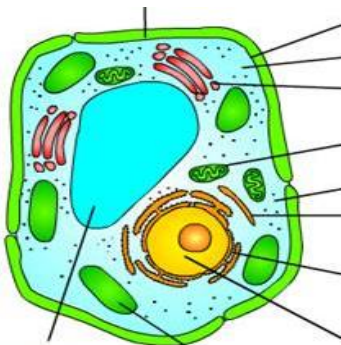
➤ Pylová zrna po přidání vody



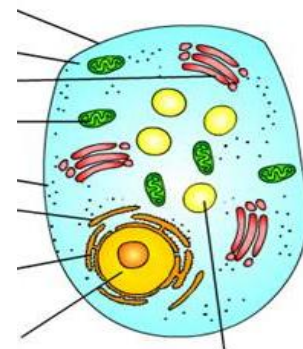
Závěr (nehodící se škrtněte): Buňka se po přidání vody nachází v hypotonickém/hypertonickém/izotonickém prostředí. Voda proudí z buňky ven/do buňky. Pylová zrna působením vody zvětší/zmenší svůj objem. Může dojít k výronu žlutě zbarvené buněčné stěny/cytoplazmy.



1. Která buňka na obrázku je rostlinná a která živočišná? Doplňte pod obrázek.
2. Doplňte popis buněk (buněčné jádro s jadérkem, buněčná stěna, cytoplazmatická membrána, cytoplazma, ribozomy, GA, hladké a drsné ER, mitochondrie, chloroplast, vakuola, lysozom)



..... BUŇKA

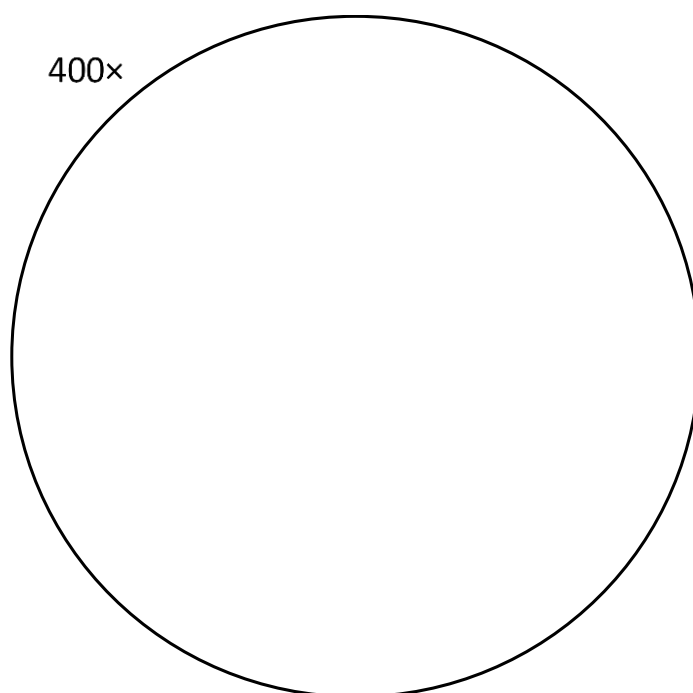


..... BUŇKA

PLAZMOLÝZA

Praktický úkol: cibule, neutrální červeň

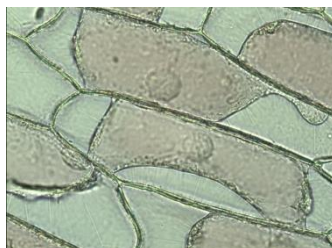
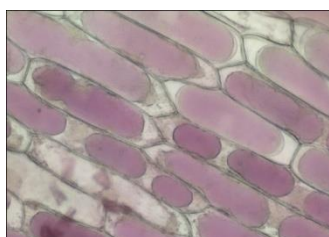
1. Z cibule sloupněte vnitřní epidermis (liší se od vnější) a důkladně rozprostřete na podložní sklíčko.
 2. Přikápněte **1% neutrální červeň**, která obarví vakuoly, a přikryjte krycím sklíčkem. Zkontrolujte si pod mikroskopem, že máte jednu vrstvu buněk vnitřní epidermis.
 3. Poté přikápněte k hraně krycího skla kapku **1M KNO₃** a z protilehlé strany krycího skla přiložte filtrační papír, čímž se nasaje roztok pod sklíčko.
 4. Znovu pozorujte pod mikroskopem a zaznamenejte změny – plazmolýzu. Je možné pozorovat prostou i křečovou plazmolýzu.
- **Nakreslete buňku s plazmolýzou (prostá nebo křečová) a popište důkladně obrázek (buněčná stěna, cytoplazmatická membrána, vakuola, jádro, cytoplazma)**



- **Závěr:** Plazmolýza je jev, který nastává v rostlinné buňce, která je vložena do hypotonického/hypertonického/izotonického prostředí. Pozorujeme oddělování cytoplazmatické membrány od buněčné stěny v důsledku úniku vody z buňky/vnikání vody do buňky, což se projeví zvětšením objemu buňky/smrštěním buňky/smrštěním vakuoly. Tento jev je vratný/nevratný.



Napište pod obrázky, o jaký typ plazmolýzy se jedná (prostá a křečová).



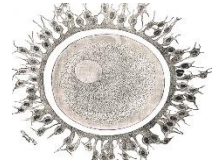
.....

.....

Cvičení 8: ROZMNOŽOVÁNÍ A VÝVOJ

Jméno:

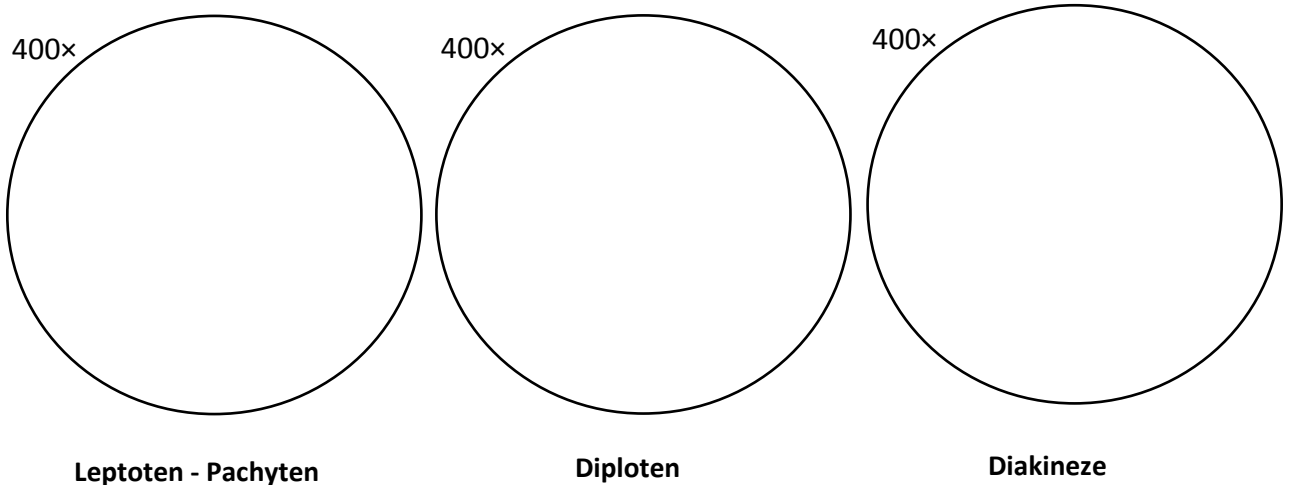
Skupina:



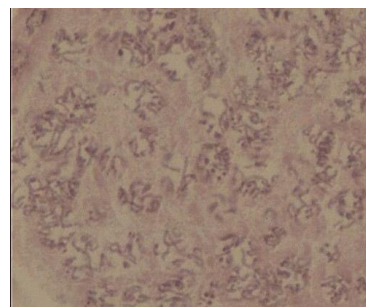
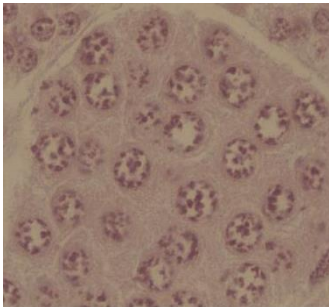
MEIÓZA

Trvalý preparát: obarvené podélné řezy varlat brouka smrtníka obecného (*Blaps mortisaga*)
Prohlédněte si několik řezů varlete a hledejte v semenotvorných kanálcích jednotlivé fáze meiózy.

➤ **Nakreslete jednotlivé typy buněk profáze I. meiotického dělení**



1. **Které fáze z meiotické profáze I jsou znázorněny na obrázcích?**



2. **Označte, které tvrzení je správné:**

Meióza je způsob pohlavního rozmnožování buněk.

ANO – NE

Heterologní chromozomy se přikládají těsně k sobě a vzniká bivalent.

ANO – NE

Ke crossing-overu dochází v profázi II. meiotického dělení.

ANO – NE

Místa překřížení chromatid při crossing-overu se nazývají chiasmata.

ANO – NE

Při homeotypickém dělení je počet chromozomů redukován na polovinu.

ANO – NE

Synaptonemální komplex je skupina homologních chromozomů.

ANO – NE

Při diakinezi vzniká jadérko a jaderná membrána.

ANO – NE

SPERMIOGENEZE

Trvalý preparát: varle potkana barvené hematoxylin-eosinem

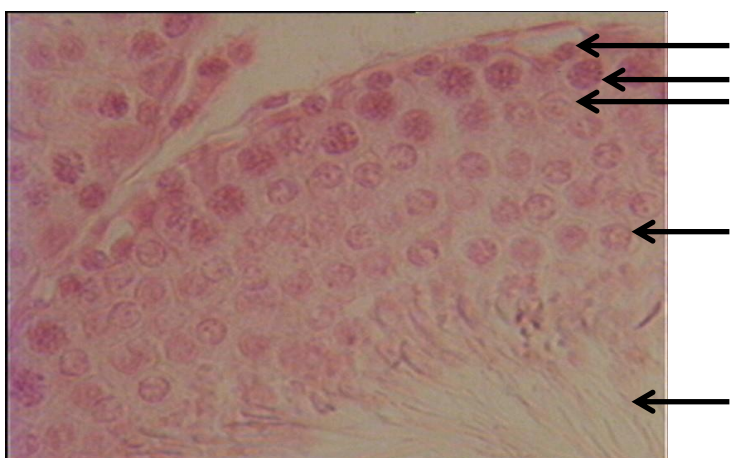
Na příčném řezu semenotvorného kanálku pozorujte směrem od periferie do středu kanálku vývojová stádia spermiogeneze.

➤ Zakreslete jednotlivé typy buněk (musí být patrný rozdíl v jádru a velikosti buňky)

400×



1. Vyznačte v obrázku jednotlivé buňky spermiogeneze:



- A Spermatogonie
- B Spermatida
- C Spermie
- D Spermatocyt I. řádu
- E Spermatocyt II. řádu

2. Doplňte do textu vývojová stádia buněk spermiogeneze:

Na periferii semenotvorného kanálku se nachází (menší buňky s jádrem bohatým na chromatin), směrem do středu kanálku se vyskytují a (liší se velikostí buněk i typem jader). Blíže ke středu jsou patrné (s malým množstvím chromatinu v jádrech) a v centru kanálku můžeme pozorovat dozrávající

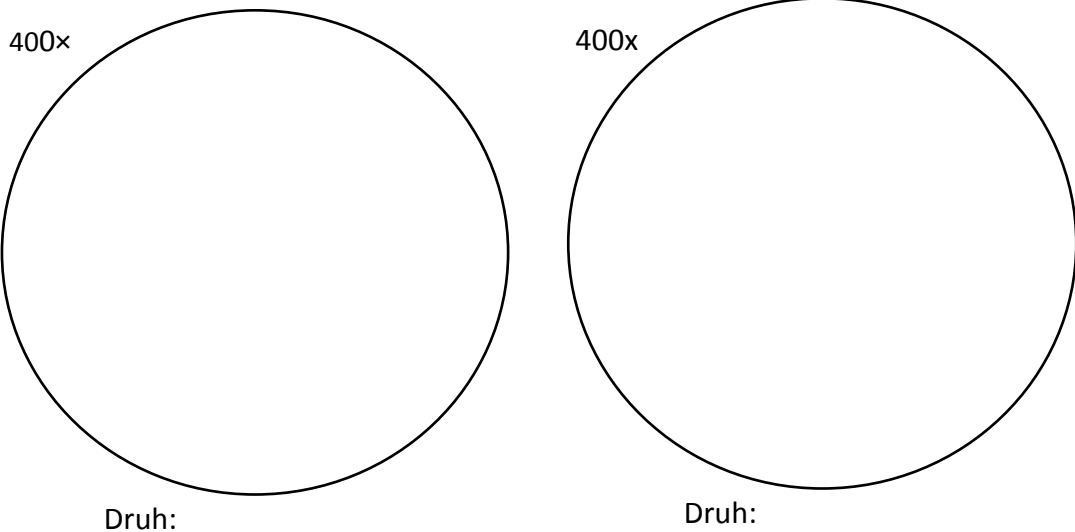
3. Jak se nazývá samčí pohlavní hormon, který je produkován ve varlatech a ovlivňuje spermiogenezi?

4. Jak dlouho trvá spermiogeneze?

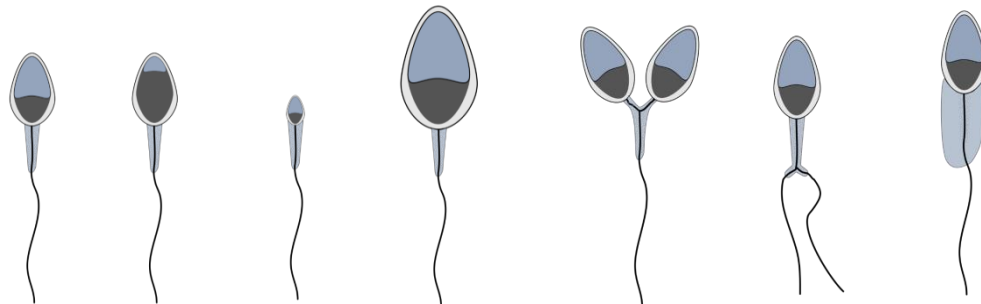
POZOROVÁNÍ TVARU A VELIKOSTI SPERMIÍ RŮZNÝCH DRUHŮ ZVÍŘAT

Trvalý preparát: spermie potkana, králíka, prasete a býka.

➤ **Zakreslete spermie potkana a dalšího vybraného druhu zvířat (všimněte si rozdílů)**



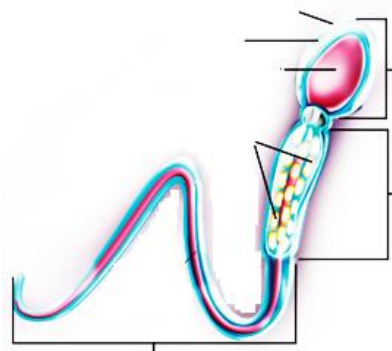
- Spermie různých druhů zvířat se mohou od sebe lišit (vyberte):** A) délkou bičků, B) tvarem hlavičky, C) přítomností pólového tělíska, D) velikostí akrozomu, E) počtem bičků
- U spermií se mohou vyskytovat různé abnormality. Přiřaďte jednotlivé typy abnormalit k obrázkům:** A) spermie s kondenzovaným akrozomem, B) velká hlavička, C) abnormální střední část, D) malá hlavička, E) zdvojený bičík, F) normální tvar, G) zdvojená hlavička



- Vyber nesprávné tvrzení týkající se akrozomu:** A) obsahuje enzymy umožňující průnik spermie do vajíčka, B) pokrývá hlavičku spermie, C) skládá se ze dvou obalů (vnitřního, vnějšího), D) probíhá v něm syntéza testosteronu

- Popište obrázek spermie:**

- A cytopl. membrána
- B akrozom
- C spojovací oddíl
- D buněčné jádro
- E hlavička
- F bičík
- G centriol+mitochondrie



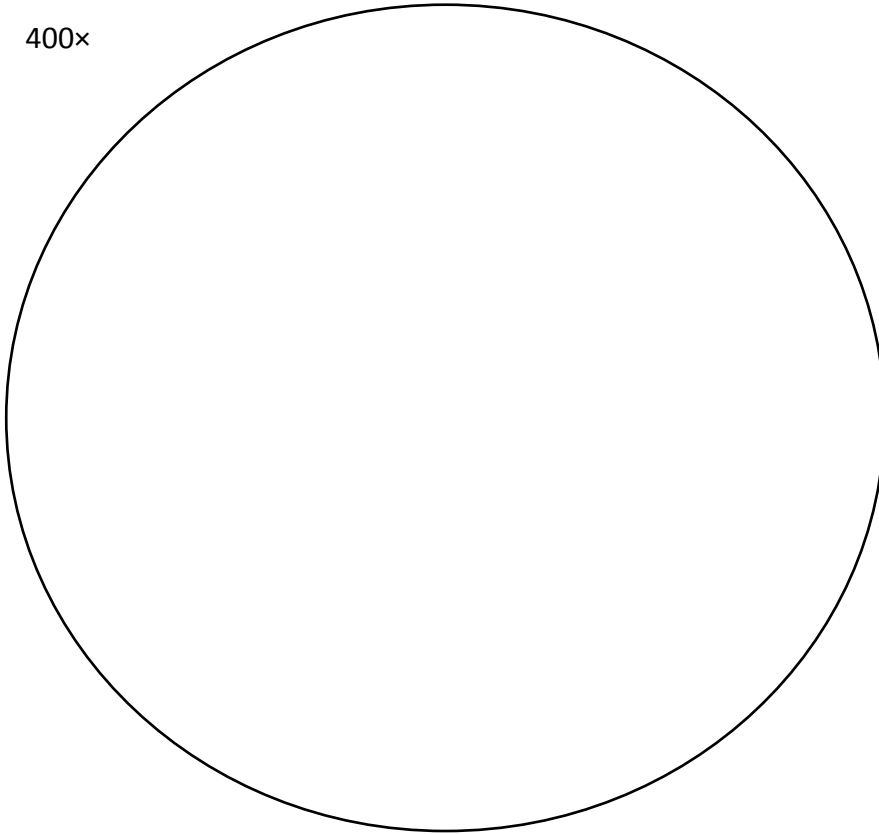
OOGENEZE

Trvalý preparát: ovarium potkana

- Najděte a nakreslete **primární folikul** (oocyt s několika folikulárními buňkami), a zralý **Graafův folikul** (oocyt se zmnoženými folikulárními buňkami a dutinkami vyplněnými tekutinou)



400×



1. Doplňte do textu vývojová stádia buněk oogeneze:

..... se ve vaječníku mitoticky dělí a vznikají z nich, které vstupují do meiózy a zastaví se v telofázi meiozy II /anafázi meiózy I / profázi meiózy I /telofázi meiózy I (škrtněte špatnou odpověď). V pohlavní dospělosti oogeneze pokračuje. Z vznikají ve 28 denních intervalech a Vývoj se zastaví v metafázi meiózy I / metafázi meiózy II (škrtněte špatnou odpověď), pokračuje po oplození, čímž vznikne a

2. Který hormon produkují folikulární buňky? (vyberte)

A) testosteron, B) progesteron, C) estrogen, D) oxytocin, E) FSH, F) gonadotropin

3. Doplňte: Corpus luteum je, které vzniká při ovulaci z

Slouží k produkci hormonu

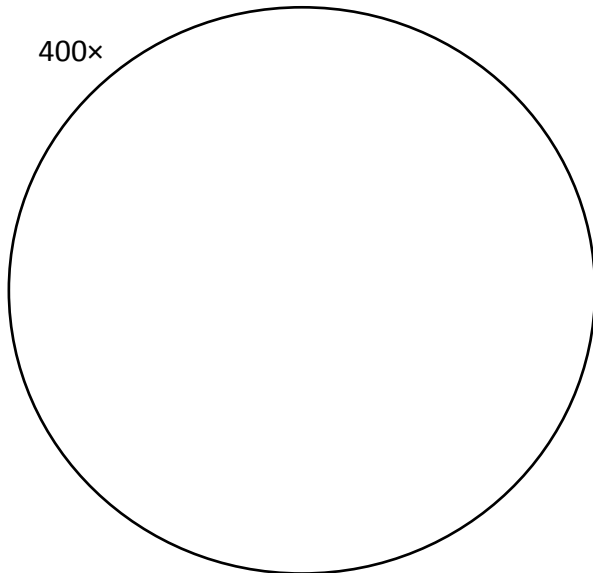
4. Jak dlouho trvá oogeneze?

CYTOLOGICKÉ ZMĚNY VAGINÁLNÍ SLIZNICE V PRŮBĚHU ESTRÁLNÍHO CYKLU

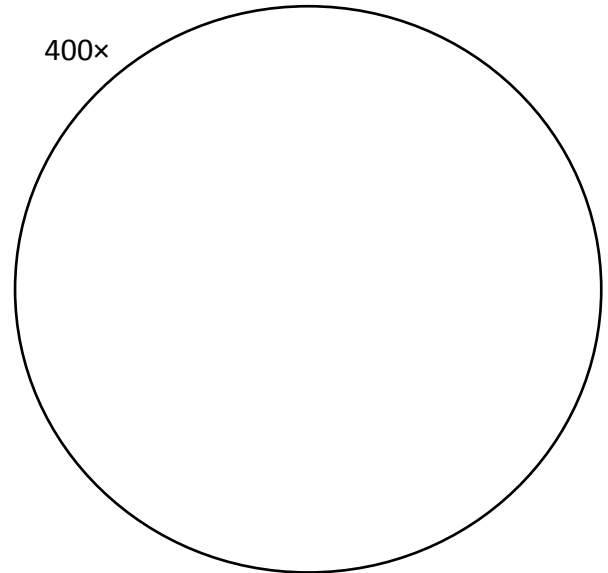
Trvalý preparát: obarvené vaginální výtěry potkana v různých fázích estrálního cyklu

➤ Nakreslete nálezy typické pro jednotlivé fáze estrálního cyklu

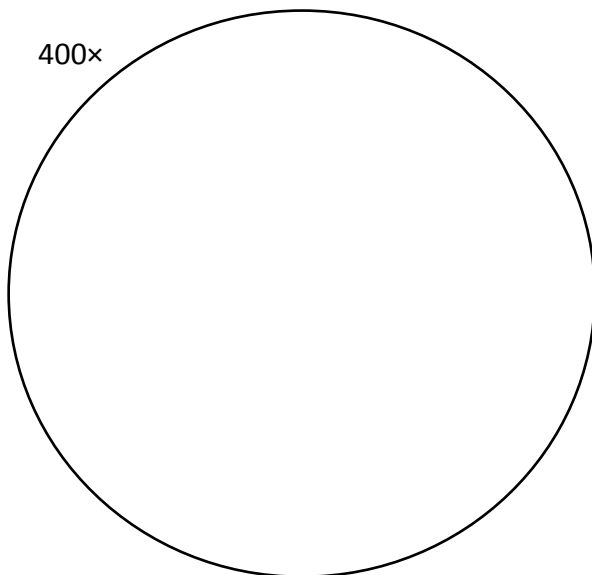
Proestrus



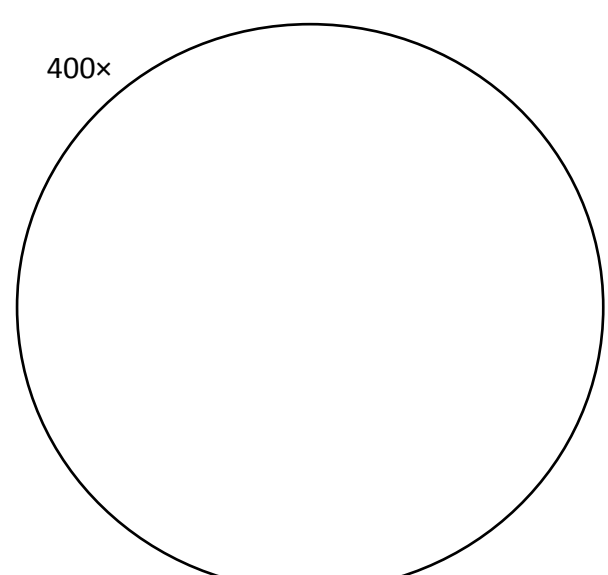
Estrus



Metestrus



Diestrus



Vyberte a přiřaďte k fázi estrálního cyklu děj, který v ní probíhá a převládající nález buněk:

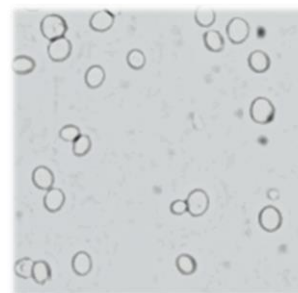
Proestrus.....	1 vznik žlutého tělíska	A hlen a leukocyty
Estrus.....	2 dozrávání vajíčka ve vaječniku	B hlen, kulaté buňky s velkým jádrem
Metestrus.....	3 vyplavení neoplozeného vajíčka	C kubické buňky s malým jádrem
Diestrus.....	4 uvolnění zralého vajíčka z folikulu	D bezjaderné zrohovatělé buňky

PUČENÍ KVASINEK

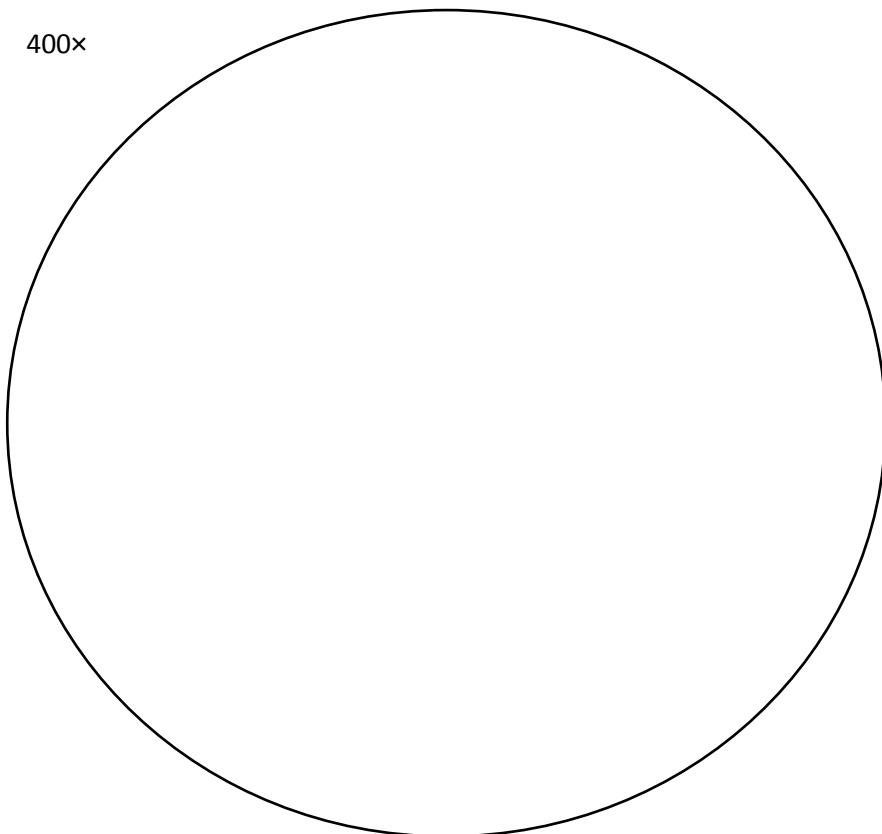
Nativní preparát: suspenze kvasinek v kultuře

Pozorujte pučení, tj. vznik pupenu na pólu některých buněk, který se postupně zvětšuje a nakonec se odloučí od mateřské buňky.

➤ **Nakreslete a popište pučící kvasinku**



400×



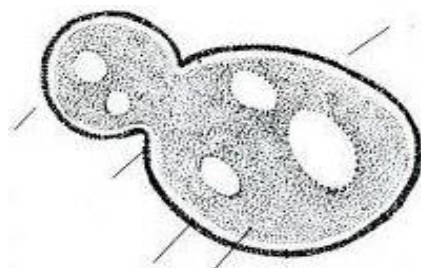
1. Vyber, co platí pro pučení?

- A) nepohlavní rozmnožování
- B) dceřiné buňky vznikají rozdělením mateřské buňky
- C) pohlavní rozmnožování
- D) na mateřské buňce se vyvíjí pupen, který roste a následně se odštěpí

2. Vyberte zástupce, kteří se rozmnožují pučením:

- A) ploštěnci, B) nálevníci, C) mechovci, D) žahavci, E) mnohoštětinatci

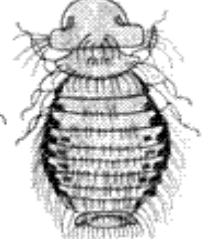
3. Popište obrázek kvasinky: pupen-nová rostoucí buňka, mateřská buňka, buněčná stěna, membrána, cytoplazma



VÝVOJ JEDNOTLIVÝCH DRUHŮ ŽIVOČICHŮ

Kyvety s vývojovými stádii různých zástupců zvířat

Doplňte k obrázkům druh vývoje a popište pomocí názvů v závorkách, ve správném pořadí: **vývoj savců** (plod potkana, potkan, děloha v raném a pozdním období gravidity), **vývoj obojživelníků** (žába s pulcím ocáskem, žába, pulec, vajíčko), **vývoj hmyzu s proměnou dokonalou** (larva, kukla, vajíčko, imago), **s proměnou nedokonalou** (nymfa II. a III. instaru, imago, larva, vajíčko), **vývoj ryb** (zárodek, vykulený plůdek se žloutkovým vakem, jikra, ryba), **vývoj ptáků** (kuře po vylíhnutí, kur domácí, vejce, embryo vyjmuté z vejce)

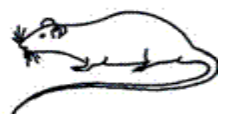
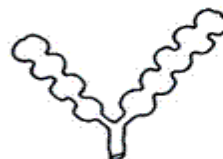












DOPLŇUJÍCÍ ÚKOLY

1. Podtrhněte pojmy, které souvisí s nepohlavním rozmnožováním:

Příčné dělení, gametogeneze, nálevníci, zygota, crossing over, gemiparie, gonochorista, pupen, tetráda, chiazma, homeotypické dělení, ploštěnky, člověk, leptotene, schizogeneze

2. Jak se nazývá vývoj jedince z neoplozeného vajíčka (vyberte)?

A) oogeneze, B) metageneze, C) partenogeneze, D) androgeneze, E) hemimetabolie

3. Co je to utajená březost (vyberte)?

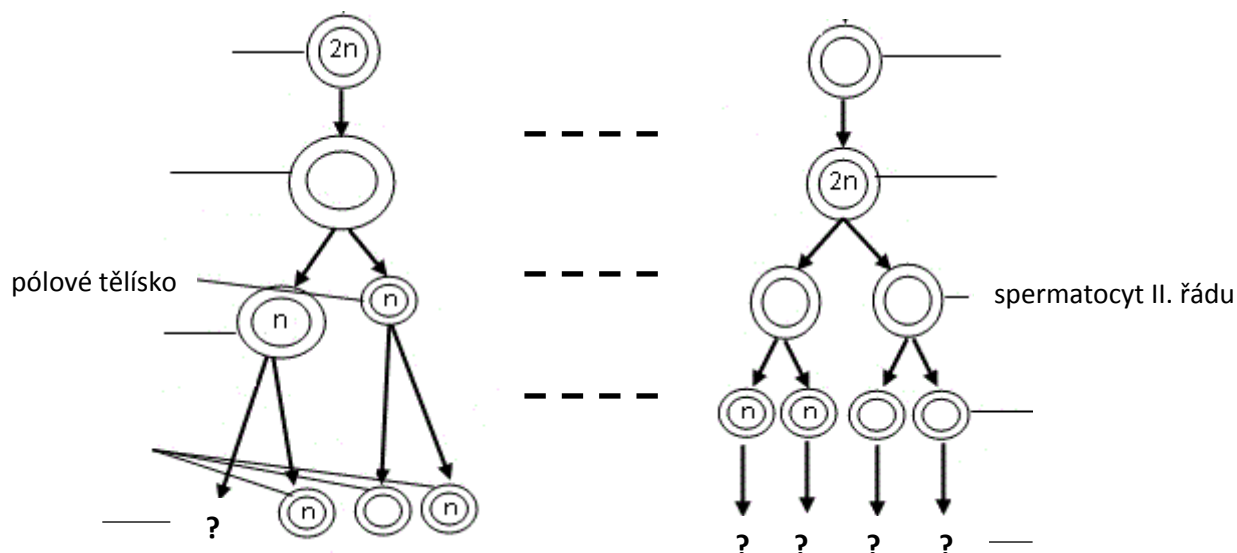
A) páření proběhne ještě před ovulací a spermie zůstanou v pohlavních cestách samice až do ovulace
 B) mezi pářením a porodem se pozastaví vývoj zárodku (zpravidla na konci rýhování)

4. Co je to apomixe? Uveďte příklad.

5. Uveďte vždy alespoň 2 různé příklady zvířat:

monoestrické
 diestrické.....
 polyestrické

6. Určete, zda se jedná o spermiogenezi či oogenezi a doplňte chybějící údaje (názvy buněk, počet sad chromozomů, typ dělení – mitóza, meióza I, meióza II).



7. Jaký je rozdíl mezi fylogenetickým a ontogenetickým vývojem?

Cvičení 9: CHROMOZOMY, KARYOTYPY

Jméno:

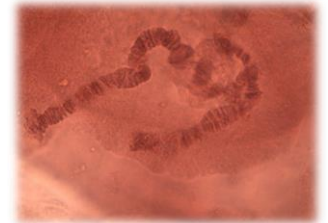
Skupina:



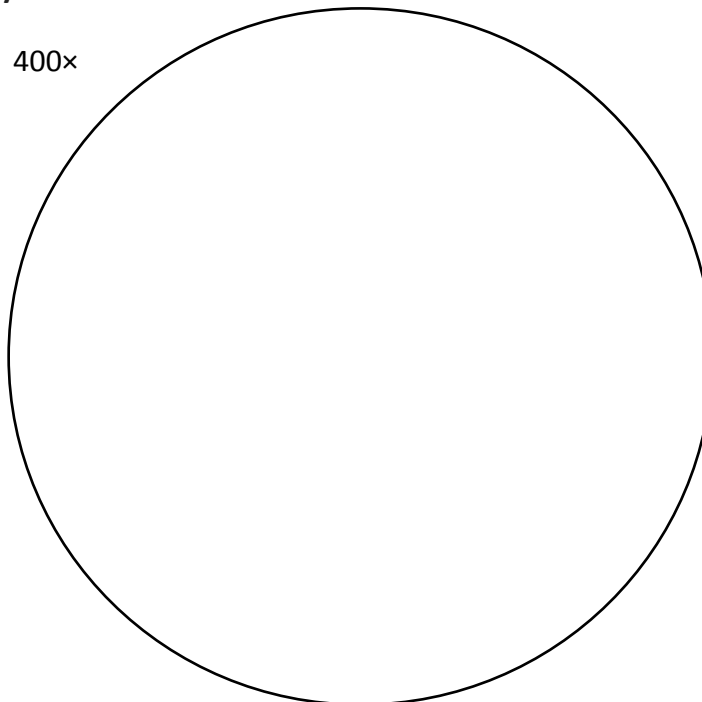
STRUKTURA POLYTENNÍCH CHROMOZOMŮ

Trvalý preparát: obrovské chromozomy larev pakomárů (*Chironomus spp.*)

Pozorujte a zakreslete buňku slinných žláz pakomára s polytenním chromozomem



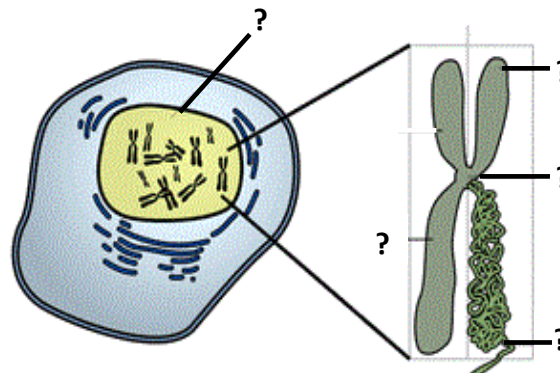
➤ **Nakreslete polytenní chromozom**



Závěr (*nehodící se škrtněte nebo doplňte*): V preparátu pozorujeme buňky s polytenním chromozomem, který se nachází v buněčném jádru označovaném jako paprskovité/pentlicovité jádro. Při větším/menším zvětšení jsou na chromozomu patrné různě široké, stejně/odlišně se barvící okrsky, tzv., které připomínají čárový kód. Na chromozomu jsou také patrné zduřeniny/zúženiny, tzv.



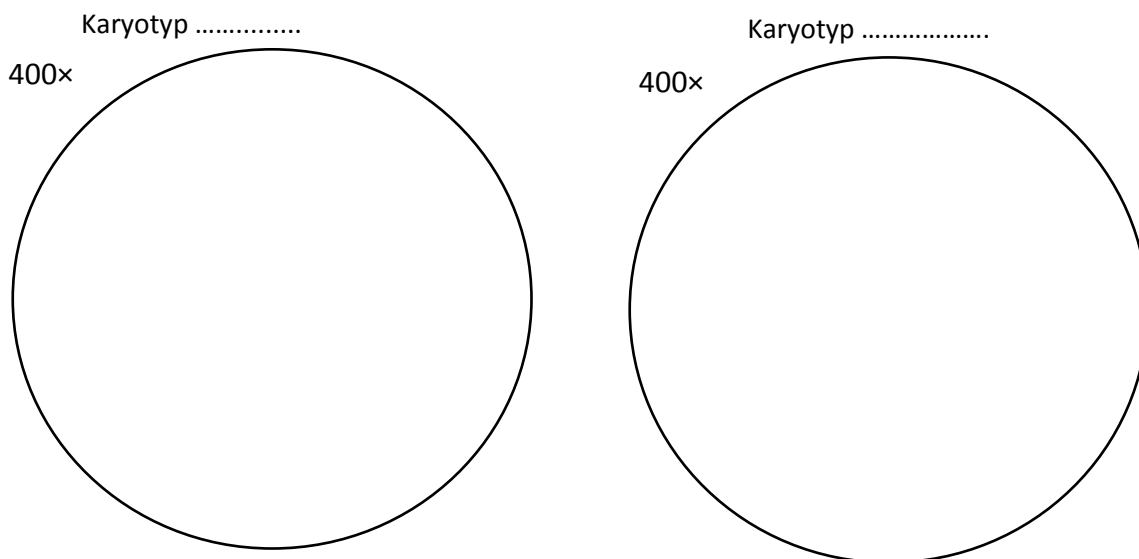
1. **Jak velké jsou chromozomy v μm ?** A) 0 – 1, B) 1 – 10, C) 10 – 20, D) 20 – 50
2. **Popiš obrázek:**



KARYOTYPY SAVCŮ

Trvalý preparát: karyotyp králíka, ovce, prasete, koně, skotu a člověka obarvené Giemsou

➤ Prohlédněte si karyotypy všech druhů zvířat a nakreslete dva vybrané preparáty



Závěr: K obrázkům uveďte zápis karyotypu daného druhu zvířete. Jaké převládají v preparátech chromozomy podle polohy centromery?



1. Doplňte v tabulce místo šedých políček (54, skot, cibule kuchyňská, 38, člověk, 44, 64)

Druh zvířete	Počet chromozomů
prase	
	46
králík	
kůň	
	60
ovce	
	16

2. Napište pod obrázky, který karyotyp patří skotu, člověku a cibuli



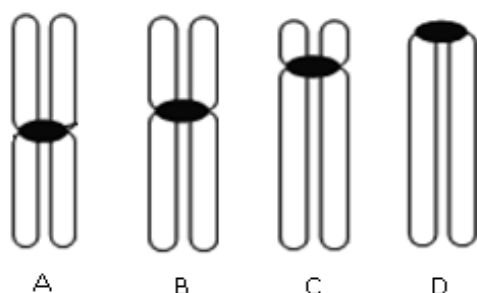
.....

.....

.....

CHROMOZOMY, KARYOTYPY - DOPLŇUJÍCÍ ÚKOLY

1. Doplňte, o jaké typy chromozomů se jedná podle polohy centromery



A
 B
 C
 D

2. Doplňte šedá políčka v tabulce

Typ chromozomového určení pohlaví	Samec	Samice	Zástupci
	XY		Savci, obojživelníci
		ZW	
Protenor			Ploštice, rovnokřídlý hmyz
včela		2n	Společenský hmyz

3. Doplňte karyotypy:

- a) zdravý muž:
- b) muž s Downovým syndromem
- c) žena s Edwardsovým syndromem
- d) beran

4. Uveď, co nejpřesněji (druh, pohlaví, syndrom), komu patří uvedené karyotypy:

- a) 45, XO
- b) 47, XXY.....
- c) 47, XX+13
- d) 60, XX
- e) 64, XY

5. Jaký je rozdíl mezi trisomií a triploidií? Uveďte i zápis

Trisomie:..... Zápis:

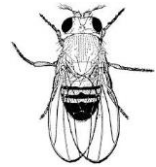
Triploidie: Zápis:

6. Zakroužkujte **nesprávné** tvrzení, týkající se Baarova tělíska:

- a) Jedná se o tzv. pohlavní chromatin
- b) Vyskytuje se u heterogametického pohlaví
- c) Jde o inaktivovaný chromozom X

Je uloženo na vnitřní straně jaderné membrány

GENETICKÝ EXPERIMENT KŘÍŽENÍ *Drosophila melanogaster*



Jméno:

Skupina:

KŘÍŽENÍ DROZOFIL S RŮZNOU BARVOU OČÍ

Drosophila melanogaster: samec a samice s různou barvou očí

Křížení původní (divoké) formy drozofily s červenými očima a mutantní linie drozofily s bílými očima. Jedná se o pokus, který bude probíhat během 3 cvičení. Na cvičeních se pracuje ve skupinách.

1. CVIČENÍ: ZAHÁJENÍ POKUSU

Pomůcky:

- Erlenmeyerova baňka s čerstvým živným médiem
- dvě zkumavky s drozofilami vytríděnými podle pohlaví (2 možné varianty křížení drozofil ve zkumavkách)



- Zkontrolujte, jestli odpovídá pohlaví a barva očí drozofil tomu, co je uvedeno na zkumavkách. Napište pod obrázky příslušné symboly pro pohlaví a barvu očí vyobrazených drozofil



.....

.....



.....

.....

- Opatrně přesuňte drozofily (samečky i samičky) do Erlenmeyerovy baňky. Baňku rychle zazátkujte vatou a popište



Příklad zápisu:

Den a čas cvičení (Po 7-8:45 apod.)

Skupina (FVL 1 apod.)

Označení pracovní skupiny (číslo, obrázek apod.)

Pohlaví a barva očí křížených jedinců (..... ×)



1. Jak dlouho trvá životní cyklus *Drosophila melanogaster* za standardních laboratorních podmínek?dní
2. Patří drozofila mezi holometabola nebo hemimetabola? Vymenujte stádia životního cyklu drozofily tak, jak jdou za sebou.
3. Jaká jiná označení se používají pro *Drosophila melanogaster* (uved' alespoň 3)?

2. CVIČENÍ: ODSTRANĚNÍ DOSPĚLÝCH DROZOFIL Z BAŇKY

Cílem je odstranit dospělé mouchy z kultivační nádoby, aby se nepletly s potomky.

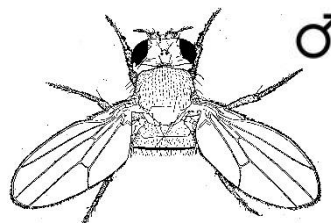
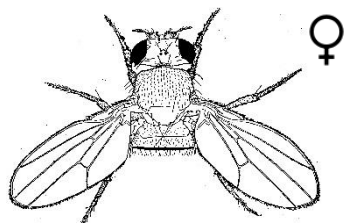
- Kápněte trochu éteru (asi 4 kapky) na vatou připevněnou zespodu uzávěru uspávací nádoby a nádobku uzavřete (nádobka se tak nasytí éterem). Poté nádobku otevřete a přesuňte do ní mouchy (jen dospělé!!) z kultivační nádoby a nádobku uzavřete.



- Přemístěte uspané dospělé drozofil z uspávací nádoby do zkumavky a zazátkujte je vatou



1. Doplňte karyotyp *Drosophila melanogaster* $2n = \dots\dots\dots$
2. Dokreslete tvar a pruhování zadečku drozofil podle pohlaví



3. Kdo první používal octomilky jako genetický model?
4. Napište 5 důvodů, proč se octomilky používají jako vhodný genetický model

- a)
- b)
- c)
- d)
- e)

3. CVIČENÍ: HODNOCENÍ VÝSLEDKU POKUSU

Pomocí éteru stejným způsobem jako ve 2. cvičení úspěšně mouchy (potomky).

➤ **Roztřídte drozofily podle pohlaví a barvy očí. Příslušné počty napište pod obrázky.**



.....

Závěr: Vyhodnoťte, jestli se barva očí u potomků vyštěpila dle očekávání? Pokud ne, vysvětlete, čím to mohlo být způsobeno, kde nastala chyba.



1. Odpovězte na otázky a podle zadání doplňte příslušné alely v P a F1 generaci. Doplňte také barvu očí potomstva.

a) Jak bude vypadat F1 generace, když v P generaci je dominantní alela přítomna u homogametického pohlaví XX? *Doplňte alely k chromozomům.*

P: $X X \times X Y$

F1: $X X, X Y$

Barva očí potomstva:

b) Jak bude vypadat F1 generace, když v P generaci je dominantní alela přítomna u heterogametického pohlaví XY?

P: $X X \times X Y$

F1: $X X, X Y$

Barva očí potomstva:

2. Vyberte správné odpovědi: Barva očí octomilek patří do dědičnosti pohlavím podmíněné/na pohlaví vázané/pohlavím ovlivněné/pohlavím ovládané. Geny leží na autozomech/gonozomech a to na heterologním segmentu Y/ heterologním segmentu X/homologním segmentu X.

3. Doplňte větu: Dominantní barva očí je, alela pro tuto barvu se značí Recesivní barva očí je, alela se značí

4. U drozofil je vyšlechtěno mnoho mutací. Přiřadte k některým z nich jejich fenotyp. Jaké mutace jsou na obrázku?

- | | |
|-----------|-----------------------|
| eyeless | bílé oči |
| yellow | zakrnělá křídla |
| ebony | žluté zbarvení těla |
| curly | černé zbarvení těla |
| white | redukované oči |
| vestigial | křídla zahnutá nahoru |



Cvičení 9,10,11: MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

Jméno:

Skupina:



Cíl: Seznámení se ze základními metodami, využívanými k analýze DNA

1. izolace DNA
2. amplifikace DNA pomocí PCR
3. restriční štěpení PCR produktu
4. elektroforéza
5. vizualizace DNA a hodnocení výsledku



Úkol: Určení pohlaví ptačího jedince z biologického materiálu (svalová tkáň) pomocí restriční analýzy PCR produktu specifického genu.

MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE I – PŘÍPRAVA TKÁNĚ K IZOLACI DNA

Postup přípravy buněčného lyzátu:

1. vypreparujte kousek tkáně (svalovina ptáků) o velikosti maximálně dvou špendlíkových hlaviček a přeneste do mikrozkušavky (1,5 ml) popsané fixem
2. přidejte **700 µl roztoku TD1**
3. připipetujte **15 µl proteinázy K**
4. uzavřete mikrozkušavku, v ruce promíchejte překlápěním zkumavky a vložte do termobloku (vodní lázně) předehřátého na **56°C** a inkubujte min. 3 hod.
5. buněčný lyzáat se uchová do příštího týdne při pokojové teplotě



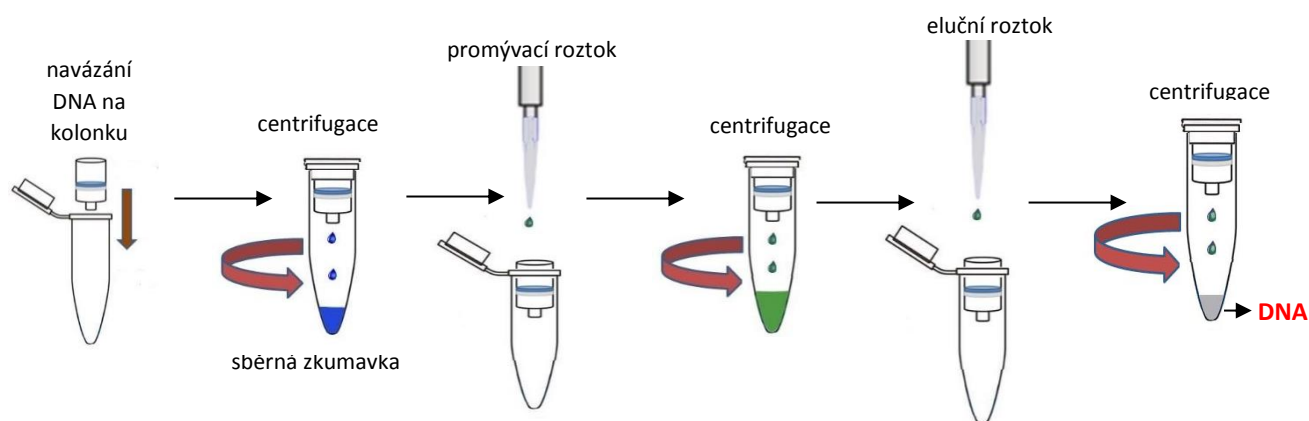
ZÁSADY PRÁCE

- studenti zpracovávají vzorek ve dvojicích
- mikrozkušavky je třeba označit číslem skupiny a pořadovým číslem dvojice studentů
- sada automatických pipet je k dispozici pro pracovní skupinu
- je nutné **vybrat správnou pipetu dle rozsahu objemu**
- zkontrolovat a **nastavit na pipetě požadovaný objem** - pozor na přetočení pipety mimo dané rozmezí!!
- k zajištění přesného objemu je třeba důkladně **nasadit špičku na pipetu (bezdotykově!!)**
- k zabránění kontaminace pipet se pro práci s DNA používá špička s filtrem
- k zabránění kontaminace vzorku a chemikálií se pro každou chemikálii používá vždy **nová špička** (jednu špičku lze použít pro stejnou chemikálii)
- požadovaný objem se získá stlačením pipety do **první polohy** a ponořením špičky pipety do nasávané tekutiny, uvolněním stlačení, přenesením požadovaného objemu do zkumavky a stlačením pipety do první polohy
- **homogenizace vzorku** se provádí ve zkumavce tzv. **propipetováním** tj. po přidání určité chemikálie do zkumavky třikrát opakovaně nasát směs do špičky a vytlačit
- **odstranění špičky** se provádí **bezdotykově**

MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE II – IZOLACE DNA A PCR

IZOLACE DNA

1. vezměte kolonku se sběrnou zkumavkou a víčko kolonky popište fixem
2. přelijte celý obsah z mikrozukmavky do kolonky
3. **centrifugujte 1 min při 10 000** otáčkách
4. obsah sběrné zkumavky vylijte a vraťte pod kolonku
5. do kolonky napipetujte (novou špičkou) **400 µl** promývacího roztoku **TD2**
6. **centrifugujte 1 min při 10 000** otáčkách
7. obsah sběrné zkumavky vylijte a vraťte pod kolonku
8. **centrifugujte 1 min při 10 000** otáčkách
9. vložte kolonku do nové mikrozukmavky (1,5 ml) popsané fixem (původní sběrnou zkumavku vyhoďte)
10. napipetujte doprostřed kolonky **40 µl elučního roztoku TD3**
11. **inkubujte 1 min** při pokojové teplotě
12. **centrifugujte 1 min při 10 000** otáčkách
13. odstraňte kolonku (vyhoďte ji do odpadní nádoby) a uzavřete mikrozukmavku, která obsahuje izolovanou DNA



PCR

Směs pro jeden vzorek:

- **10 µl - PCR master mix** (směs nukleotidů dNTP, DNA polymerázy a Mg^{2+} iontů)
- **2 µl - primer PP**
- **2 µl - primer P8**
- **4 µl - voda pro PCR**

Každá pracovní skupina si do mikrozukmavky (1,5 ml) připraví společnou PCR směs dle počtu vzorků (n) s rezervou (n+1):

1. napipetujte **18 µl PCR** směsi do PCR zkumavky (**0,2 ml**) označené fixem (na boku i víčku)
2. přidejte **2 µl izolované DNA**
3. uzavřete PCR mikrozukmavku a vložte ji do termocyklieru
4. po dokončení PCR bude PCR produkt uchován v lednici

MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE III – RESTRIKČNÍ REAKCE, ELEKTROFORÉZA

RESTRIKČNÍ REAKCE

1. napipetujte **1,2 μ l** směsi **restriktázy Hae III** do nové označené PCR zkumavky (0,2 ml)
2. přidejte pipetou (novou špičkou s filtrem) **10 μ l PCR produktu**
3. vložte do termocykleru při teplotě **37 °C na 45 min**

GELOVÁ ELEKTROFORÉZA

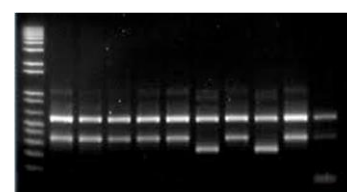
Příprava 1,2% agarózového gelu (jeden gel pro 12 studentů)

1. do baňky typu Erlen odvažte **1,2 g agarózy**
2. skleněným válcem odměřte **100 ml TBE pufaru**, přidejte do baňky a kroužením promíchejte
3. dejte baňku do mikrovlnné trouby a vařte na max. ohřev **2 min** (jakmile začne obsah kádinky bublat, přerušte ohřev a promíchejte obsah kádinky v ruce s rukavicí)
4. vyjměte baňku z mikrovlnné trouby a ochladte ji pod tekoucí vodou o teplotě **60 °C** (teplota, kdy několik sekund udržíte kádinku přiloženou ke hřbetu ruky)
5. napipetujte (novou špičkou) **3 μ l MIDORI Green** (10000x koncentrovaný roztok) a v ruce promíchejte
6. připravte si nalévací vanu a přelijte do ní rozehřátý agar z baňky
7. do vany vložte hřebínek a pipetovací špičkou odstraňte případné bubliny v gelu (agar ztuhne asi po 30 min)



Nanášení vzorků

1. po ztuhnutí gelu vyjměte hřebínek, otočte vanu s gelem a zalijte vanu TBE pufrem tak, aby byl celý gel ponořený
2. do jedné z jamek v gelu (nejlépe do prostřední) naneste **3 μ l** velikostního markeru (ladderu)
3. do jamek v gelu nanášejte (novou špičkou) opatrně **10 μ l** vašeho PCR produktu po restriktční analýze (je třeba manipulovat s pipetou opatrně, ať neprotrhnete gel). Každý nanáší svůj vzorek.
4. do jedné z jamek v gelu naneste **10 μ l** směsného vzorku **PCR produktu** (směsný vzorek PCR produktu připravíte smícháním všech vzorků ve cvičebně)
5. zapojte elektroforetickou vanu do zdroje a pusťte elektrický proud při konstantním napětí **160 V** po dobu min. **15-20 min**
6. po ukončení elektroforézy přemístěte gel na UV-transluminátor a pod UV zářením odečtete výsledek (v rámci bezpečnosti je třeba pozorovat gel přes plastový kryt)



KONTROLNÍ OTÁZKY



1. Vyberte, z jakého materiálu lze izolovat DNA?

- A) priony, B) savčí krev, C) ptačí krev, D) vlasová cibulka, E) plodová voda, F) sliny, G) bakterie, H) rostlinné pletivo, I) kvasinky, J) viry

2. Zakroužkujte ANO/NE dle pravdivosti jednotlivých tvrzení

- | | |
|-----------------------------------------------------------------------|----------|
| 1. Molekulární biologie studuje strukturu a interakci biomakromolekul | ANO – NE |
| 2. Chromatografie <u>nepatří</u> mezi metody molekulární biologie | ANO – NE |
| 3. DNA je možné izolovat i z virových částic | ANO – NE |
| 4. Tkáně nebo orgány musí být před izolací nejprve homogenizovány | ANO – NE |
| 5. Lysozym slouží k odstranění kontaminant a k extrakci DNA z roztoku | ANO – NE |
| 6. Termocykler je přístroj k izolaci DNA | ANO – NE |

3. Nakreslete strukturu DNA tak, aby bylo patrné, co tvoří základ řetězce a jak jsou oba řetězce spojeny, vyznačte i orientaci řetězců

4. Napište alespoň tři různé konkrétní účely, ke kterému se využívají metody molekulární biologie

1.
2.
3.

5. Kdo se zasloužil o rozvoj metody PCR?

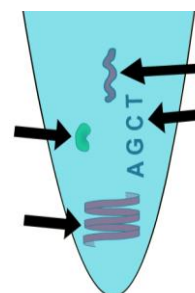
- A) Jeffreys, B) Mullis, C) Sanger, D) Linné

6. Popište obrázek - složky reakční směsi pro PCR

7. Kolik cyklů mívá obvykle PCR?

- A) 15-20, B) 25-35, C) 30-50, D) 50-100, E) víc než 100

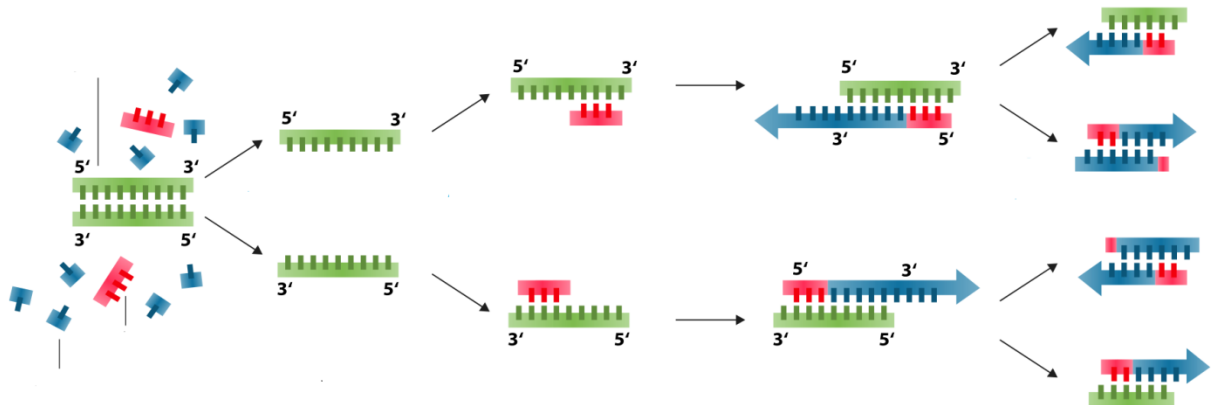
8. Kolik kopií DNA vznikne z jedné výchozí molekuly DNA po čtyřech cyklech PCR reakce?



9. Která tvrzení o primerech jsou pravdivá?

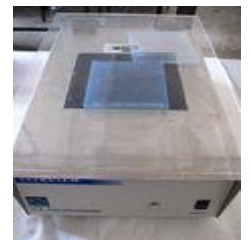
- | | |
|--------------------------------------------------------------------|-----------------|
| A) jsou to chemicky syntetizované oligonukleotidy | ANO - NE |
| B) slouží jako templáty (vzory) pro syntézu nového řetězce DNA | ANO - NE |
| C) vymezují úsek, který bude amplifikován (množen) | ANO - NE |
| D) k zahájení PCR reakce stačí jeden specifický primer | ANO - NE |
| E) připojují se ke komplementárním úsekům protilehlých DNA řetězců | ANO - NE |

10. Do schématu doplňte, o které fáze PCR se jedná a přiřaďte k nim teploty při kterých obecně probíhají (72 °C, 94-95 °C, 55-65 °C)



Fáze: (teplota) 1) 2) 3)

11. Jak se nazývají přístroje na obrázcích a k čemu slouží?



.....

12. Jak lze orientačně zjistit velikost úseků DNA v gelu? Vyberte správnou odpověď.

- A) pravítkem, B) pomocí velikostního standardu (žebříčku), C) pomocí enzymů, D) nelze zjistit, musí se sekvenovat

13. Při jaké teplotě probíhá štěpení DNA pomocí restrikční endonukleázy?

- A) 94°C, B) 20°C, C) 75°C, D) 37°C

14. Opravte text (nehodící se škrtněte, doplňte, nebo vyberte správnou možnost)

A. Izolace DNA

Izolace DNA se provádí pomocí izolační soupravy, založené na principu adsorpce na silikát. Vyšetřovaný materiál (ptačí tkáň) je lyzován pomocí (obsahuje detergenty, které rozpouští membrány a denaturuje), enzymu (štěpí bílkoviny včetně histonů vázajících se na DNA) a enzymu (rozkládá RNA).

Výběr odpovědí: *lyzační pufr, RNAáza, DNA, proteináza K, bílkoviny*

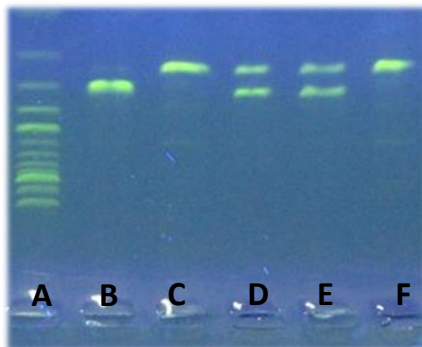
Buněčný lyzát byl přenesen na izolační kolonku/do sběrné zkumavky, jejíž součástí je silikonový/silikátový povrch. V přítomnosti choanotropních solí, které jsou součástí lyzačního pufu adheruje/precipituje DNA na silikát. Opakovanou denaturací/centrifugací byla kolonka s navázanou DNA promyta pomocí promývacího roztoku a nakonec uvolněna pomocí elučního/lyzačního roztoku.

B. Restrikční reakce

K určení pohlaví u ptáků se využívá gen CHD/ gen SRY, který kóduje lipid/protein, jež reguluje aktivaci transkripce na úrovni chromatinu. Tento gen je u ptáků lokalizován na autozomech/gonozomech. Samčí pohlaví je u ptáků homogametické/heterogametické s pohlavními chromozomy XX/XY/ZZ/ZW. Samičí pohlaví se značí

Pomocí PCR byla namnožena RNA/DNA odpovídající části genu na chromozomu a na chromozomu..... PCR produkt byl štěpen pomocí enzymu PCR produkt genu CHD-Z toto místo obsahuje/neobsahuje, proto dojde působením enzymu k odštěpení fragmentu DNA, zatímco PCR produkt genu se enzymem neštěpí. Fragменты DNA byly separovány pomocí spektrofotometru/gelové elektroforézy, vizualizovány pod ultrafialovým/elektromagnetickým zářením a vyhodnoceny.

15. K písmenům z fotky gelu přiřipšte, zda se jedná o samce, samici, nenaštěpený PCR produkt či velikostní standart (žebříček).



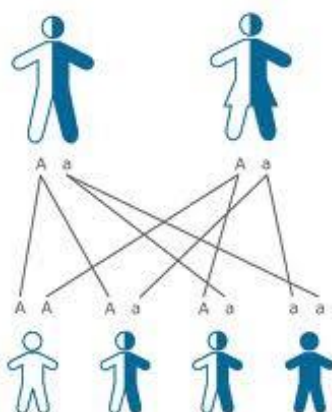
- A.
- B.
- C.
- D.
- E.
- F.

VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ UNIVERZITA BRNO

FAKULTA VETERINÁRNÍ HYGIENY A EKOLOGIE

Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat

GENETICKÉ PŘÍKLADY



Genetické příklady I: MENDELISMUS, MONOHYBRIDISMUS

Jméno:

Skupina:



Vzorový úkol: 1

Napište úplný rozpis křížení homozygotních forem hledíku (*Antirrhinum maius*) červenokvětého (AA) s bělokvětým (aa). Heterozygot (Aa) má květy růžové.



- Doplňte genotypy a napište fenotypový a genotypový štěpný poměr v F1 a F2 generaci.
- Jak je dědičně založena barva květů hledíku (úplná nebo neúplná dominance)?
- Na zahrádce vyrostlo 14 červených, 58 růžových a 28 bílých rostlin. Pomocí χ^2 testu zjistěte, zda odpovídají teoretickému štěpnému poměru. (tabulková hodnota - příloha skript 1).

Řešení

a) P: AA × aa

	A	A
a	Aa	Aa
a	Aa	Aa

Aa × Aa

	A	a
A	AA	Aa
a	Aa	aa

F1 : Aa (uniformní potomstvo)

F2: fenotypový poměr **1:2:1**
genotypový poměr **1:2:1**

b) Mezi alelami je vztah **neúplné dominance**

c)

x_i

očekávaný poměr:

14	58	28
1	2	1
25	50	25

e_i

(e_i hodnoty vypočítáte sečtením $14+58+28 = 100/4=25$, poté násobíte 25×1 , 25×2 a 25×1)

$$\chi^2_{(N)} = \sum \frac{(x_i - e_i)^2}{e_i} \quad (\text{do vzorce se dosazují hodnoty } x_i \text{ a } e_i, \text{ viz ovály})$$

$$\chi^2 = \frac{(14-25)^2}{25} + \frac{(58-50)^2}{50} + \frac{(28-25)^2}{25} = 4,84 + 1,28 + 0,36 = \mathbf{6,48}$$

$$N = (\text{počet štěpných tříd} - 1) = 3 - 1 = \mathbf{2}$$

P = (berte hodnotu pro 5% odchylku, která se ve statistice používá nejčastěji) = **0,05**

Tabulková hodnota: **5,99**

6,48 < 5,99 (vypočtená hodnota je větší než tabulková).....znak se nevyštěpil v očekávaném fenotypovém štěpném poměru.



Vyřešte následující úkoly:

2. Pomocí χ^2 testu zjistěte, zda experimentální štěpný poměr F2 generace; 79 kuních tmavých, 170 kuních světlých a 95 ruských králíků odpovídá zjištěnému teoretickému fenotypovému štěpnému poměru (tabulková hodnota - příloha skript 1).

3. U tykví je bílá barva plodu dominantní nad žlutou. Alela **W** podmiňuje bílé zbarvení, alela **w** žluté zbarvení.

a) Po křížení tykví s bíle zbarvenými plody byly získány asi 3/4 potomků s bílými a 1/4 potomků se žlutými plody. Jaké byly genotypy rodičů a potomků?

b) Máte tykev s bílými plody. Jaký způsob křížení zvolíte ke zjištění, zda jde o homozygota či heterozygota? Napište rozpis možných křížení (genotypy i fenotypy zúčastněných rostlin).

4. Modrou a hnědou barvu očí člověka podmiňují různé alely téhož genu. Při studiu jedné populace byly u 337 rodin zjištěny tyto údaje:

Rodiče (barva očí)	Počet rodin	Děti barva očí	
		modrá	hnědá
Modré × modré	150	625	0
Modré × hnědé	158	317	322
Hnědé × hnědé	29	25	82

Která barva očí je dominantní? Užijte symbolů B, b a napište každý z typů křížení.

5. Dvě černé myši samičky byly kříženy s hnědými samečkami. V několika vrzích měla jedna samička 9 černých a 7 hnědých myší, druhá samička měla v několika vrzích 57 černých myší.

a) Odvoďte, jak se dědí černé a hnědé zbarvení srsti u myší. Která barva srsti je dominantní, která recesivní a proč?

b) Jaké byly genotypy rodičů v uvedených kříženích (použijte symboly pro alel **D** a **d**)?

Doplňková sada:

6. Křížením tykve s bílými plody s tykví mající žluté plody vzniklo potomstvo: 327 rostlin s bílými plody a 361 se žlutými (viz úkol 3).

a) Zapište genotypy rostlin. Jaký je genotyp výchozí tykve s bílými plody?

b) Jak se nazývá uvedený typ křížení?

c) Proveďte χ^2 test pro ověření štěpných poměrů (tabulková hodnota - příloha 1).

7. U okurky jsou listy typicky dlanité, je však znám gen, který podmiňuje vějířovité listy nazývané ginkgo, poněvadž se podobají listům stromu jinanu dvouláložného (*Ginkgo biloba*). Po křížení homozygotní rostliny s listy dlanitými s homozygotní rostlinou s listy ginkgo byly listy všech rostlin F1 generace dlanité.

a) Jaký tvar listů je dominantní?

b) Uveďte genotypový a fenotypový štěpný poměr v F2 generaci a při zpětném křížení.

8. U andaluského plemene slepic podmiňuje alela **B** tmavou barvu peří a alela **b** bílou. Slepice heterozygotní konstituce mají peří modravé.

Jaké bude potomstvo po křížení modravé slepice s kohoutem: a) s tmavým peřím, b) s modravým peřím, c) s bílým peřím?

VÝPOČTY

Genetické příklady II: DI-, POLYHYBRIDISMUS

Jméno:

Skupina:



Vzorový úkol: 1

Odvoďte fenotypový a genotypový štěpný poměr v F2 a B1 generaci při dihybridismu za použití kombinačního čtverce/závorkové/rozvětovací metody. U obou sledovaných genů (A a B) je mezi alelami vztah úplné dominance.



Řešení:

F1: AaBb × AaBb

gamety: AB, Ab, aB, ab × AB, Ab, aB, ab

Kombinační čtverec:

	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
Ab	AABb	AAbb	AaBb	Aabb
aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb
ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

F2: fenotypový štěpný poměr: 9:3:3:1 (různé kombinace fenotypů)

genotypový štěpný poměr: **1:2:1:2:4:2:1:2:1** (různé kombinace alel)

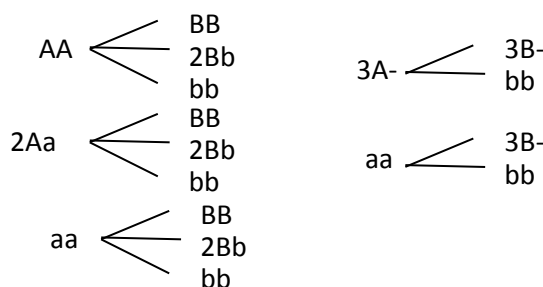
Závorková metoda:

Aa × Aa ...AA, 2Aa, aa = genotypový štěpný poměr (1:2:1), fenotypový štěpný poměr (3:1)

Bb × Bb.....BB, 2Bb, bb = genotypový štěpný poměr (1:2:1), fenotypový štěpný poměr (3:1)

(3:1) × (3:1) = **9:3:3:1**

(1:2:1) × (1:2:1) = **1:2:1:2:4:2:1:2:1**



Rozvětvací metoda:

Zpětné křížení: AaBb ×

gamety: AB, Ab, aB, ab

	AB	Ab	aB	ab	aabb
ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb	

B1: genotypový i fenotypový štěpný poměr: 1:1:1:1



Vyřešte následující úkoly:

1. Vyplňte dihybridní kombinační čtverec a odvoďte fenotypový a genotypový štěpný poměr potomstva morčat dihybridů genotypů **RrBb** (**R** - hrubá srst, **r** - hladká srst, **B** - černá srst, **b** - bílá srst). U obou genů je mezi alelami vztah úplné dominance.

Jaký bude štěpný poměr při zpětném křížení?

2. Za použití rozvětovací metody stanovte genotypy gamet jedince s genotypem:

- a) RrssTtUU
- b) AaBBCcddEe
- c) KklImmNnOOppQq

3. Pomocí rozvětovací (nebo závorkové) metody určete genotypový a fenotypový štěpný poměr u potomstva po křížení hybridů: AaBBCcddEe × aaBBCcDdee (u všech genů je mezi alelami vztah neúplné dominance).

4. Křížením černého hrubosrstého morčete s morčetem bílým hrubosrstým (značení alel viz úkol 1) vzniklo následující potomstvo: 32 černých hrubosrstých, 33 bílých hrubosrstých, 12 černých hladkosrstých a 9 bílých hladkosrstých.

- a) Jaké byly genotypy obou křížených morčat?
- b) Pomocí rozvětovací metody zjistěte teoretické frekvence genotypů potomků vzniklých tímto křížením.
- c) Pomocí χ^2 testu ověřte shodu mezi vzniklým (empirickým) a teoretickým fenotypovým štěpným poměrem (tabulková hodnota – skripta příloha 1).

5. U holubů je hladká hlava (**C**) dominantní nad chocholkou (**c**) a oranžové zbarvení oka (**T**) dominantní nad perlovým (**t**). Určete genotypy rodičů v těchto kříženích:

- a) holub s hladkou hlavou a oranžovým okem × holubice s hladkou hlavou a perlovým okem (potomstvo: $\frac{3}{4}$ s hladkou hlavou a oranžovým okem + $\frac{1}{4}$ s chocholkou a oranžovým okem)
- b) holub s hladkou hlavou a oranžovým okem × holubice s hladkou hlavou a perlovým okem (potomstvo: $\frac{1}{2}$ s hladkou hlavou a oranžovým okem + $\frac{1}{2}$ s hladkou hlavou a perlovým okem)
- c) holub s hladkou hlavou a oranžovým okem × holubice s hladkou hlavou a oranžovým okem (potomstvo: 9 hladká hlava s oranžovým okem + 3 hladká hlava s perlovým okem + 3 hlava s chocholkou a oranžovým okem + 1 hlava s chocholkou a perlovým okem)

Doplňková sada:

6. Pomocí rozvětovací (nebo závorkové) metody určete genotypový a fenotypový štěpný poměr u potomstva po křížení hybridů: RrssTtUU × RrSsTtuu (u všech genů je mezi alelami vztah úplné dominance).

7. U tykve je bílý plod (**W**) dominantní nad žlutým (**w**) a diskovitý tvar plodu (**D**) dominantní nad kulatým tvarem (**d**). Určete genotypy rodičů v těchto kříženích:

- a) bílý diskovitý × žlutý kulatý (potomstvo: $\frac{1}{2}$ bílých diskovitých a $\frac{1}{2}$ bílých kulatých)
- b) bílý diskovitý × žlutý kulatý (potomstvo: $\frac{1}{4}$ bílých diskovitých, $\frac{1}{4}$ bílých kulatých, $\frac{1}{4}$ žlutých diskovitých a $\frac{1}{4}$ žlutých kulatých)
- c) bílý diskovitý × bílý diskovitý (potomstvo: 28 bílých diskovitých, 9 bílých kulatých, 10 žlutých diskovitých a 3 žluté kulaté)

VÝPOČTY

Genetické příklady III: POLYMORFNÍ GENY

Jméno:

Skupina:



Vzorový úkol: 1

U králíků existuje alelová série s dominancí v tomto pořadí: zbarvená srst (**C**), himálajský albinismus (**c^h**), albinismus (**c^a**).

- Jaká bude srst u potomků z křížení dvou homozygotů, a to zbarveného králíka s králíkem s albinem?
- Určete genotypy rodičů při křížení albína a himálajského králíka, kdy $\frac{1}{2}$ potomků jsou albíni a $\frac{1}{2}$ himálajští albíni.

Řešení:

C- (CC, Cc^h, Cc^a) zbarvený

c^h- (c^hc^h, c^hc^a) himálajský albinismus

c^a- (c^ac^a) albinismus

- CC × c^ac^a

Cc^a Potomci budou mít zbarvenou srst.

- c^a × c^h-

$\frac{1}{2}$ c^ac^a, $\frac{1}{2}$ c^h-

Druhá alela u obou rodičů musí být c^a, aby mohli mít potomka s genotypem c^ac^a.

Genotypy rodičů jsou: c^ac^a a c^hc^a



Vyřešte následující úkoly:

2. U králíků existuje alelová série s dominancí v tomto pořadí: zbarvená srst (**C**), himálajský albinismus (**c^h**), albinismus (**c^a**).

- Jaká bude srst u potomků z křížení dvou homozygotů, a to zbarveného králíka s králíkem s himálajským albinismem?
- Určete genotypy rodičů při křížení zbarveného a himálajského králíka, kdy $\frac{1}{2}$ potomků je zbarvená, $\frac{1}{4}$ himálajská a $\frac{1}{4}$ albinotická.

3. Krevní skupiny u lidí určují tři alely **I^A**, **I^B** a **i**. Alely **I^A**, **I^B** jsou dominantní nad alelou **i** a vůči sobě jsou kodominantní (podílí se na tvorbě krevní skupiny AB). U lidí se tak vyskytují 4 krevní skupiny: **A** (genotypy: I^AI^A, I^Ai), **B** (genotypy: I^BI^B, I^Bi), **AB** (genotyp: I^AI^B), **O** (genotyp: ii).

- Jaké krevní skupiny mohou mít děti, jejichž rodiče mají genotypy I^Ai a I^Bi ?
- Určete genotypy rodičů, když otec měl skupinu AB, matka B a jejich děti z $\frac{1}{4}$ A, $\frac{1}{4}$ AB a $\frac{1}{2}$ B.
- Kterého z mužů lze vyloučit jako otce dítěte? Matka má krevní skupinu B, dítě O, jeden muž A a druhý AB.
- Oba rodiče mají heterozygotně krevní skupinu B. Jaká je pravděpodobnost, že jejich prvorozený syn zdědí skupinu B? A jaká je tato pravděpodobnost, bude-li prvorozeným potomkem dcera?
- Na porodním oddělení se v krátkém časovém úseku během téže noci narodily čtyři děti s krevními skupinami A, B, AB, O. Kvůli omylu porodní asistentky nebylo jisté, které dítě se

narodilo které matce. Byly proto vyšetřeny krevní skupiny všech čtyř párů rodičů těchto dětí a zjištěno, že pár 1 má krevní skupiny B x B, pár 2 má skupiny O x AB, pár 3 skupiny A x B a pár 4 skupiny O x O. Mohly být nyní všem rodičům předáno s jistotou jejich děti? A které kterým?

4. Krevní skupiny u koček určují tři alely **A**, **a^{ab}**, **b** (dominance alel je v tomto pořadí: **A** > **a^{ab}** > **b**). U koček se tak vyskytují tři krevní skupiny: **A** (genotypy: AA, Aa^{ab}, Ab) **AB** (genotypy: a^{ab}a^{ab}, a^{ab}b) a **B** (genotyp bb).

- a) Kočka s krevní skupinou B byla spářena s kocourem s neznámou krevní skupinou. Při vyšetření krevních skupin jejich koťat se ukázalo, že čtyři koťata mají krevní skupinu A a tři krevní skupinu B. Jaké byly genotypy rodičů a koťat?
- b) Kočka s krevní skupinou A byla spářena s kocourem s krevní skupinou B. Jaké krevní skupiny mohou mít jejich koťata?

Doplňková sada:

5. Krevní skupiny u lidí

- a) Zjistěte krevní skupiny mužů, u kterých lze vyloučit paternitu, znáte-li krevní skupiny matky a dítěte: a) matka O, dítě A, b) matka O, dítě O, c) matka A, dítě B, d) matka AB, dítě B
- b) Oba rodiče mají heterozygotně krevní skupinu A. Jaká je pravděpodobnost, že jejich první dvě děti budou obě mít rovněž krevní skupinu A?
- c) Matka má krevní skupinu B a její dítě skupinu A. Matka označuje za otce muže, který má skupinu AB. Může být tento muž skutečně jeho otcem?

6. Kočka s krevní skupinou AB měla postupně koťata s dvěma kocoury. Koťata z prvního vrhu měla všechna krevní skupinu A, koťata z druhého vrhu měla krevní skupiny A, AB nebo B. Jakou krevní skupinu měli oba kocouři a jaké genotypy nesli rodiče a potomci?

VÝPOČTY

Genetické příklady IV: DĚDIČNOST VÁZANÁ NA POHLAVÍ

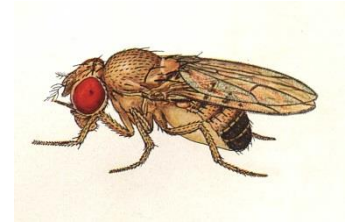
Jméno:

Skupina:



Vzorový úkol: 1

Mutace (*miniature*, *m*) u *Drosophila melanogaster* představuje typ s malými úzkými křídly, jen nepatrně přesahujícími abdomen. Jejich tmavě šedé zbarvení je způsobeno chloupky hustě nahlučenými na buňkách zmenšených rozměrů. Křížením jedinců z populace, v níž se tato mutace vyskytuje, byly získány níže uvedené číselné poměry v potomstvech. (normální velikost +)



+		m	
samice	samec	samice	samec
204	100	0	96

Jaké byly genotypy rodičů?

Řešení:

	$X^?$	$X^?$
$X^?$	$X^+X^?$	$X^+X^?$
Y	X^+Y	X^mY

	X^+	X^m
X^+	X^+X^+	X^+X^m
Y	X^+Y	X^mY

Genotyp otce byl X^+Y , genotyp matky X^+X^m .



Vyřešte následující úkoly:

2. Barva očí u *Drosophila melanogaster* je podmíněna dvěma alelami, které se značí horním indexem $+$ (dominantní alela) a m (recesivní alela). Červená barva je dominantní nad bílou.

- Na kterém chromozomu se nachází gen pro barvu očí? O jaký typ dědičnosti se jedná?
- Zjistěte ideální štěpné poměry potomstva F1 generace po křížení červenooké samičky drozofily s bělookým samečkem a bělooké samičky s červenookým samečkem.

3. Dominantní alela genu Y v homozygotním stavu u koček a v hemizygotním stavu u kocourů podmiňuje černé zbarvení srsti. Recesivní alela podmiňuje žluté zbarvení. Heterozygotní kočky mají želvovinové zbarvení.

- Na kterém chromozomu se nachází gen pro zbarvení srsti koček? O jaký typ dědičnosti se jedná?
- Černá kočka měla želvovinově zbarvené kotě a 4 černá koťata. Jaký genotyp a barvu srsti měl jejich otec? Jakého pohlaví byla černá koťata?
- Želvovinově zbarvená kočka byla spářena se žlutě zbarveným kocourem. Jaká je pravděpodobnost vzniku žlutě zbarvených kocourků a kočiček v potomstvu?

4. Barvoslepost (daltonismus) se dědí gonozomálně recesivně (gen D). Manželé měli barvoslepotou dceru, její matka však rozlišovala barvy normálně. Jaké byly genotypy obou rodičů?

5. Hemofilie je choroba recesivně dědičná, vázaná na chromozom X (gen **H**). Muži hemofilikovi a jeho homozygotně zdravé ženě se narodila dcera. Jaký je genotyp této dcery?

6. U ayrshirského skotu je zbarvení dáno genem **M**. Krávy i býci genotypu **MM** mají mahagonové zbarvení. Recesivní homozygoti **mm** jsou červenostrakatí. Býci genotypu **Mm** jsou mahagonoví, zatímco krávy jsou červenostrakaté.

- O jaký typ dědičnosti se jedná? Jaké bude zbarvení srsti jedinců v F2 generaci?
- Červenostakatá kráva, jejíž otec byl mahagonový býk, byla křížena s červenostakatým býkem. Uveďte genotypy a fenotypy rodičů i potomků.
- Mahagonová kráva porodila červenostakaté tele. Můžete zjistit pohlaví tohoto telete?

Doplňková sada:

7. U mužů je gen pro plešatost **P** dominantní nad stavem bez plešatosti, tj. muž s genotypy **PP**, **Pp** je plešatý, zatímco žena je plešatá pouze s genotypem **PP**. Gen **B** podmiňuje barvu očí, hnědá barva očí je dominantní nad modrou.

- O jaký typ dědičnosti se v případě plešatosti jedná?
- Hnědooký plešatý muž, jehož otec nebyl plešatý a měl modré oči, se oženil s modrookou blondýnkou, jejíž otec i bratři byli plešatí. Jaké budou jejich děti co do barvy očí a plešatosti?

8. U akvarijské ryby bojovnice pestré (*Betta splendens*) vyvolává dominantní alela genu **Z** zvětšení ploutví pouze za přítomnosti samčích pohlavních hormonů.

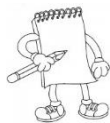
- O jaký typ dědičnosti se jedná? Jaká bude velikost ploutví jedinců v F2 generaci?
- Uveďte příklad křížení, při kterém odhalíte heterozygotní genotyp samců a homozygotně dominantní genotyp samic. Máte k dispozici čisté linie recesivních homozygotů (**zz**).

VÝPOČTY

Genetické příklady V: GENOVÉ INTERAKCE

Jméno:

Skupina:



Vzorový úkol: 1

Purpurové zbarvení u hrachoru je způsobeno přítomností alespoň jedné dominantní alely ale současně u obou genů (C-P-). Ostatní kombinace genotypů podmiňují bílé zbarvení květů.

- a) Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci jde v tomto případě?
- b) Jaká bude barva květů potomstva z křížení: 1) CcPp × CcPP, 2) CcPp × ccPp?



Řešení:

a) CcPp × CcPp

gamety: CP, Cp, cP, cp × CP, Cp, cP, cp

	CP	Cp	cP	cp
CP	CCPP	CCPp	CcPP	CcPp
Cp	CCPp	CCpp	CcPp	Ccpp
cP	CcPP	CcPp	ccPP	ccPp
cp	CcPp	Ccpp	ccPp	ccpp

Fenotypový štěpný poměr: **9 (purpurové) : 7 (bílá), jedná se o komplementaritu.**

b) CcPp × CcPP

	CP	Cp	cP	cp
CP	CCPP	CCPp	CcPP	CcPp
cP	CcPP	CcPp	ccPP	ccPp

Fenotypový štěpný poměr:
3(purpurové):1(bílá)

CcPp × ccPp

	Cp	cp
cP	CcPP	ccPp
cp	Ccpp	ccpp

Fenotypový štěpný poměr:
3(bílá):1(purpurová)



Vyřešte následující úkoly:

1. U prasat plemene Duroc je červená barva podmíněna současnou přítomností dominantních alel v genech **R** a **S**. Přítomnost dominantní alely v jednom z těchto genů vede k pískovému zbarvení, zatímco jedinci dvojnásobně recesivně homozygotní jsou bělaví.
 - a) Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci (nebo pomocí rozvětovací metody) fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci se jedná?
 - b) Jaké bude zbarvení selat a fenotypový štěpný poměr v kříženích: 1) $RRSs \times rrSs$, 2) $rrss \times RrSs$?
2. Dědičnost barvy peří kanárů je podmíněna geny **A**, **B**. Dominantní alela genu **A** podmiňuje červené zbarvení, dominantní alela genu **B** podmiňuje žluté zbarvení. V homozygotní sestavě $aabb$ je peří zbarveno bíle, jedinci genotypu $A-B-$ jsou bílí.
 - a) Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci (nebo pomocí rozvětovací metody) fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci se jedná?
 - b) Třetí gen **C** určuje upravení peří. Ptáci s dominantní alelou **C** jsou hladcí, ptáci s kombinací cc mají rozčepýřené peří. Pomocí rozvětovací metody zjistěte fenotypový štěpný poměr u potomků vzniklých křížením rodičů s genotypy: $AaBbCC \times AabbCc$.
3. Předpokládejme, že u andulky vlnkované (*Melopsittacus undulatus*) je barva peří podmíněna interakcí genů **F** a **O**. Gen **F** podmiňuje žluté zbarvení (genotypy $F-oo$), gen **O** zbarvení modré (genotypy $ffO-$). Jsou-li přítomny **F** a **O** společně, je andulka zelená (genotypy $F-O-$). Jedinci dvojnásobně recesivní mají zbarvení bílé (genotypy $ffoo$).
 - a) Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci (nebo pomocí rozvětovací metody) fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci jde v tomto případě?
 - b) Jaké bude zbarvení peří a fenotypový štěpný poměr u potomstva v kříženích: 1) $FFOo \times ffOo$, 2) $FfOO \times Ffoo$?
 - c) Při křížení žluté andulky s modrou bylo v potomstvu 6 andulek žlutých a 5 zelených. Určete genotypy rodičů.
 - d) Zelená andulka snesla jedno vejce, z něhož se vylíhlo mládě bíle zbarvené. Jaký byl genotyp samice andulky?
4. U některých druhů hlemýždů je proužkování ulity podmíněno přítomností dominantní alely současně v genech **C** a **S**. Jedinci ostatních genotypů mají ulitu bez proužků.
 - a) Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci se jedná?
 - b) Pomocí rozvětovací metody zjistěte fenotypový štěpný poměr u potomků vzniklých křížením rodičů s genotypy: $Ccss \times ccSs$.

5. U myší je pro tvorbu melaninu nezbytná přítomnost dominantní alely genu **C**. Dominantní alela genu **A** podmiňuje přeměnu tmavého barviva ve žluté.

a) Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci (nebo pomocí rozvětovací metody) fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci jde v tomto případě?

b) Jaké bude potomstvo po křížení černé myši (CCaa) s bílou (ccAA)?

6. U slepic vyvolává dominantní alela genu **A** zbarvení peří, alela jiného genu **I** toto zbarvení potlačuje, ale sama nemá účinek na fenotyp.

a) Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci se jedná?

b) Jaká bude barva peří slepic u potomstva z křížení: AaIi × AaIi?

7. Délka uší králíků je ovlivněna třemi geny **A**, **B**, **C**. Jedinci recesivně homozygotní ve všech třech genech mají uši dlouhé 10 cm a každá dominantní alela způsobí prodloužení uší o 2 cm. Jaké očekáváme délky uší a fenotypový štěpný poměr v potomstvu dvou králíků genotypů aaBbCc × AABbcc?

8. U dýní je gen pro oranžovou barvu plodu **W** a gen pro barvu bílou **Y**. Rostliny (W-Y-) a (W-yy) jsou oranžové, (wwY-) bílé a (wwyy) zelené.

a) Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci jde v tomto případě?

b) Jakou barvu plodů budou mít potomci z křížení WwYy × Wwyy? Jaký bude fenotypový štěpný poměr?

9. Ošupení u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) je podmíněno geny **S** a **N**, mezi nimiž je reciproká interakce s letálním efektem genu, který se dědí společně s dominantní alelou **N**. Jedinec genotypu NN hyne, protože nese homozygotně dominantní kombinaci letálního genu. Další typy ošupení jsou: řádkový (S-Nn), šupináč (S-nn), hladký (ssNn), lysec (ssnn).

a) Jaký je podíl jednotlivých typů ošupení a letálního efektu genotypu NN v potomstvu dvou řádkových kaprů s genotypy: SsNn × SsNn?

b) Pomocí rozvětovací metody zjistěte fenotypový štěpný poměr u potomků vzniklých křížením kapra s řádkovým uspořádáním šupin s kaprem hladkým.

Doplňková sada:

10. U slepic je opeření běháků vyvoláno přítomností jedné nebo více dominantních alel v genech **A** nebo **B**. Slepice genotypu aabb mají běháky neopeřené.

a) Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci se jedná?

b) Jaký bude poměr slepic s opeřenými a neopeřenými běháky v potomstvu kohouta s neopeřenými běháky a slepice s opeřenými běháky genotypu AaBb?

11. U labradorů je barva srsti podmíněna interakcí genů **B** a **E**. Dominantní alela genu **B** podmiňuje černé zbarvení, recesivní alela **b** podmiňuje hnědé zbarvení. Je-li přítomna alela **e** v homozygotní sestavě, je barva srsti zlatavá.

a) Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci se jedná?

b) Jaké bude zbarvení srsti štěňat z křížení zlatavého psa (**Bbee**) a černé feny (**BbEe**)?

12. U tykví je tvar plodu podmíněn dvěma geny. Je-li přítomna dominantní alela genu **A** anebo **B**, je plod kulatý, přítomnost dominantních alel obou genů dává plod diskovitý, v homozygotní sestavě **aabb** jsou plody protáhlé.

a) Různou barvou rozlište v kombinačním čtverci fenotypové kategorie vznikající křížením dihybridů (heterozygoti pro oba geny). O jakou genovou interakci jde?

b) Rostlina s diskovitými plody dala při křížení s rostlinou s kulatými plody 3/8 diskovitých, 1/2 kulatých a 1/8 protáhlých plodů. Jaké byly genotypy rodičů?

13. Dědičnost barvy srsti některých hlodavců je podmíněna geny **A**, **B**, **C**. Gen **C** je recesivně epistatický vůči genům **A**, **B** a způsobuje albinismus. Mezi geny **A** a **B** existuje reciproká interakce. Dominantní alela **A** podmiňuje šedé zbarvení, v homozygotní sestavě **aa** způsobuje černé zbarvení srsti. Dominantní alela **B** vytváří žlutou pigmentaci konců chloupků ("divoké zbarvení"), v homozygotní sestavě **bb** je bez fenotypového projevu.

Pomocí rozvětvací metody zjistěte možné fenotypy v generaci vzniklé křížením jedinců s genotypy: **AabbCc** x **AaBbcc**.

14. Dědičnost barvy vlasů člověka je podmíněna interakcemi šesti genů. Gen **A** podmiňuje tvorbu pigmentu a je recesivně epistatický vůči ostatním genům, tj. jedinec genotypu **aa** je albín. Gen **B** podmiňuje tvorbu hnědého pigmentu a je dominantně epistatický vůči genu **R**, tj. jedinec genotypu **bb** má světlé vlasy. Gen **R** umožňuje tvorbu rudého pigmentu, jeho recesivní alela **r** je inaktivní. Dominantní alely **D**, **F**, **V** kvantitativně ovlivňují intenzitu zbarvení. Mezi dvojicemi alel všech šesti genů je vztah úplné dominance.

Pomocí rozvětvací metody zjistěte možné fenotypy dětí černovlasých rodičů se stejným genotypem: **AaBBRrDDFfVv** x **AaBBRrDDFfVv**.

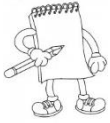
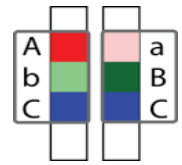
15. Jakými genovými interakcemi jsou pravděpodobně podmíněny uvedené pozorované štěpné poměry v potomstvu generace F_2 ? Otestujte pomocí χ^2 testu: a) 205 : 163, b) 225 : 92 : 114, c) 275 : 17

VÝPOČTY

Genetické příklady VI: VAZBA GENŮ

Jméno:

Skupina:



Vzorový úkol: 1

Určete vzájemnou lokalizaci genů **RST** a sílu vazby mezi sousedními geny na základě genetické analýzy potomstva vzniklého z testovacího křížení: $RrSsTt \times rrsstt$.

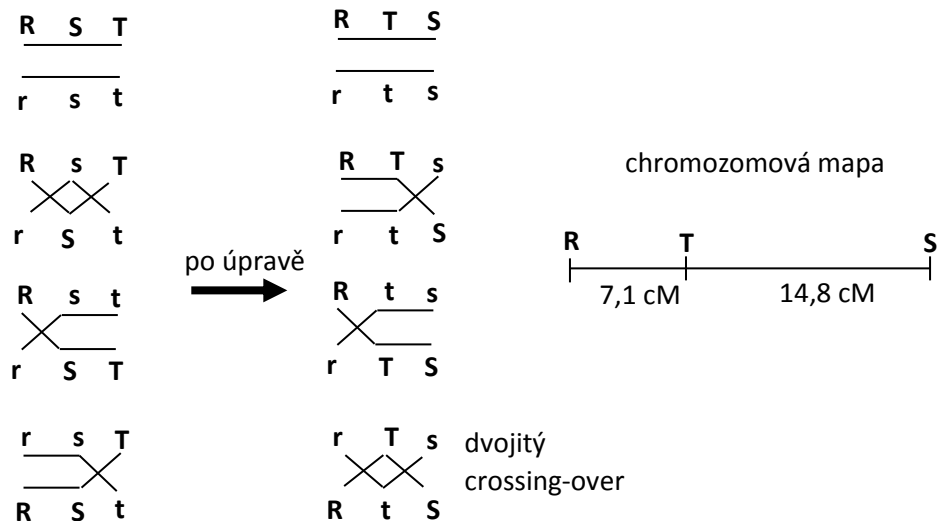
Řešení:

- 1) Stanovíme skutečné pořadí genů podle fenotypu, který má nejmenší četnost, tj. vznikl dvojitým crossing-overem. Kdyby bylo pořadí genů RST, pak by dvojitým crossing-overem vznikla kombinace RsT/rSt (viz obr.)“ Je proto potřeba změnit pořadí genů v rámci téhož chromozomu, tak aby vznikl dvojitý crossing-over a tím zjistíme i správné pořadí genů (v tomto případě to je **RTS**).
- 2) Změníme pořadí genů u všech odlišných fenotypů (viz obr.)
- 3) Vypočítáme sílu vazby pro geny RT a TS (síla vazby souvisí s četností crossing-overu, proto sečteme četnosti, kde mezi danými geny došlo ke crossing-overu (viz obr. po úpravě).

Fenotypy	%
<u>RST</u>	78,5
rst	
<u>RsT</u>	14,4
rSt	
<u>Rst</u>	6,7
rST	
<u>rsT</u>	0,4
RSt	

Síla vazby pro geny RT: $p(RT) = 6,7 + 0,4 = 7,1 \text{ cM}$; pro geny TS: $p(TS) = 14,4 + 0,4 = 14,8 \text{ cM}$.

- 4) Sestavíme chromozomovou mapu (jak jsou geny řazeny za sebou a jaká je mezi nimi vzdálenost).



Vyřešte následující úkoly:

1. Jaké gamety (genotypy) mohou vzniknout z gametogonie **AaBb**? Vyřešte pro:
 - a) neúplnou vazbu
 - b) úplnou vazbu a to v případě, že se bude jednat o vazbovou fázi cis a vazbovou fázi trans.

2. Vypočítejte teoretický štěpný poměr B₁ generace, která vznikla křížením jedinců uvedených genotypů, když víte, že síla vazby p(AB) = 16,6 cM a počet potomstva n = 1152.

$$\frac{AB}{ab} \times \frac{ab}{ab}$$

3. U slepic jsou opeřené nohy dominantní nad neopeřenými (gen **A**), hráškovitý tvar hřebínku dominantní nad jednoduchým (gen **B**) a bílé zbarvení dominantní nad tmavým (gen **C**).
Určete vzájemnou lokalizaci genů ABC a sílu vazby mezi sousedními geny na základě genetické analýzy potomstva vzniklého z testovacího křížení: AaBbCc × aabbcc.

Fenotypy	%
<u>ABC</u> abc	80,9
<u>ABc</u> abC	3,9
<u>Abc</u> aBC	14,6
<u>AbC</u> aBc	0,6

B₁ křížení:

$$\frac{ABC}{abc} \times \frac{abc}{abc}$$

4. Zjistěte genovou mapu V. chromozomu rajčete. Jde o seřazení genů **K, L, N, S** za sebou a o výpočet síly vazeb (p) v cM mezi sousedními geny.

Fenotypové frekvence potomků vzniklých testovacím křížením jsou uvedeny v tabulkách.

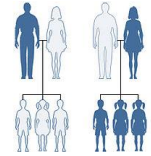
Fenotypy	%	Fenotypy	%
<u>NKS</u> nks	67,8	<u>KSL</u> ksl	49,6
<u>NkS</u> nKs	29,2	<u>kSl</u> KsL	21,4
<u>Nks</u> nKS	2,2	<u>KSl</u> ksL	20,4
<u>nkS</u> NKs	0,8	<u>Ksl</u> kSL	8,6

VÝPOČTY

Genetické příklady VII: NEMENDELISTICKÁ DĚDIČNOST

Jméno:

Skupina:



Vzorový úkol: 1

Směr vinutí ulity plovatky toulavé je dán alelami jaderného genu. Genotyp (DD, Dd) s dominantní alelou D určuje pravotočivou ulitu (P), genotyp (dd) s recesivními alelami d určuje levotočivou ulitu (L). Mezi alelami je úplná dominance.

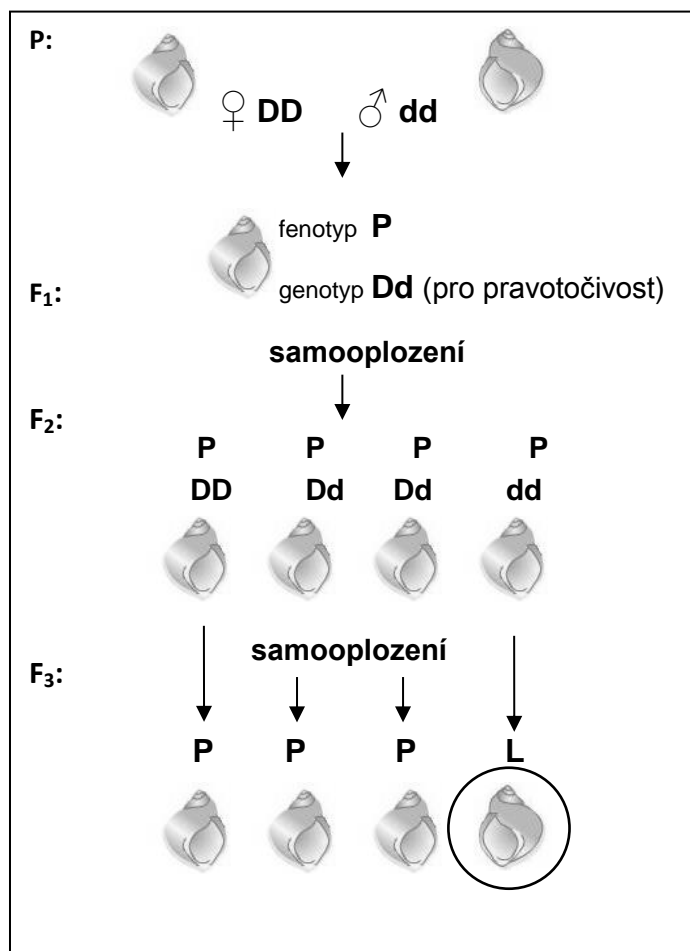


Fenotyp potomka (bez ohledu na jeho genotyp) **závisí na genotypu matky** (bez ohledu na její fenotyp).

Jaký bude fenotyp potomstva v F_1 , F_2 a F_3 generaci po zkřížení plovatky s genotypem pro pravotočivou (DD) a genotypem pro levotočivou (dd) ulitu?

Princip: již před fertilizací je v oocyту přítomen protein (produkt genu matky), který ovlivňuje orientaci mitotického vřeténka v první mitóze po fertilizaci a tím ovlivňuje vinutí ulity (doprava nebo doleva) u potomka.

Řešení:



P: křížení samice s genotypem pro pravotočivost a samce s genotypem pro levotočivost ulity.

F₁: vzniká fenotypově uniformní potomstvo s pravotočivou ulitou (dáno genotypem matky DD pro pravotočivost). Potomstvo má genotyp pro pravotočivost (Dd).

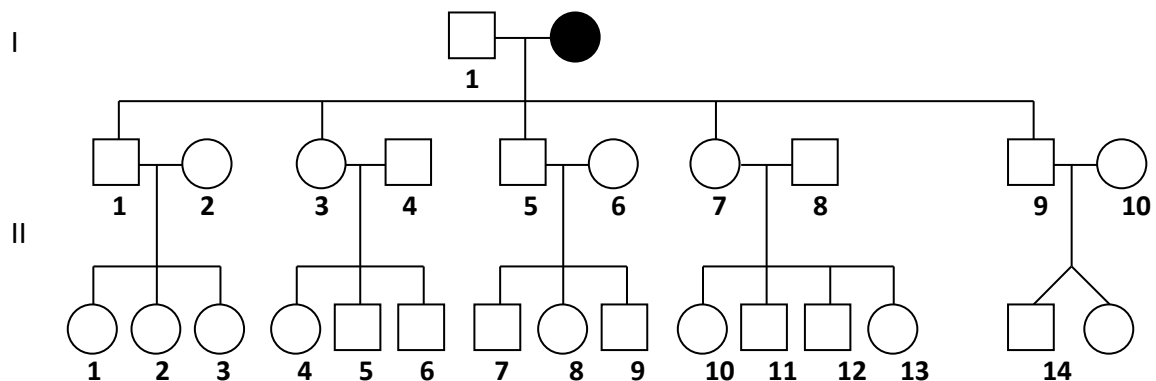
F₂: vzniká potomstvo s třemi různými genotypy (DD, 2Dd, dd), fenotypově jsou ale všichni pravotočiví po matce, která měla genotyp pro pravotočivost (Dd).

F₃: matka s genotypem (DD nebo Dd) produkuje potomstvo s pravotočivou ulitou, matka s genotypem (dd) produkuje potomstvo s levotočivou ulitou.



Vyřešte následující úkoly:

1. Muž s mitochondriálně podmíněnou neuropatií optického nervu si vzal zdravou ženu. Jaká je pravděpodobnost, že se u jejich dítěte projeví stejná choroba?
2. Recessivní mutací genů na chloroplastové DNA dochází k panašování (skvrnitosti) listů snížením obsahu chlorofylu. Jaké rostliny lze očekávat v potomstvu, křížíme-li panašovanou mateřskou rodičovskou rostlinu a zelenou otcovskou rodičovskou rostlinu?
3. Jaké listy budou mít potomci po opylení normální rostliny pylem z panašované rostliny?
4. Jak se budou lišit fenotypově a genotypově F_1 , F_2 a F_3 generace, když budete křížit samici plovatky s genotypem pro levotočivou ulitu (dd) a samce s genotypem pro pravotočivou ulitou (DD).
5. Jaký genotyp a fenotyp měli rodiče potomka s levotočivou ulitou? Jaký je genotyp tohoto potomka?
6. V následujícím rodokmenu byla sledována dědičnost genetické choroby (Kearns-Sayreova syndromu) spojené s mutací mtDNA. Jedná se o multisystémovou chorobu charakterizovanou výskytem progresivní oftalmoplegie (ochrnutí okohybných svalů) s různou závažností. Černě zaznamenejte do rodokmenu jedince s tímto onemocněním.

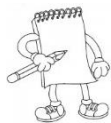


VÝPOČTY

Genetické příklady VIII: KVANTITATIVNÍ GENETIKA

Jméno:

Skupina:



Vzorový úkol: 1

Vypočtete průměr, rozptyl a směrodatnou odchylku hmotnosti vajec kura domácího u 2 skupin a zhodnoťte variabilitu hmotnosti.



	Hmotnost (g)			
Skupina 1	52	60	54	55
Skupina 2	48	50	49	51

Řešení

Průměr skupiny 1 (x_1) $52+60+54+55/4 = 55,25$ g

Průměr skupiny 2 (x_2)..... $48+50+49+51/4 = 49,5$ g

Rozptyl (s^2), směrodatná odchylka (s)

$$s_1^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}$$

$$s_1^2 = \frac{(52-55,25)^2 + (60-55,25)^2 + (54-55,25)^2 + (55-55,25)^2}{4-1} = s_1^2 = 34,5/3 = 11,5$$

$$s = 3,4$$

$$s_2^2 = \frac{(48-49,5)^2 + (50-49,5)^2 + (49-49,5)^2 + (51-49,5)^2}{4-1} = s_2^2 = 5/3 = 1,7$$

$$s = 1,3$$

Skupina 1 měla větší průměrnou hmotnost vajec a byla více variabilní, zatímco skupina 2 měla nižší průměrnou hmotnost, ale hmotnosti se vzájemně příliš nelišily.



Vyřešte následující úkoly:

2. Zhodnoťte variabilitu hmotnosti u 2 skupin myší domácích a skupiny navzájem porovnejte. K analýze použijte průměr a rozptyl. U 1. skupiny byly naměřeny hodnoty: 15,5 g, 10,3 g, 11,7 g, 17,9 g, 14,1 g. U 2. skupiny byly naměřeny hodnoty: 20,2 g, 21,2 g, 20,4 g, 22,0 g, 19,7 g.

3. Na základě níže uvedených koeficientů dědivosti zjistěte, kolika procenty se na fenotypové hodnotě kvantitativních znaků podílí vliv prostředí?

a) Výška postavy má koeficient dědivosti $h_2N = 0,9$.

b) Velikost vejce u kura domácího má koeficient dědivosti $h_2N = 0,5 - 0,6$.

c) Intenzita zbarvení žloutku u vejce kura domácího má koeficient dědivosti $h_2N = 0,15$.

4. Byla měřena výška dětí (synů a dcer) a jejich rodičů (viz tabulka).

a) Vypočítejte průměr a rozptyl výšky dětí a rodičů.

b) Vypočítejte korelační koeficient mezi výškou dětí a rodičů a zhodnoťte (pozitivní/negativní, silná/slábá korelace).

c) Vypočítejte heritabilitu v užším slova smyslu pro dědičnost výšky postavy (k výpočtu použijte regresní koeficient). Jedná se o slabou nebo silnou heritabilitu a co to znamená?

Výška dětí (cm), první dítě z každé rodiny	Výška rodičů (cm), průměr otce a matky v rodině
175	175
180	190
177	180
160	175
165	175
175	173
185	195
175	185
183	172

5. U 8 kachen byla měřena šířka hlavy a délka křídla:

a) Vypočítejte průměr a směrodatnou odchylku pro šířku hlavy a délku křídla.

b) Vypočítejte korelační koeficient pro vztah mezi šířkou hlavy a délkou křídla.

c) Jaký je vztah mezi šířkou hlavy a délkou křídla u těchto kachen? (pozitivní/negativní, silná/slábá korelace)

Kachna	Šířka hlavy (cm)	Délka křídla (cm)
1	2,75	30,3
2	3,20	36,2
3	2,86	31,4
4	3,24	35,7
5	3,16	33,4
6	3,32	34,8
7	2,52	27,2
8	4,16	52,7

VÝPOČTY

Genetické příklady IX: POPULAČNÍ GENETIKA

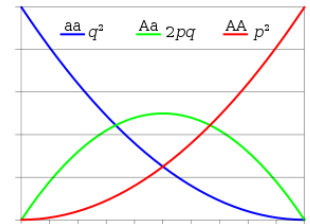
Jméno:

Skupina:



Vzorový úkol: 1

V populaci (celkem 100 jedinců) se vykytuje hypotetický znak. Dominantní fenotyp mělo 75 jedinců. Určete frekvenci alel a frekvenci genotypů (populace je v HW rovnováze).



$$(p+q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Frekvence alel Frekvence genotypů

Dominantní fenotyp zahrnuje dominantní homozygoty a heterozygoty (úplná dominance).

Spočítáme frekvenci recesivních homozygotů (recesivní fenotyp)

$$q^2(aa) \dots 100 - 75 = 25 \dots \text{vydělíme } 100 \text{ (celkový počet jedinců)} = 0,25$$

Frekvence alel

$$q \text{ (a) získáme odmocněním } 0,25 = 0,5$$

$$p \text{ (A)} = 1 - q = 1 - 0,5 = 0,5$$

Frekvence genotypů

$$P \text{ (AA)} = p^2 = 0,5^2 = 0,25$$

$$H \text{ (Aa)} = 2pq = 2 \times 0,5 \times 0,5 = 0,5$$

$$Q \text{ (aa)} = q^2 = 0,5^2 = 0,25$$

Výsledky se dají vyjádřit i procentuálně.

Vzorový úkol: 2

Albinismus je neschopnost syntézy pigmentu melaninu. Je to recesivně dědičné onemocnění. V populaci se vyskytuje jeden albín (aa) na 10 000 obyvatel (0,0001). Vypočítejte četnost alely a pro albinismus. Kolik % přenašečů albinismu (Aa) je v populaci?

Postup:

- 1) Nejprve je třeba si převést slovní zadání do symboliky zápisu alelových a genotypových četností. V tomto případě ze zadané genotypové frekvence recesivních homozygotů $Q(aa)$ máme spočítat četnost recesivní alely $q(a)$.
- 2) Pokud je populace v rovnováze podle HW zákona (a není-li řečeno jinak, předpokládáme, že ano), pak platí, že $Q = q^2$ a tedy alelová četnost recesivní alely je rovna druhé odmocnině z četnosti recesivních homozygotů, tj. $q(a) = 0,01$.

Dále máme spočítat četnost přenašečů, tj. genotypovou četnost heterozygotů v populaci $H(Aa)$. Podle HW zákona platí, že $H = 2pq$. K provedení tohoto výpočtu si ale napřed musíme spočítat četnost dominantní alely $p(A)$. Protože součet četností obou alel vždy dává dohromady 1 ($p + q = 1$), pak $p = 1 - q = 0,99$. Hledaná genotypová četnost heterozygotů $H = 2 \times 0,99 \times 0,01 = 0,0198$, tj. **1,98 %**.



Vyřešte následující úkoly:

3. Vypočítejte frekvenci jednotlivých genotypů a fenotypů v panmiktické populaci za předpokladu, že gen I (krevního systému ABO) se v populaci vyskytuje ve třech formách (I^A , I^B , i), přitom frekvence alely I^B (q) = 0,4, frekvence alely i (r) = 0,4.

4. V náhodném souboru 100 studentů jsme zjišťovali formu přisedání ušního lalůčku. Jedná se o monofaktoriálně založený znak, který má tři formy. Nasedající ušní lalůček (aa) mělo 17 posluchačů, středně nasedající lalůček (Aa) mělo 45 posluchačů a volný ušní lalůček (AA) mělo 38 posluchačů.

a) Zjistěte frekvenci alely **A** a alely **a**.

b) Ověřte, zda platí HW rovnováha (použijte χ^2 test, tabulková hodnota - příloha skript).

5. Populace je v rovnováze podle HW zákona. Frekvence alely pro modrou barvu očí q (b) = 0,6. Vypočítejte četnost modrookých lidí v populaci.

6. Modrookých jedinců (bb) je v populaci 36 %, hnědookých (BB, Bb) 64 %. Kolik % v populaci tvoří jedinci hnědoocí homozygotní a kolik % jedinci hnědoocí heterozygotní?

7. V naší populaci je 84 % lidí Rh^+ (DD, Dd) a 16 % lidí je Rh^- (dd). Jaká je frekvence dominantní alely D ?

8. Četnost recesivní alely a pro myopii (krátkozrakost) je v dané populaci 0,14, tj. q (a) = 0,14. Jaká je četnost nemocných (aa) a přenašečů (Aa) v této populaci?

VÝPOČTY

Příloha 1: Hodnoty chí kvadrát testu (χ^2) pro pravděpodobnost P = 0,95 až 0,001 a pro počet stupňů volnosti N = 1 až 30. Většinou se používá hodnota P 0,05 tj. 5%.

N	0,95	0,9	0,8	0,7	0,5	0,3	0,1	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,004	0,016	0,064	0,15	0,46	1,07	2,71	3,84	5,41	6,64	10,83
2	0,103	0,21	0,45	0,71	1,39	2,41	4,61	5,99	7,82	9,21	13,82
3	0,35	0,58	1,01	1,42	2,37	3,67	6,25	7,82	9,84	11,34	16,27
4	0,71	1,06	1,65	2,2	3,36	4,88	7,78	9,49	11,67	13,28	18,47
5	1,15	1,61	2,34	3	4,35	6,06	9,24	11,07	13,39	15,09	20,52
6	1,63	2,2	3,07	3,83	5,35	7,23	10,65	12,59	15,03	16,81	22,46
7	2,17	2,83	3,82	4,67	6,35	8,38	12,02	14,07	16,62	18,48	24,32
8	2,73	3,49	4,59	5,53	7,34	9,52	13,36	15,51	18,17	20,09	26,13
9	3,32	4,17	5,38	6,39	8,34	10,66	14,68	16,92	19,68	21,67	27,88
10	3,94	4,87	6,18	7,27	9,34	11,78	15,99	18,31	21,16	23,21	29,59
11	4,57	5,58	6,99	8,15	10,34	12,9	17,28	19,68	22,62	24,73	31,26
12	5,23	6,3	7,81	9,03	11,34	14,01	18,55	21,03	24,05	26,22	32,91
13	5,89	7,04	8,63	9,93	12,34	15,12	19,81	22,36	25,47	27,69	34,53
14	6,57	7,79	9,47	10,82	13,34	16,22	21,06	23,69	26,87	29,14	36,12
15	7,26	8,55	10,31	11,72	14,34	17,32	22,31	25	28,26	30,58	37,7
16	7,96	9,31	11,15	12,62	15,34	18,42	23,54	26,3	29,63	32	39,25
17	8,67	10,09	12	13,53	16,34	19,51	24,77	27,59	31	33,41	40,79
18	9,39	10,87	12,86	14,44	17,34	20,6	25,99	28,87	32,35	34,81	42,31
19	10,12	11,65	13,72	15,35	18,34	21,69	27,2	30,14	33,69	36,19	43,82
20	10,85	12,44	14,58	16,27	19,34	22,78	28,41	31,41	35,02	37,57	45,32
21	11,59	13,24	15,45	17,18	20,34	23,86	29,62	32,67	36,34	38,93	46,8
22	12,34	14,04	16,31	18,1	21,34	24,94	30,81	33,92	37,66	40,29	48,27
23	13,09	14,85	17,19	19,02	22,34	26,02	32,01	35,17	38,97	41,64	49,75
24	13,85	15,66	18,06	19,94	23,34	27,1	33,2	36,42	40,27	42,98	51,18
25	14,61	16,47	18,94	20,87	24,34	28,17	34,38	37,65	41,57	44,31	52,6
26	15,38	17,29	19,82	21,79	25,34	29,25	35,56	38,89	42,86	45,64	54,05
27	16,15	18,11	20,7	22,72	26,34	30,32	36,74	40,11	44,14	46,96	55,5
28	16,93	18,94	21,59	23,65	27,34	31,39	37,92	41,34	45,42	48,28	56,89
29	17,71	19,77	22,47	24,58	28,34	32,46	39,09	42,56	46,69	49,59	57,45
30	18,49	20,6	23,36	25,51	29,34	33,53	40,26	43,77	47,96	50,89	59,7



Název:	Protokoly na cvičení – Biologie a Biologie a molekulární biologické metody
Autoři:	MVDr. Kateřina Kobédová, MVDr. Jiřina Marková, Doc. MVDr. Eva Bártová, Ph.D., Mgr. Ivo Papoušek, Ph.D.
Ústav:	Biologie a choroby volně žijících zvířat
Počet stran:	84
Rok vydání:	2016
Podpořeno:	IVA VFU Brno 2016FVHE/2150/34