

Государственное бюджетное профессиональное образовательное  
учреждение Республики Дагестан  
«Колледж экономики и предпринимательства»

Конспект лекций для студентов направления подготовки  
по дисциплине:

## **«Биология»**

Заочной формы обучения

Г. Буйнакск

## Содержание

	Стр.
Предисловие. ....	5-6
Глава 1. Введение. Биология – наука о живой природе. Жизнь и ее свойства. Уровни организации живой материи. Клеточный уровень организации живого. ....	7-14
Глава 2. Структура и функции цитоплазматической мембраны. Виды транспорта веществ через мембраны. Цитоплазма и ее компоненты. Структура и функции клеточного ядра. ....	15-28
Глава 3. Хроматин: структура, функции, уровни укладки. Жизненный и митотический цикл клетки. Митоз. Другие способы репродукции соматических клеток (амитоз, эндомитоз, эндоредупликация) ....	29-36
Глава 4. Генный уровень организации наследственного материала. Химическая и структурная организация нуклеиновых кислот (ДНК и РНК). Репликация и репарация ДНК. Структура генов прокариот и эукариот. Генетический код и его свойства. ....	37-49
Глава 5. Особенности структурной и функциональной организации генов про- и эукариот. Регуляция экспрессии генов у про- и эукариот. Реализация генетической информации. Биосинтез белка. .	50-58
Глава 6. Мейоз как процесс формирования гаплоидных гамет. Гаметогенез. Размножение организмов как механизм, обеспечивающий смену поколений. Основные виды размножения	59-72
Глава 7. История развития генетики. Закономерности наследственности и изменчивости признаков. Основные понятия и термины генетики. Законы Менделя. Гипотеза «чистоты» гамет. Виды взаимодействия аллелей ....	73-93
Глава 8. Сцепленное наследование генов и признаков. Кроссинговер как механизм, определяющий нарушение сцепления генов. Хромосомная теория наследственности. Генетические карты хромосом. Наследование генов, локализованных в половых хромосомах. Генетика пола. ....	94-107
Глава 9. Значение нормального генного баланса для формирования фенотипа. Нарушение дозы генов. Хромосомные болезни человека.	108-121

Глава 10. Генотипическая (наследственная) изменчивость. Комбинативная и мутационная изменчивость. Свойства мутаций. Классификация мутаций. Геномные, хромосомные, генные мутации. Генная терапия.. . . . .	122-134
Глава 11. Роль наследственных и средовых факторов в формировании фенотипа. Модификационная изменчивость. Норма реакции признака. Экспрессивность, пенетрантность. Фенокопии и генокопии. . . . .	135-140
Глава 12. Медицинская генетика. Человек как объект генетических исследований. Методы изучения генетики человека: генеалогический, близнецовый, дерматоглифический, биохимический, методы генетики соматических клеток. . . . .	141-156
Глава 13. Медицинская генетика. Популяционно-статистический, цитогенетический и молекулярно-генетические методы. Полимеразная цепная реакция синтеза ДНК. . . . .	157-180
Глава 14. Медико-генетическое консультирование. Пренатальная (дородовая) диагностика. . . . .	181-191
Рекомендуемая литература. . . . .	192

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Современная медицина характеризуется стремительным накоплением новой информации о фундаментальных и системных основах жизнедеятельности. Необходимым условием прогресса современной медицины является высокий уровень развития общебиологических и экологических дисциплин, таких как цитология, генетика, эволюционное учение, паразитология и экология. В предложенном вашему вниманию учебном пособии по биологии основное место отведено описанию общебиологических закономерностей, свойственных всем живым организмам. Вместе с тем, авторы старались раскрыть эти процессы с учетом особенностей организма человека, поскольку изучение человека как биосоциального субъекта с акцентом на его биологические характеристики, представляет первостепенную значимость для формирования медицинского мышления у студентов первого курса медицинских и биологических вузов.

Пособие состоит из 3 частей:

Часть I. Цитология и генетика.

Часть II. Медицинская паразитология.

Часть III. Общебиологические закономерности филогенеза и эволюции живого.

В первой части освещены основные свойства жизни и эволюционные процессы на молекулярно-генетическом и онтогенетическом уровнях. Особое внимание уделяется характеристике наследственного материала прокариот и эукариот, проблемам генетического груза популяций и генетической предрасположенности людей к мультифакториальным заболеваниям. В лекциях, посвященных антропогенетике, большое внимание уделяется последним достижениям медицинской генетики, рассматриваются самые современные методы и подходы генетического анализа и медико-генетического консультирования.

Вторая часть посвящена вопросам синэкологии и медицинской паразитологии. Здесь рассматриваются экологические аспекты паразитизма, а

также отражены вопросы этиологии, патогенеза, клиники, диагностики и профилактики инвазионных заболеваний.

В третьей части пособия раскрыты вопросы онтогенеза, филогенеза, эволюции и экологии биологических систем. Существенное внимание уделено описанию влияния экологических факторов на организм человека. С учетом современных требований медицины затронуты проблемы гомеостаза и регенерации.

Отличительной чертой пособия является включение региональных особенностей распространения наследственных заболеваний и паразитарных инвазий. Отмечены природно-очаговые паразитарные заболевания, характерные для Южного Урала и Республики Башкортостан.

При подготовке настоящего пособия использован многолетний опыт преподавания биологии в Башкирском государственном медицинском университете. Авторы выражают искреннюю благодарность рецензентам и будут рады всем высказанным замечаниям и пожеланиям.

*Авторы*

# ***Теоретической основой медицины является биология.***

*(академик Давыдовский)*

## **Глава 1**

### **ВВЕДЕНИЕ. БИОЛОГИЯ – НАУКА О ЖИВОЙ ПРИРОДЕ. ЖИЗНЬ И ЕЕ СВОЙСТВА. УРОВНИ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИВОЙ МАТЕРИИ. КЛЕТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИВОГО**

**Биология** – наука, которая изучает жизнь как особую форму движения материи, законы ее существования и развития (от лат. bios – жизнь, logos – учение). Термин биология был впервые предложен эволюционистом Ж.-Б. Ламарком в 1802 г. для обозначения науки о жизни как особом явлении природы.

В развитии биологии условно выделяют три основных этапа: Первый этап – разработка классификации и систематика живого (К. Линней); второй этап – становление эволюционного учения (Ч. Дарвин); третий этап – развитие микробиологии (Г. Мендель).

Объектом изучения биологии являются живые организмы, их строение, функции, индивидуальное (онтогенез) и историческое (эволюция, филогенез) развитие, их взаимоотношение друг с другом и с окружающей средой. Биология не является единой дисциплиной, а представляет собой совокупность более 50 дисциплин, которые можно подразделить на следующие группы:

- общебиологические (цитология, генетика, эволюционное учение и др.)
- морфологические дисциплины (например: анатомия, гистология, патологическая анатомия)
- физиологические (физиология растений, животных, нормальная физиология, патологическая физиология)
- экологические (биогеография, паразитология)
- пограничные (биохимия биофизика, молекулярная биология и др.)

### **Значение биологии для медицины.**

Роль биологии в системе подготовки врача определяется формированием ею его мировоззрения, с одной стороны, и выходом во врачебную практику, с другой. В настоящее время современная биология находится на полосе открытий, значение которых трудно переоценить. Это, прежде всего, успехи, связанные с развитием генетики, а именно, расшифровка генома человека, клонирование, успехи в пересадке органов и работы со стволовыми

клетками. Можно сказать, что во многом от успехов биологии будут зависеть перспективы развития человечества.

Основной задачей биологии является познание сущности жизни. Вопрос этот сложный и ответить на него пытались многие ученые-естествоиспытатели, философы древности, начиная с Аристотеля.

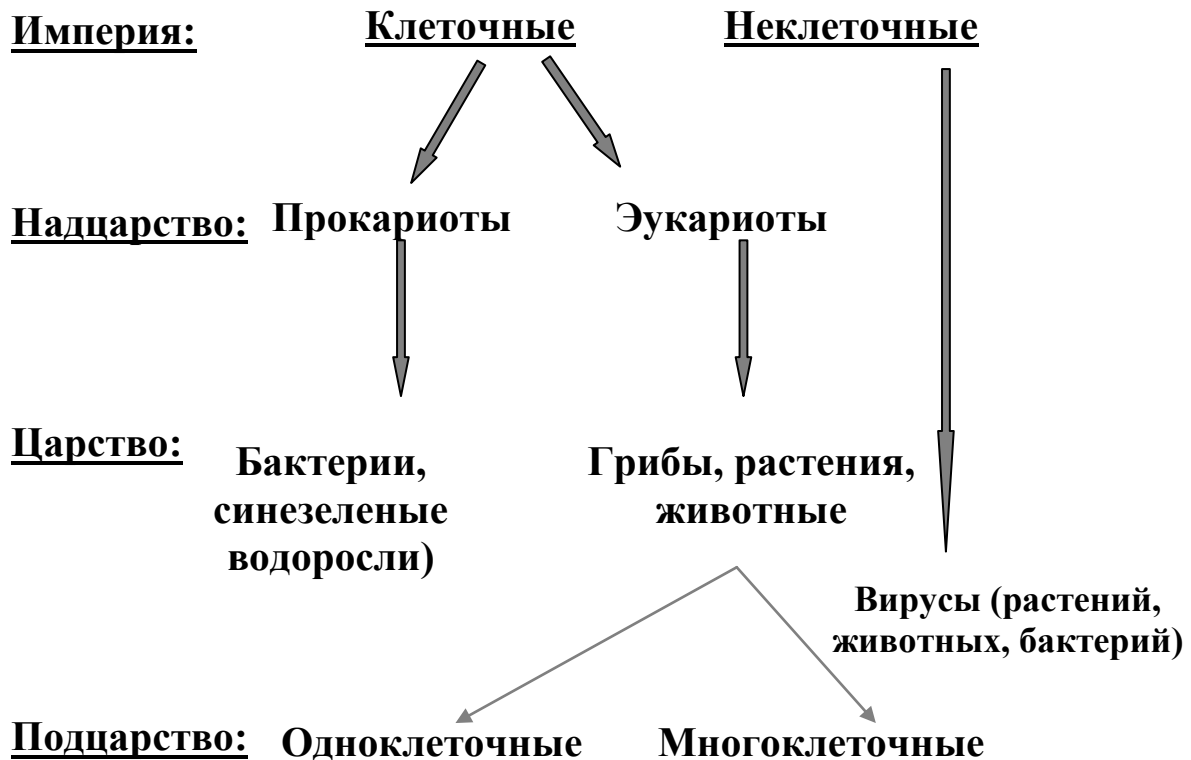


Рис. 1.1. Систематические категории живого.

Рассмотрим основные свойства живых организмов, отличающие их от объектов неживой природы и выделяющие живое вещество в особую форму существования материи.

1. Живые организмы характеризуются сложной упорядоченной структурой. Уровень их организации значительно выше, чем в неживых системах. По химическому составу в живом 98% приходится на углерод, кислород, азот и водород. Строительный материал структур живого в большинстве состоит из регулярных полимеров: ДНК и РНК, белков, жиров и углеводов.
2. Живые организмы получают энергию из окружающей среды, используя ее для своей жизнедеятельности. Большая часть живых организмов прямо или косвенно использует солнечную энергию.
3. Живые организмы активно реагируют на окружающую среду. Раздражимость – универсальное свойство всего живого, как растений, так и животных.
4. Живому характерны признаки, так называемые, фундаментальные свойства живой материи – три «само».

К числу фундаментальных свойств, характеризующих жизнь, относят:

- Самовоспроизведение – способность создавать себе подобных.
- Самообновление, способность живого не только изменяться, но и усложняться. Живые организмы способны передавать потомкам заложенную в них информацию, содержащуюся в генах – единицах наследственности. Эта информация в процессе передачи может видоизменяться.
- Саморегуляция, т.е. способность приспосабливаться к среде обитания и образу жизни.

При этом подчеркивается, что только совокупность данных свойств может дать представление о специфике жизни.

Эти свойства в совокупности обеспечивают основные признаки жизни, причем, если одного из этих признаков нет, то это уже не живое.

#### Признаки жизни (10):

- 1) Дискретность и целостность. 2) Структурная организация. 3) Иерархическая соподчиненность. 4) Обмен веществ и энергии 5) Репродукция 6) Наследственность и изменчивость 7) Рост и развитие 8) Раздражимость 9) Внутренняя регуляция 10) Гомеостаз.

Из совокупности этих признаков вытекает следующее обобщенное определение сущности живого:

Жизнь – есть форма существования сложных, открытых систем, способных к самоорганизации и самовоспроизведению.



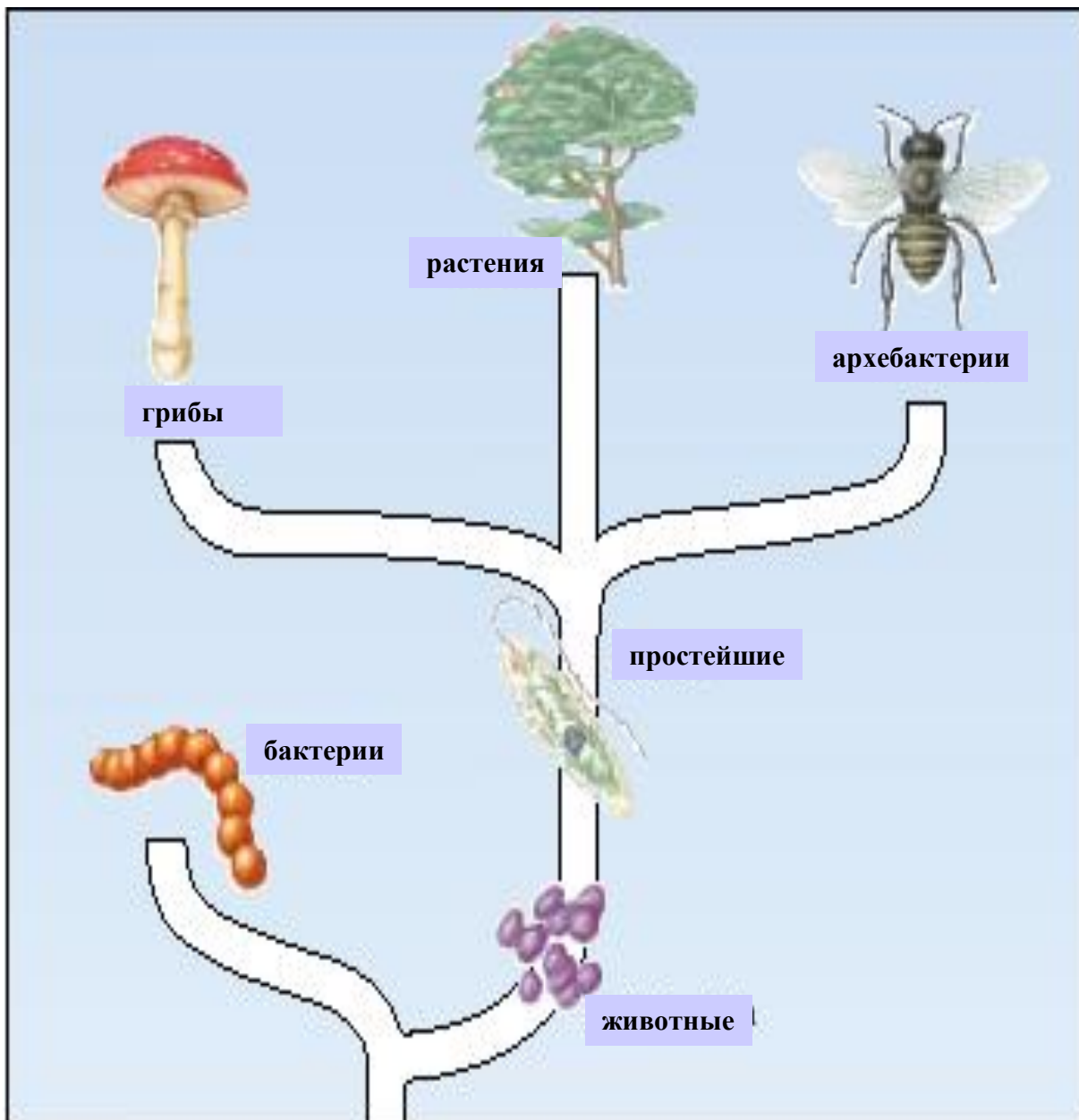


Рис. 1.2. Основные ветви эволюции органического мира.

Мир живого чрезвычайно многообразен и имеет сложную структуру. В настоящее время на Земле обнаружено около 3 миллионов разных видов живых организмов. Самое большое по разнообразию царство – животные. Но 98% биомассы на Земле приходится на растения.

В настоящее время на Земле представлены следующие формы живого, которые принято разделять на систематические категории (рис.1.1):

Империя: Клеточные и неклеточные организмы. К неклеточным организмам относятся царства вирусов (растений, животных, бактерий). Вирусы представляют собой частицы, состоящие из белковой капсулы и заключенной в ней нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК). Вирусы ведут исключительно паразитический образ жизни, т.к. могут существовать только внутри клеток хозяев. Например, вирус гриппа, полиомиелита, краснухи.

Клеточные организмы включают два надцарства: Прокариоты и Эукариоты.

Прокариоты - это одноклеточные существа, отличающиеся простотой строения и функций. К Прокариотам относятся два царства: бактерии и синезеленые водоросли. Прокариоты - это доядерные организмы малых размеров (1-5 мкм), не имеющие органоидов. Их наследственный материал представлен единственной кольцевой молекулой ДНК, связанной с небольшим количеством негистоновых белков. Т.е. они содержат одну хромосому и являются гаплоидами. Прокариоты первыми появились на Земле более 2 млрд. лет назад. С их эволюцией связано появление, во-первых, механизма фотосинтеза и, во-вторых – организмов эукариотического типа (рис. 1.2).

Эукариоты появились около 1,5 млрд. лет назад. Они включают три царства: Грибы, Растения и Животные, которые могут относиться к подцарству одноклеточные или многоклеточные. Первоначально эукариоты имели одноклеточное строение. Многоклеточные формы появились около 600 млн. лет назад. Около 500 млн. лет назад среди многоклеточных появляются хордовые животные, которые в процессе дальнейшей эволюции дали начало позвоночным. Примерно 250 млн. лет назад появляются млекопитающие, которые впоследствии дали ветвь, ведущую через приматов к человеку (примерно 1,8 млн. лет назад).

Все живое на планете Земля существует в виде дискретных единиц – организмов, каждый из которых, с одной стороны, состоит из единиц соподчиненных ему уровней организации, а с другой – сам является единицей, входящей в состав надорганизменных макросистем (популяций, биогеоценозов, биосферы).

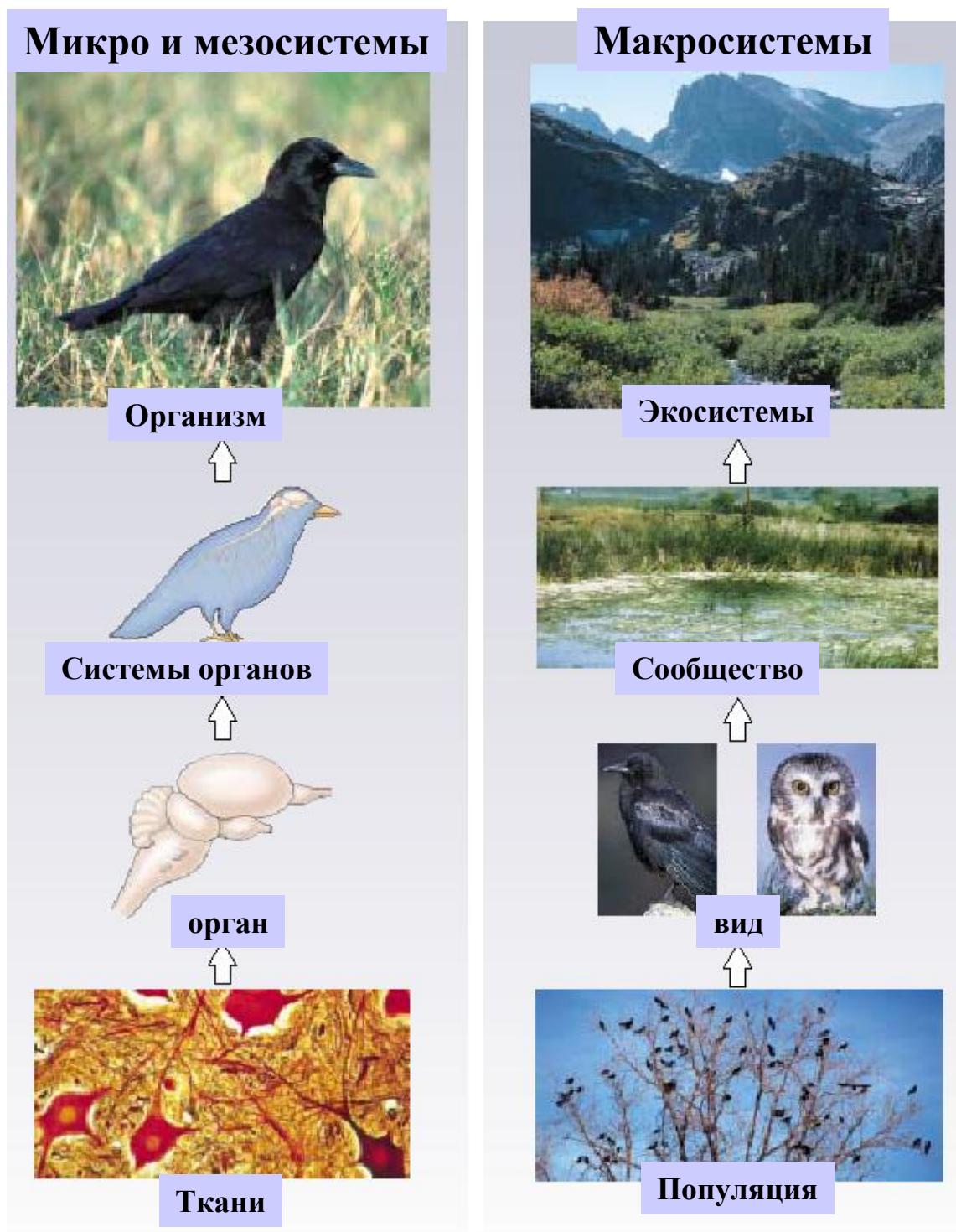


Рис. 1.3. Уровни организации живой материи.

Условно выделяют следующие основные уровни организации живой материи: молекулярный, субклеточный (органоиды), клеточный, тканевой, органный, организменный (онтогенетический), популяционно-видовой, биогеоценотический, биосферный (рис.1.3).

I. Молекулярный уровень. Отражает особенности химического состава живого вещества, а также механизмы и процессы передачи генной информации. Элементарной единицей этого уровня является ген – участок молекулы ДНК, в котором записан определенный объем генетической информации в виде генетического кода, передаваемый из поколения к поколению. Элементарное явление – воспроизведение генетического кода на основе редупликации (самовоспроизведения) молекулы ДНК.

II Субклеточный и клеточный уровни. Элементарной структурой этого уровня является клетка и внутриклеточные структуры, а элементарное явление – деление клеток и их развитие. Клетка - структурная и функциональная единица всех живых организмов. На этом уровне отмечается однотипность всех живых организмов. Неклеточные формы жизни проявляют признаки жизни только внутри клеток.

III. Организменный и органо-тканевый уровни. Отражают признаки отдельных особей, их строение, поведение, а также строение и функции органов и тканей живых существ. Элементарной структурой этого уровня являются организмы или особи, а элементарные явления – размножение и индивидуальное развитие (онтогенез).

IV. Популяционно-видовой. Образуется свободно скрещивающимися между собой особями одного и того же вида. Элементарной структурой этого уровня являются популяции живых организмов.

V.Биогеоценотический. Элементарной структурой этого уровня являются биогеоценоз – это совокупность организмов разных видов со всеми факторами конкретной среды их обитания – компонентами атмосферы, гидросферы, литосферы. Элементарным явлением на этом уровне организации живой природы является – переход биогеоценозов из одного состояния в другое, обусловленное круговоротом веществ и энергии. Пример смены биогеоценозов – озеро – болото – лес.

VI. Биосферный. Включает всю совокупность живых организмов Земли вместе с окружающей их природной средой.

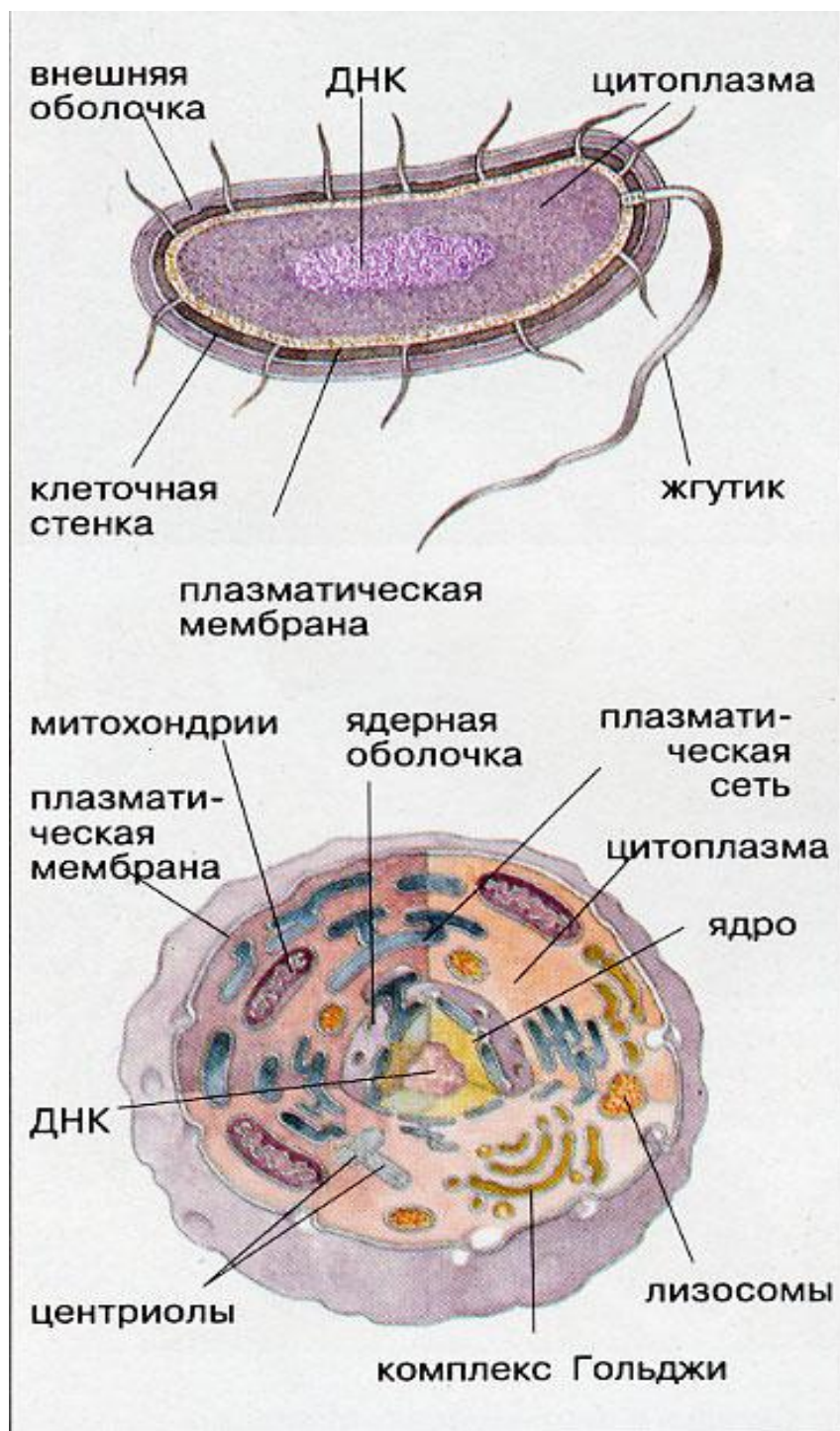


Рис. 2.1. Клеточный уровень организации живого: А- прокариотическая клетка Б –эукариотическая клетка.

## Глава 2

### КЛЕТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИВОГО. ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ МЕМБРАНА. ЦИТОПЛАЗМА И ЕЕ КОМПОНЕНТЫ. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ КЛЕТОЧНОГО ЯДРА

#### Клеточный уровень организации живого.

**Клетка** – основная структурная, функциональная, генетическая единица организации живого, элементарная живая система. Клетка может существовать как отдельный организм (бактерии, простейшие), или в составе тканей многоклеточных организмов. Термин «клетка» был предложен английским исследователем Робертом Гуком в 1665 г.

Основные положения клеточной теории сформулировали ботаник Шлейден (1838) и зоолого-физиолог Шванн (1839). В 1858 г. Вирхов дополнил положения утверждением о делении клеток.

#### Основные положения современной клеточной теории:

1. Все живые организмы состоят из клеток. Клетка – единица строения, функционирования, размножения и индивидуального развития живых организмов. Вне клетки нет жизни.
2. Клетки всех организмов сходны между собой по строению и химическому составу.
3. Клетки могут образовываться только из клеток путем деления.
4. Клеточное строение всех ныне живущих организмов – свидетельство единства происхождения.

Современное определение клетки:

***клетка – это открытая биологическая система, ограниченная полупроницаемой мембраной, состоящая из ядра и цитоплазмы, способная к саморегуляции и самовоспроизведению.***

Клеточное строение имеют два типа организмов – прокариоты (бактерии и сине-зеленые водоросли) и эукариоты (рис.2.1). Эукариотические клетки состоят из поверхностного аппарата (цитоплазматическая мембрана), цитоплазмы и ядра.

#### Цитоплазматические мембраны

Цитоплазматические мембраны выполняют ряд важных функций: барьерную (отграничивающую), регуляторную (осуществляют регуляцию метаболических потоков), транспортную (обеспечение избирательной проницаемости веществ путем пассивного и активного транспорта), структурную, обменную. Биологические мембраны построены в основном из липидов, белков и



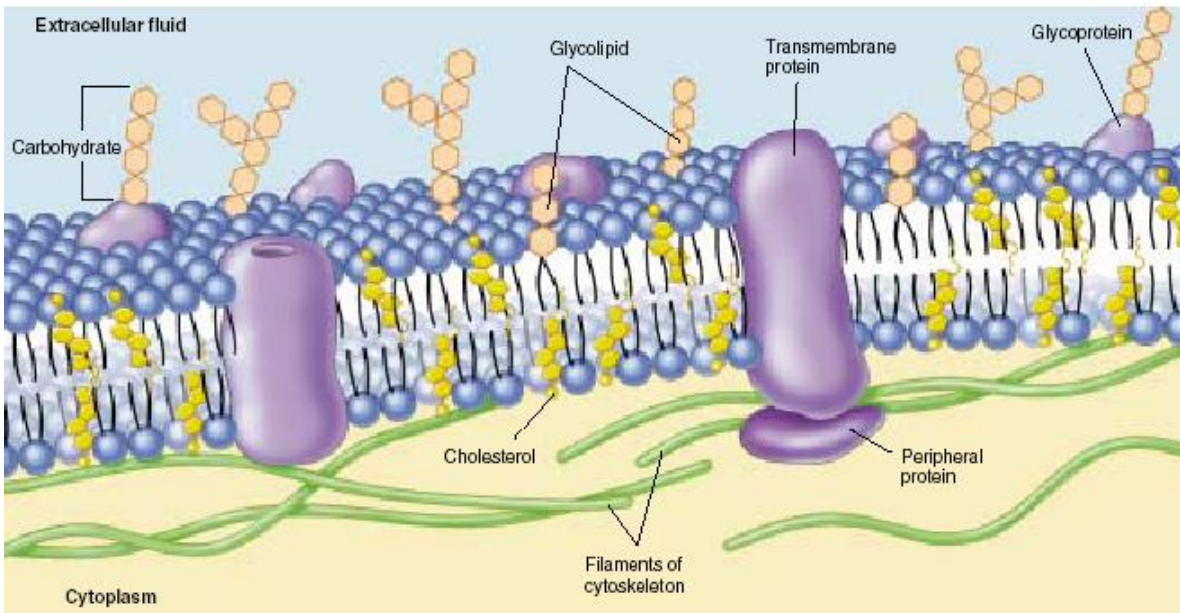


Рис. 2.2. Схема строения цитоплазматической мембраны (поперечный разрез).

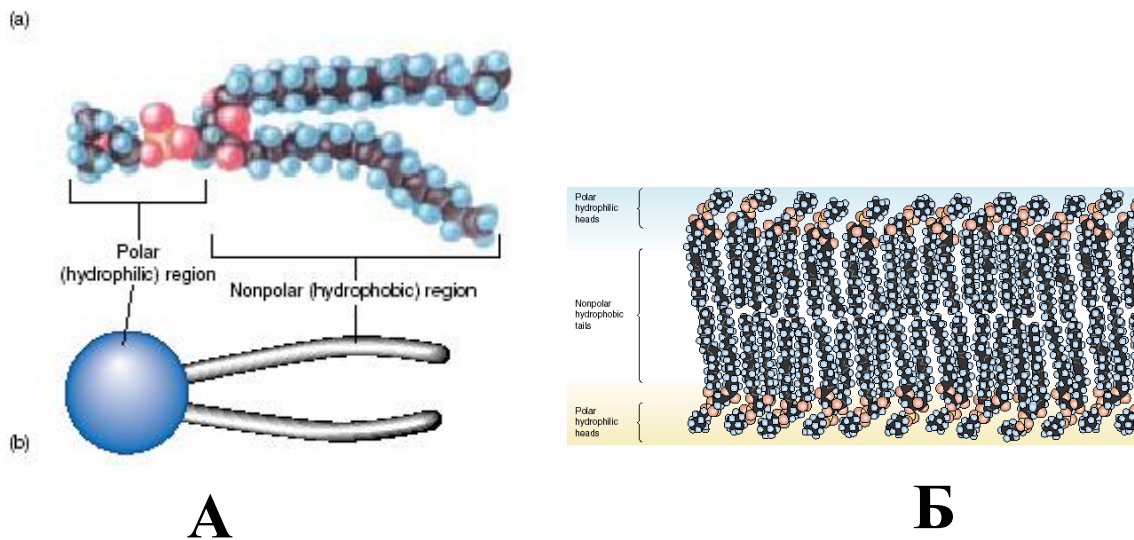


Рис. 2.3. Фосфолипиды цитоплазматической мембраны ( А – Схема строения полярной молекулы, Б – расположение фосфолипидов в мембране).

углеводов (рис.2.2). Предложено несколько моделей строения цитоплазматических мембран (модель «сэндвича» - модель Даниели и Даусона, модель Ленарда и др.). По-видимому, в зависимости от функции существует несколько типов мембран. В настоящее время принята за основу жидкостно-мозаичная модель, предложенная Сингером.-Николсоном (1972). Согласно этой модели в состав мембран входит бимолекулярный слой липидов, в который включены молекулы белков.

Липиды - это водонерастворимые вещества. Они имеют полярную (заряженную) головку и длинные незаряженные (неполярные) углеводные цепи. Молекулы липидов обращены друг к другу неполярными концами, а их полярные полюса (головки) остаются снаружи, образуя гидрофильные поверхности (рис.2.3).

Белки мембран можно разделить на три группы: периферические (наиболее слабо связаны с мембраной), погруженные (полуинтегральные) и пронизывающие (интегральные), формирующие поры мембраны. В функциональном отношении белки мембран подразделяются на ферментативные, транспортные, структурные и регуляторные.

На внешней поверхности плазматической мембраны белковые и липидные молекулы связаны с углеводными цепями, образуя гликокаликс. Углеводные цепи выполняют роль рецепторов, клетка приобретает способность специфически реагировать на воздействия извне. Так, взаимодействие гормона со «своим» рецептором снаружи вызывает изменение структуры интегрального белка, что приводит к запуску клеточного ответа. В частности, такой ответ может проявиться в образовании «каналов», по которым растворы некоторых веществ начинают поступать в клетку или выводятся из нее.

Одна из важных функций мембраны – обеспечение контактов между клетками в составе органов и тканей.

Под плазматической мембраной со стороны цитоплазмы имеется кортикальный слой и внутриклеточные фибриллярные структуры, обеспечивающие механическую устойчивость мембраны.

У растительных клеток снаружи от мембраны расположена плотная структура – клеточная оболочка, состоящая из полисахаридов (целлюлозы).

Одно из важнейших свойств цитоплазмы связано со способностью пропускать в клетку или из нее различные вещества. Это необходимо для поддержания постоянства ее состава. Малые молекулы и ионы проходят через мембраны путем пассивного и активного транспорта.

Пассивный транспорт происходит без затрат энергии путем диффузии, осмоса и облегченной диффузии (рис.2.4). Диффузия –



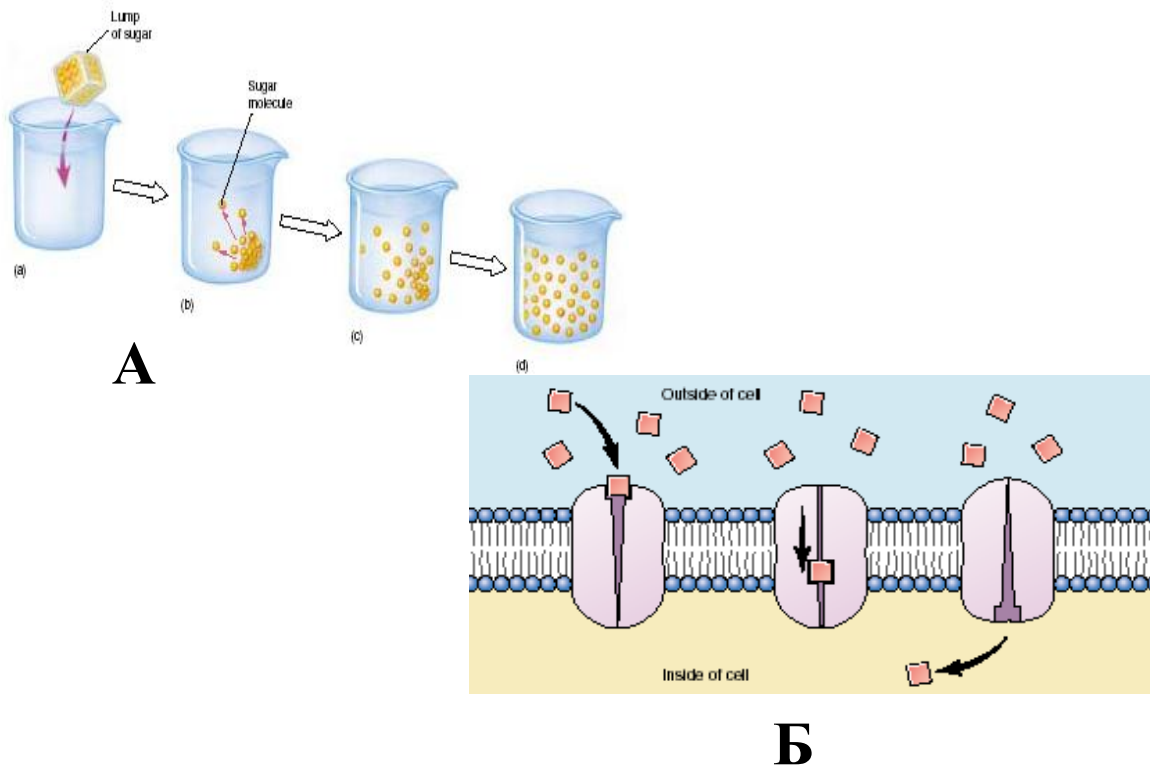


Рис. 2.4. Пассивный транспорт веществ через мембрану: А – свободная диффузия, Б – облегченная диффузия.

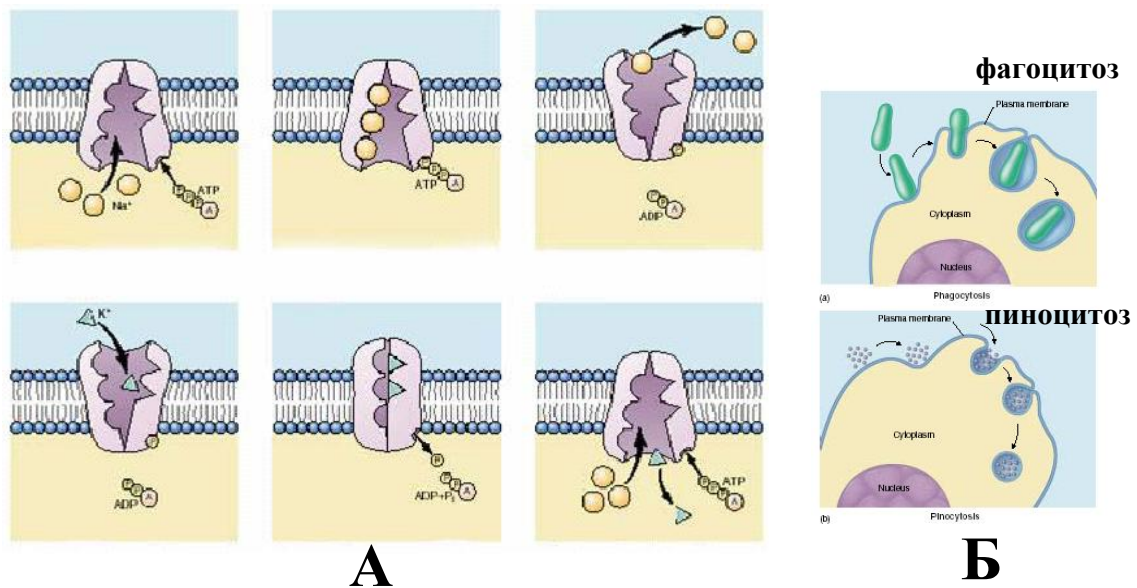


Рис. 2.5. Активный транспорт веществ через мембрану: А – калий-натриевый насос, Б – эндоцитоз.

транспорт молекул и ионов через мембрану из области с высокой в область с низкой их концентрацией, т.е. по градиенту концентрации. Если вещества хорошо растворимы в жирах, то они проникают в клетку путем простой диффузии (кислород, углекислый газ). Диффузия воды через полупроницаемые мембраны называется осмосом. Вода способна проходить также через мембранные поры, образованные белками, и переносить молекулы ионов и растворенных в ней веществ. Облегченная диффузия – транспорт веществ, нерастворимых в жирах и не проходящих сквозь поры, через ионные каналы с помощью белков-переносчиков.

Активный транспорт веществ через мембрану происходит с затратой энергии АТФ и при участии белков-переносчиков. Он осуществляется против градиента концентрации (так транспортируются аминокислоты, сахар, ионы калия, натрия, кальция и др.). Примером активного транспорта может быть работа калий-натриевого насоса. Концентрация К внутри клетки в 10-20 раз выше, чем снаружи, а Na – наоборот. Для поддержания данной концентрации происходит перенос трех ионов Na из клетки на каждые два иона К в клетку. В этом процессе участвует белок в мембране, выполняющий функцию фермента, расщепляющего АТФ с высвобождением энергии, необходимой для работы насоса (рис.2.5. А).

Перенос макромолекул и крупных частиц внутрь клетки осуществляется за счет эндоцитоза, а удаление из клетки - путем экзоцитоза.

При эндоцитозе (рис.2.5. Б) мембрана образует впячивания или выросты, которые затем отшнуровываясь превращаются во внутриклеточные пузырьки, содержащие захваченный клеткой продукт. Этот процесс происходит с затратой энергии АТФ. Различают два вида эндоцитоза – фагоцитоз (поглощение клеткой крупных частиц) и пиноцитоз (поглощение жидких веществ).

Мембрана принимает участие в выведении веществ из клетки в процессе экзоцитоза. Таким способом из клетки выводятся гормоны, белки, жировые капли и др.

### **Цитоплазма**

Цитоплазма – внутреннее содержимое клетки, состоит из основного вещества, органелл и включений (рис.2.6).

**Гиалоплазма** (цитозоль) – основное вещество цитоплазмы, заполняющее пространство между клеточными органеллами. Гиалоплазма содержит около 90% воды и различные белки, аминокислоты, нуклеотиды, ионы неорганических соединений и др.

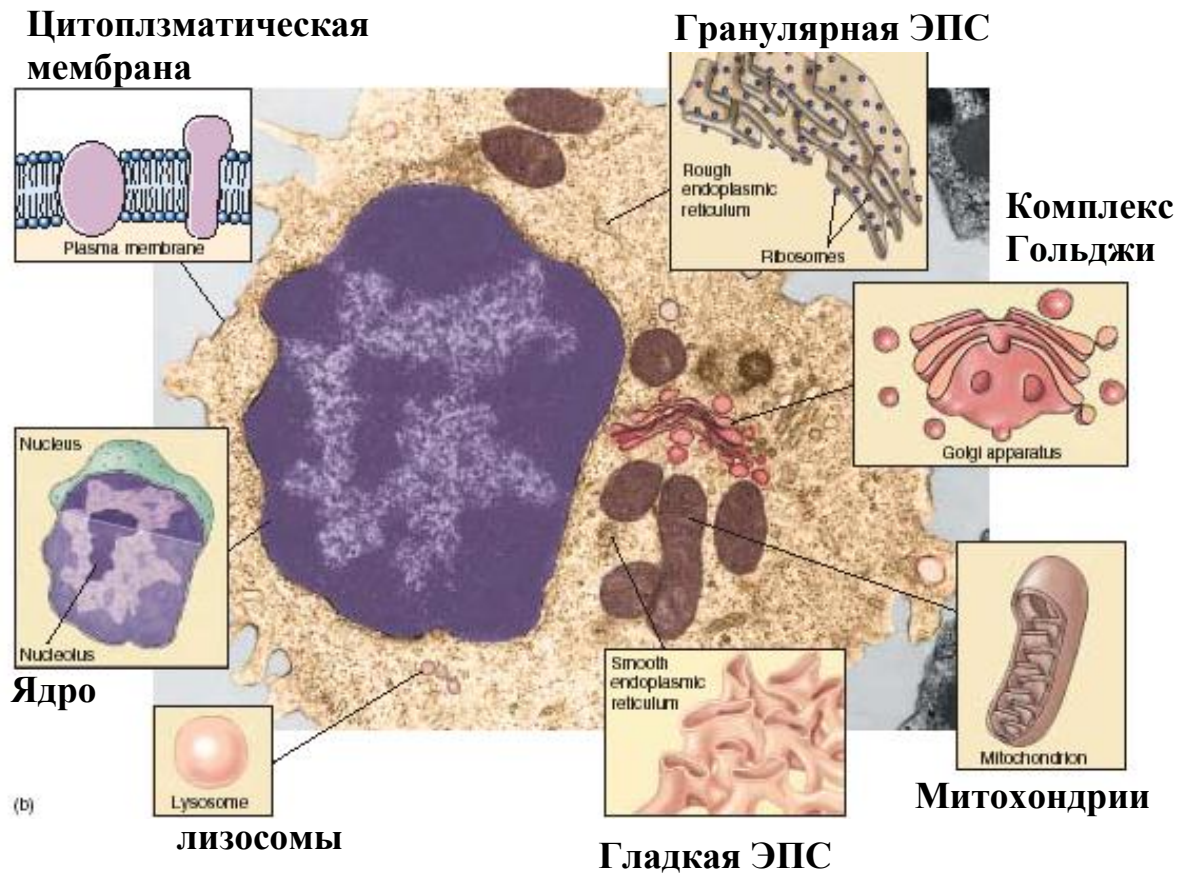


Рис. 2.6.Строение эукариотической клетки.

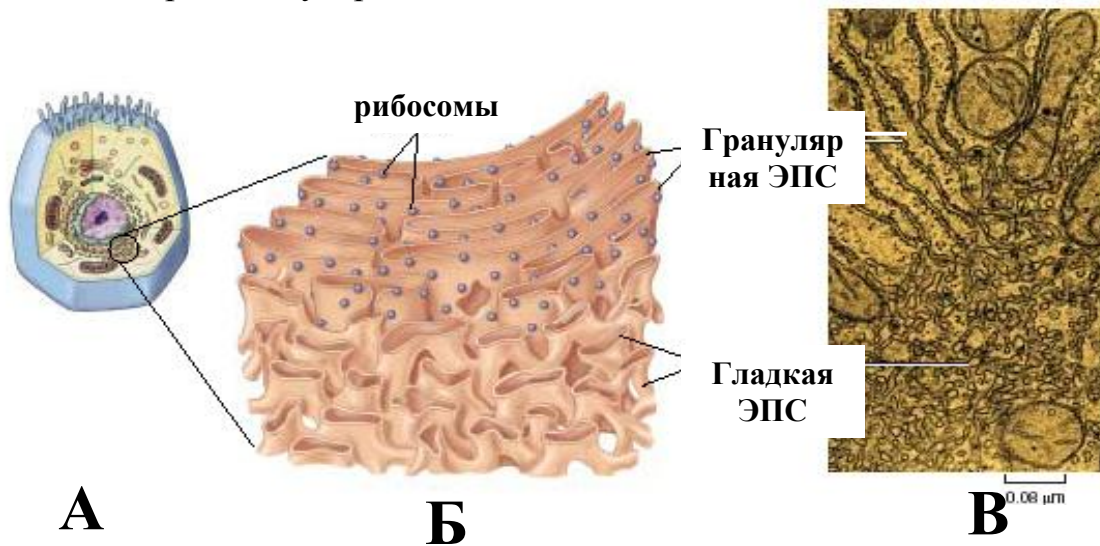


Рис. 2.7.Эндоплазматическая сеть (А- местонахождение в клетке, Б – схема строения, В – электронная микрофотография).

Крупные молекулы белка образуют коллоидный раствор, который может переходить из золя (невязкое состояние) в гель (вязкий). В гиалоплазме протекают ферментативные реакции, метаболические процессы, синтез аминокислот, жирных кислот. Гиалоплазма содержит множество белковых нитей – филаментов, которые пронизывают цитоплазму и образуют цитоскелет.

### **Органеллы**

Органеллы (органоиды) (рис.2.6) – постоянные структуры цитоплазмы, выполняющие в клетке жизненно важные функции. В зависимости от функции различают органоиды общего и специального назначения. К органоидам специального назначения относятся микроворсинки, реснички, жгутики. Органеллы общего назначения делятся на немембранные (рибосомы, клеточный центр (центриоль), микротрубочки, микрофиламенты) и мембранные. К одномембранным органеллам относятся эндоплазматическая сеть (ретикулум), аппарат Гольджи, лизосомы, пероксисомы, вакуоли. К двумембранным органеллам относятся митохондрии и пластиды растительных клеток.

### **Одномембранные органоиды**

#### ***Эндоплазматическая сеть***

ЭПС – это система цистерн и каналов, «стенка которых образована мембраной (рис. 2.7). Нередко цистерны имеют пузыревидные утолщения. ЭПС пронизывает цитоплазму в разных направлениях и делит ее на изолированные ячейки – компартменты. Компартментализация способствует пространственному разделению веществ и процессов в клетке. ЭПС выполняет синтетическую и транспортную функции.

Если на поверхности мембран каналов ЭПС располагаются рибосомы, она называется гранулярной или шероховатой, если рибосом нет – гладкой. Функции ЭПС: 1) биосинтез белков (гранулярная ЭПС), жиров и углеводов (гладкая ЭПС), 2) транспортировка всех веществ в клетке, 3) компартментализация цитоплазмы (разделение на отсеки), 4) участие в образовании мембран цитоплазмы. Отчлняющиеся от ЭПС пузырьки представляют исходный материал для других одномембранных органелл: аппарата Гольджи, лизосом, вакуолей.

#### ***Аппарат Гольджи (пластинчатый комплекс)***

Аппарат Гольджи (в честь К. Гольджи, который обнаружил органеллу в 1898 г.) обычно расположен около клеточного ядра.

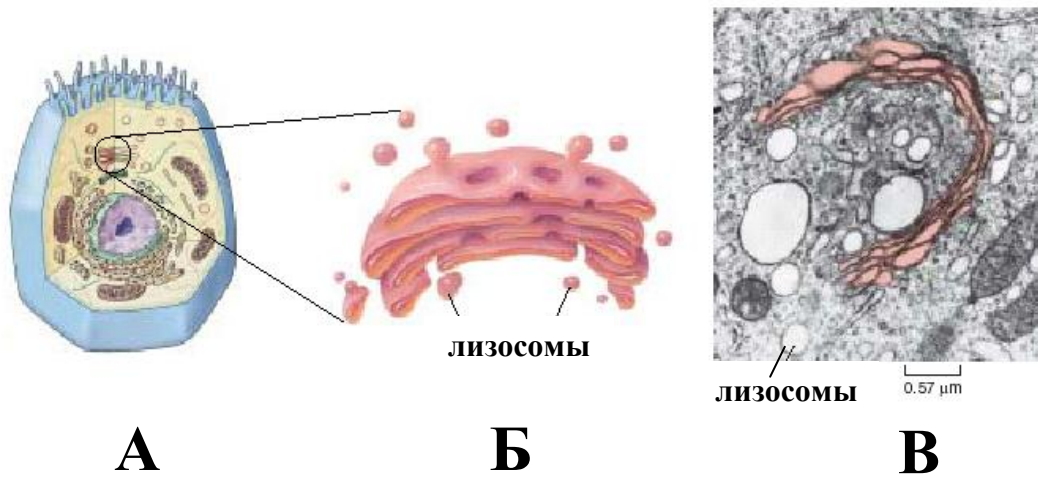


Рис. 2.8. Аппарат Гольджи (А- местонахождение в клетке, Б – схема строения, В – электронная микрофотография).

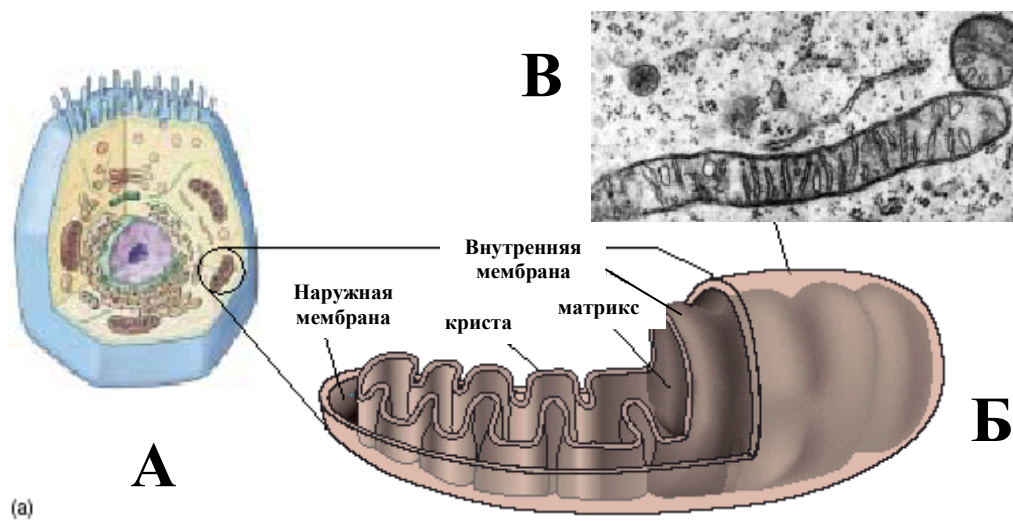


Рис. 2.9.Схема строения митохондрий. (А- местонахождение в клетке, Б – схема строения, В – электронная микрофотография).



Основным элементом органеллы является мембрана, образующая уплощенные цистерны – диски, которые располагаются друг над другом (4-6). Края цистерн переходят в трубочки, от которых отчленяются пузырьки, транспортирующие заключенное в них вещество к месту его потребления (лизосомы, вакуоли) (рис. 2.8). Поэтому наиболее крупные аппараты Гольджи находятся в секретирующих клетках. Диски-цистерны формируются из пузырьков, отпочковывающихся от гладкой ЭПС. Функции: секреция веществ, их сортировка и упаковка, образование комплексных соединений, формирование лизосом.

### ***Лизосомы***

Лизосомы (от греч. Лизис – разрушение, сома – тело) – пузырьки больших или меньших размеров, заполненные ферментами (протеазами, липазами, нуклеазами). Лизосомы образуются в ЭПС и аппарате Гольджи. Основная функция лизосом – внутриклеточное расщепление и переваривание веществ, поступивших в клетку и удаление их из клетки. Выделяют первичные и вторичные лизосомы. Пузырьки с набором ферментов, отделившиеся от цистерн аппарата Гольджи, называют первичными лизосомами. Они участвуют во внутриклеточном пищеварении. Если первичные лизосомы сливаются с фагоцитарными и пиноцитарными вакуолями, образуются вторичные лизосомы. В них происходит переваривание веществ, поступивших в клетку путем эндоцитоза. Продукты переваривания поглощаются клеткой, а лизосомы, содержащие нерасщепленные материалы, называются остаточными тельцами, которые путем экзоцитоза выводятся наружу.

**Вакуоли.** Содержатся в цитоплазме клеток растений. Образуются из мелких пузырьков, отщепляющихся от ЭПС. В вакуолях запасается вода, питательные вещества (белки, сахара), откладываются пигменты. Вакуоли поддерживают тургор (давление) в клетке. Некоторые вакуоли напоминают лизосомы.

**Пероксисомы** – органеллы, освобождающие клетки от перекисей, накапливающихся вследствие неферментативного окисления жирных кислот.

## **Двумембранные органоиды**

### ***Митохондрии***

Митохондрии – это структуры округлой или палочковидной формы (рис. 2.9). Обычно митохондрии скапливаются в тех участках, где велика потребность в АТФ (скелетные мышцы, сердце). Состоит из двух мембран. Наружная мембрана гладкая, внутренняя образует многочисленные складки – кристы. На кристах митохондрий расположены сферические тельца на ножках – АТФ-сомы. Митохондрии называют энергетическими

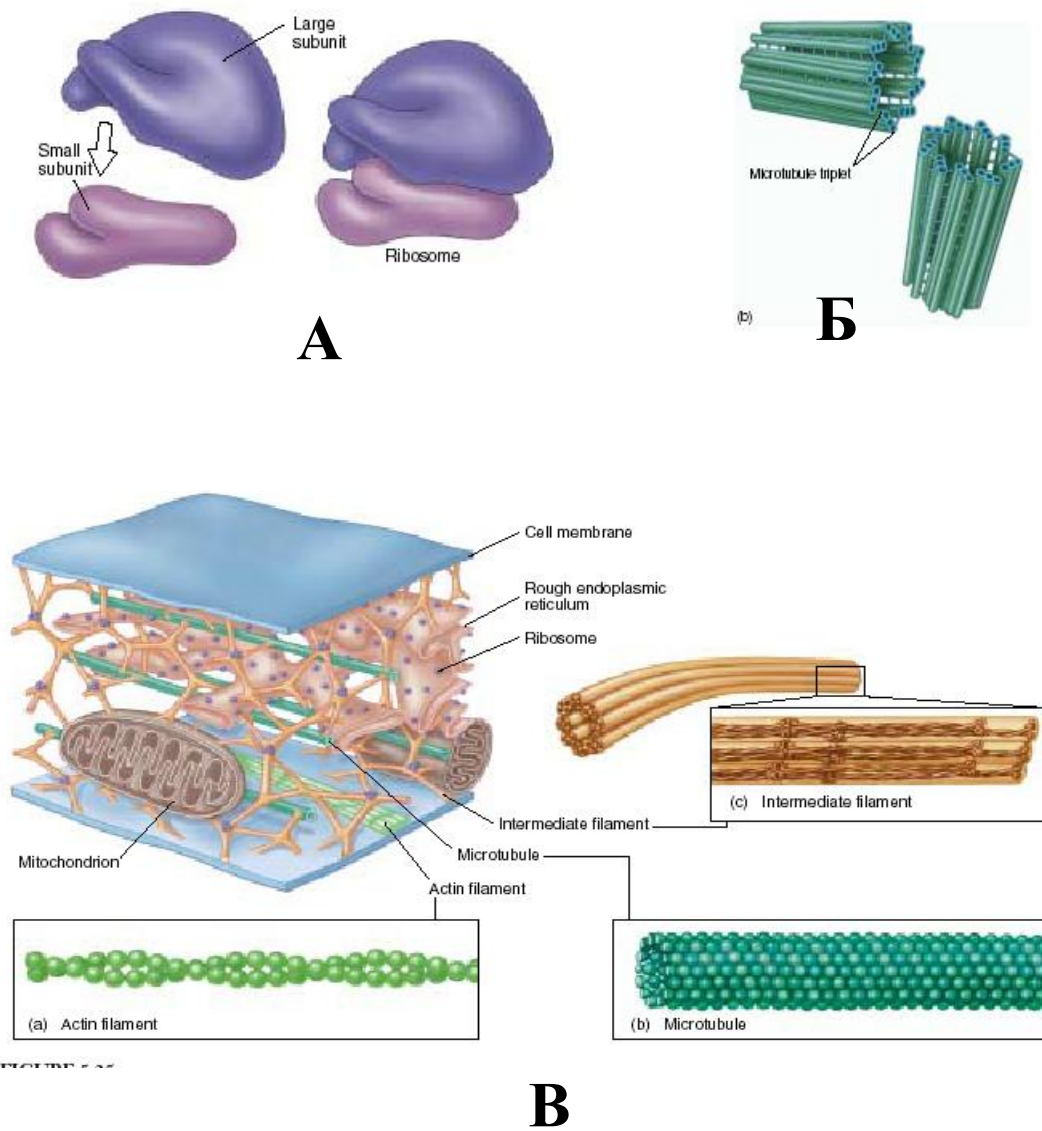


Рис. 2.10.Схема строения немембранных органоидов (А – рибосомы, Б – центриоли, В – микротрубочки и микрофиламенты)

станциями клетки. В них происходит окисление органических веществ, благодаря чему освобождается заключенная в них энергия. Митохондрии содержат три группы ферментов: цикла Кребса (катализируют окислительно-восстановительные реакции, внутренний матрикс), тканевого дыхания (кристи) и окислительного фосфорилирования (АТФ-сомы). Энергия АТФ используется: 1) для биосинтеза веществ (50%), 2) для транспортировки (30-40%), 3) для механической работы – сокращение мышц, 4) для деления клеток, 5) рассеивается в виде тепла.

### ***Пластиды***

Это двумембранные органеллы, присутствующие в растительных клетках. Различают три вида пластид: хлоропласты, хромопласты, лейкопласты.

## **Немембранные органоиды**

### ***Рибосомы***

На рибосомах осуществляется соединение аминокислот в полипептидные цепочки (синтез белка). Каждая рибосома состоит из двух частей: малой и большой субъединиц. Объединение их происходит в присутствии мРНК (рис.2.10 А).

### ***Клеточный центр***

Органоид характерен для животных клеток. Располагается около ядра. Состоит из парных центриолей, расположенных перпендикулярно, и centrosферы (рис.2.10 Б). Центриоль имеет вид полого цилиндра, стенка которого образована 27 микротрубочками (9 триплетов). В функцию центриолей входит образование нитей митотического веретена деления, которые также образованы микротрубочками. Центриоли поляризуют процесс деления клеток, обеспечивая расхождение сестринских хроматид.

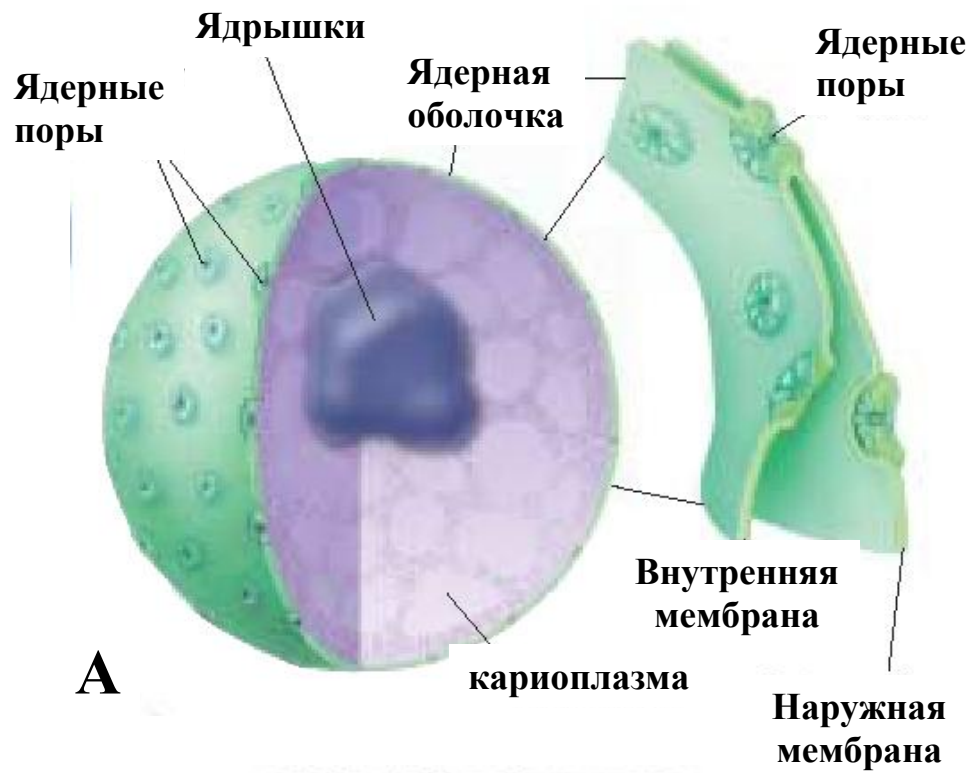
### ***Микротрубочки и микрофиламенты***

Микротрубочки – тончайшие трубочки, стенки которых образованы белком тубулином (рис.2.10 В). Микрофиламенты – тонкие белковые нити, состоят из белка актина. Участвуют в образовании нитей веретена деления и цитоскелета.

### **Органоиды специального назначения.**

Реснички и жгутики – органеллы передвижения. Представляют собой тонкие цилиндрические выросты цитоплазмы, покрытые плазматической мембраной. Жгутики отличаются от ресничек длиной. У основания ресничек и жгутиков лежат базальные тельца.





**Б**

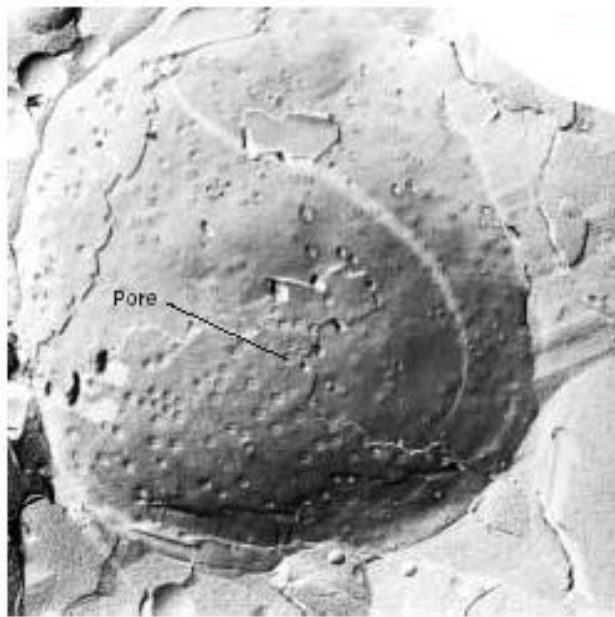


Рис. 2.11. Строение ядра (А – схема, Б – электронная микрофотография).

## Структура клеточного ядра

Ядро является постоянным структурным компонентом всех клеток высших растений и животных. Оно присутствует во всех эукариотических клетках за исключением зрелых эритроцитов крови человека и некоторых животных. Биологическое значение ядра заключается в регуляции всех жизненно-важных функций клетки и в передаче наследственной информации. В ядре хранится наследственная информация, заключенная в ДНК, которая при делении клетки передается дочерним клеткам. Ядро определяет специфичность белков, синтезируемых данной клеткой. В ядре синтезируется РНК.

Ядро имеет ядерную оболочку, отделяющую его от цитоплазмы, кариоплазму (ядерный сок), хроматин, одно или несколько ядрышек (рис. 2.11).

**Ядерная оболочка** образована двумя мембранами: внешней и внутренней. Каждая мембрана соответствует элементарной мембране и имеет трехслойное строение (бимолекулярный слой липидов, поверхностный аппарат – гликокаликс, внутренний опорно-сократительный аппарат). Промежуток между мембранами называется перинуклеарным пространством. Наружная ядерная мембрана имеет контакт с внутриклеточными мембранами, в частности, может переходить в мембраны ЭПС. Некоторые ученые считают эту мембрану производной ЭПС. На наружной мембране с внешней стороны находятся рибосомы, синтезирующие специфические белки. Внутренняя мембрана связана с хромосомным материалом ядра.

Ядерная оболочка пронизана большим количеством пор (**поровый комплекс**) диаметром 30-40 нм до 120 нм. Поры играют важную роль в переносе веществ в цитоплазму и из нее. Число пор подвержено значительным вариациям, оно зависит от размеров ядер и функциональной активности клетки. Поры занимают до 10-15% поверхности всего ядра. Поровый комплекс представляет собой участок, в котором наружная и внутренняя ядерные мембраны соединяются между собой. Однако поры не являются пустыми пространствами. Они имеют сложную гетерогенную белковую структуру (белковые глобулы). В порах расположен канал из белковых глобул, через который в цитоплазму транспортируется мРНК.

**Ядерный сок** (кариоплазма) – внутреннее содержимое ядра, представляет собой раствор белков, нуклеотидов, ионов, более вязкий, чем гиалоплазма. В кариоплазме находятся ядрышки и хроматин. Ядерный сок обеспечивает нормальное функционирование генетического материала.

**Хроматин** представляет собой дезоксирибонуклеопротеин. Это комплекс молекулы ДНК с гистоновыми белками. Хроматин в электронный микроскоп выявляется в виде тонких нитей, глыбок и гранул. В процессе митоза хроматин удваивается и конденсируется (спирализуется), образуя, таким образом, хорошо видимые при окраске структуры – хромосомы.

ДНК, входящая в состав хроматина, представляет собой двухцепочечную спиральную молекулу, которая укомплектована в хромосомы в комплексе с белками. Такая структура называется дезоксирибонуклеопротеидом – ДНП. На долю белков приходится 65% массы хромосом. Все хромосомные белки разделяются на 2 группы: гистоны (основные) – 40% и негистоновые (кислые) белки – 20%.

**Ядрышки** – непостоянные образования, они исчезают при делении клеток и восстанавливаются после окончания деления. Ядрышки образованы определенными участками хромосом (т.н. ядрышковые организаторы), содержащими рибосомные гены. Т.о. в ядрышках происходит формирование субъединиц рибосом, которые затем через поры выходят из ядра в цитоплазму.

### Глава 3

## **ХРОМАТИН: СТРУКТУРА, ФУНКЦИИ, УРОВНИ УКЛАДКИ. ЖИЗНЕННЫЙ И МИТОТИЧЕСКИЙ ЦИКЛ КЛЕТКИ. МИТОЗ. ДРУГИЕ СПОСОБЫ РЕПРОДУКЦИИ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК (АМИТОЗ, ЭНДОМИТОЗ, ЭНДОРЕДУПЛИКАЦИЯ)**

**Хроматин** представляет собой дезоксирибонуклеопротеин. Это комплекс молекулы ДНК с гистоновыми белками. Хроматин в электронный микроскоп выявляется в виде тонких нитей, глыбок и гранул. В процессе митоза хроматин спирализуется и образует хорошо видимые окрашенные структуры – хромосомы.

ДНК, входящая в состав хроматина, представляет собой двухцепочечную спиральную молекулу, которая укомплектована в комплексе с белками. Такая структура называется дезоксирибонуклеопротеидом – ДНП. На долю белков приходится 65% массы хромосом. Все хромосомные белки разделяются на 2 группы: гистоны (основные) – 40% и негистоновые (кислые) белки – 20%.

Гистоны играют особую роль в структурной организации ДНП. Гистоны имеют «+» заряд, что обусловлено высоким содержанием в них 3-х основных аминокислот: аргинина, лизина и гистидина. Они обладают высоким сродством к молекуле ДНК, которая имеет «-» заряд и образует с ней прочные структурные комплексы. Это препятствует считыванию заключенной в молекуле ДНК биологической информации (регуляторная роль гистонов). Число фракций негистоновых белков превышает 100. Среди них – ферменты синтеза и процессинга РНК, редупликации и репарации ДНК. Длина интерфазных хромосом (хроматина) в 1 клетке человека равна примерно 2 м (2.000.000 мкм). При переходе в метафазное состояние нить ДНК уменьшается в линейном размере почти в 8000 раз!, а диаметр увеличивается в 500-600 раз что свидетельствует о громадных масштабах физического преобразования.

Рассмотрим основные закономерности поперечной и продольной укладки хромосом. Выделяют 4 уровня укладки ДНК в хроматине: 1) нуклеосомный; 2) нуклеомерный (соленоид); 3) хромомерный (петлевой); 4) хромономный (рис.3.1).

### **Первый уровень укладки молекулы ДНК - нуклеосомная нить.**

Наиболее типичными структурами хроматина, выявляемыми в электронном микроскопе, являются нити диаметром 10–30 нм. Эти нити состоят из ДНК и гистонов (H2A; H2B; H3 и H4), формируя **нуклеогистон**. Гистоны образуют белковые тела – коры (core-сердцевина),

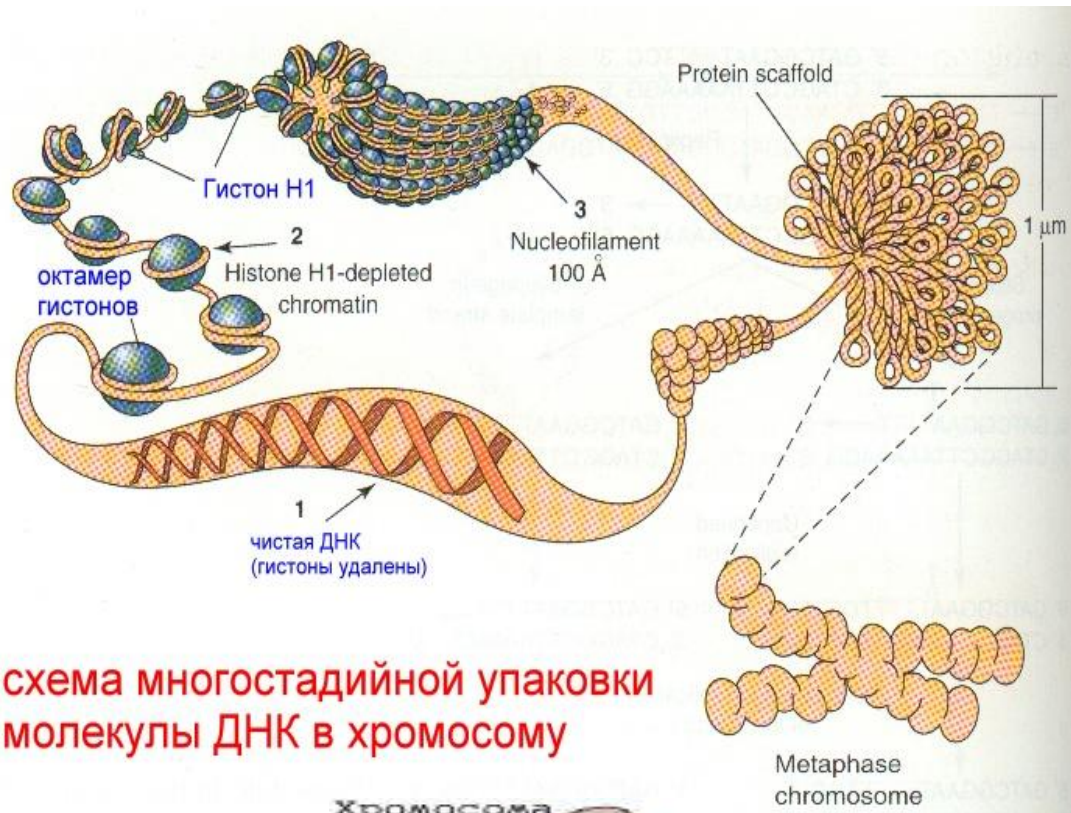


схема многостадийной упаковки молекулы ДНК в хромосому

IV

III

II

I

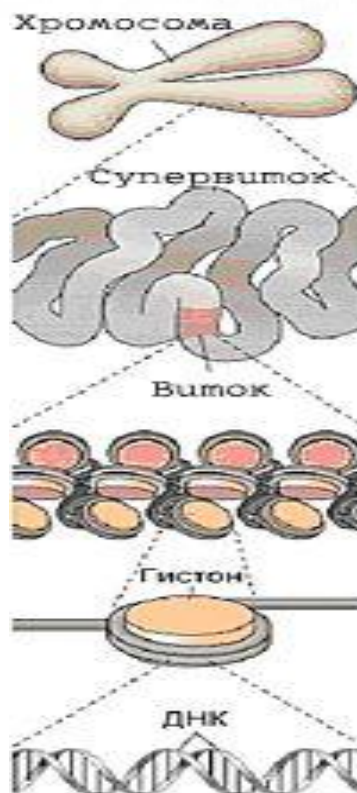


Рис. 3.1. Схема многостадийной упаковки молекулы ДНК в хромосому.

состоящие из 8 молекул (по 2 каждого гистона). Молекула ДНК образует комплекс с белковыми корами, спирально накручиваясь на них и образуя нуклеогистон. На один нуклеогистон приходится 200 пн.

**Второй уровень укладки – нуклеомерный «соленоид».**

Обеспечивается гистонами H1, который сближает белковые коры. В результате образуется более компактная фигура, возможно, построенная по типу «соленоида» – формируется **элементарная хромосомная фибрилла**. I и II уровни укладки характерны для интерфазных хромосом – глыбок хроматина.

**Третий уровень укладки – петлевой – хромомерный.**

Обусловлен укладкой элементарной хроматиновой фибриллы в петли. Соответствует ранней прометафазной хромосоме. В образовании петлевых структур, по-видимому, принимают участие негистоновые белки, которые способны узнавать специфические участки молекулы ДНК, отдаленные друг от друга на расстояние в несколько тысяч нуклеотидов, и сближать их с образованием петель из расположенных между ними фрагментов хроматиновой фибриллы. 1 петля соответствует 20–80 тысячам пар нуклеотидов. Возможно, каждая петля является функциональной единицей генома.

**Четвертый уровень укладки – хромонемный.** (соответствует метафазной хромосоме). Наиболее простым и приемлемым является признание спиральной укладки каждой хроматиды. У самых крупных хромосом человека (1 и 2) – 14–15 таких витков. У мелких – 2–4 витка.

Набор хромосом в соматических клетках данного вида организмов называется кариотипом. **Кариотип** – это видоспецифический признак, характеризующийся определенным числом, строением и генетическим составом хромосом. Этот термин был введен в 1924 г. советским генетиком Левитским. Понятие кариотип подразумевает диплоидный набор хромосом. У каждой хромосомы имеется гомолог, т.е. хромосома, с таким же набором генов. Один набор хромосом – от матери, другой – от отца. Если число хромосом в гаплоидном наборе (в половых клетках) обозначить как  $n$ , то формула кариотипа будет  $2n$ . Изучение полного набора хромосом называется **кариотипированием**. Важность постоянства кариотипа определена в 4-х правилах хромосом: постоянства, парности, индивидуальности и непрерывности.

Нормальный кариотип человека включает 46 хромосом, или 23 пары: из них 22 пары – аутосомы (одинаковые по строению и набору генов) у

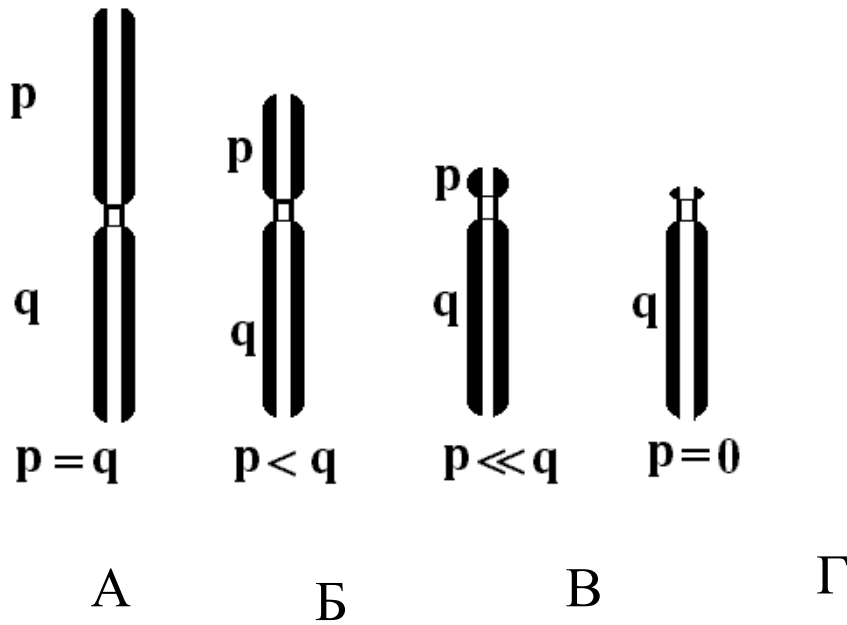


Рис. 3.2. Морфология хромосом (А – метацентрическая, Б – субметацентрическая, В – акроцентрическая, Г – телоцентрическая).

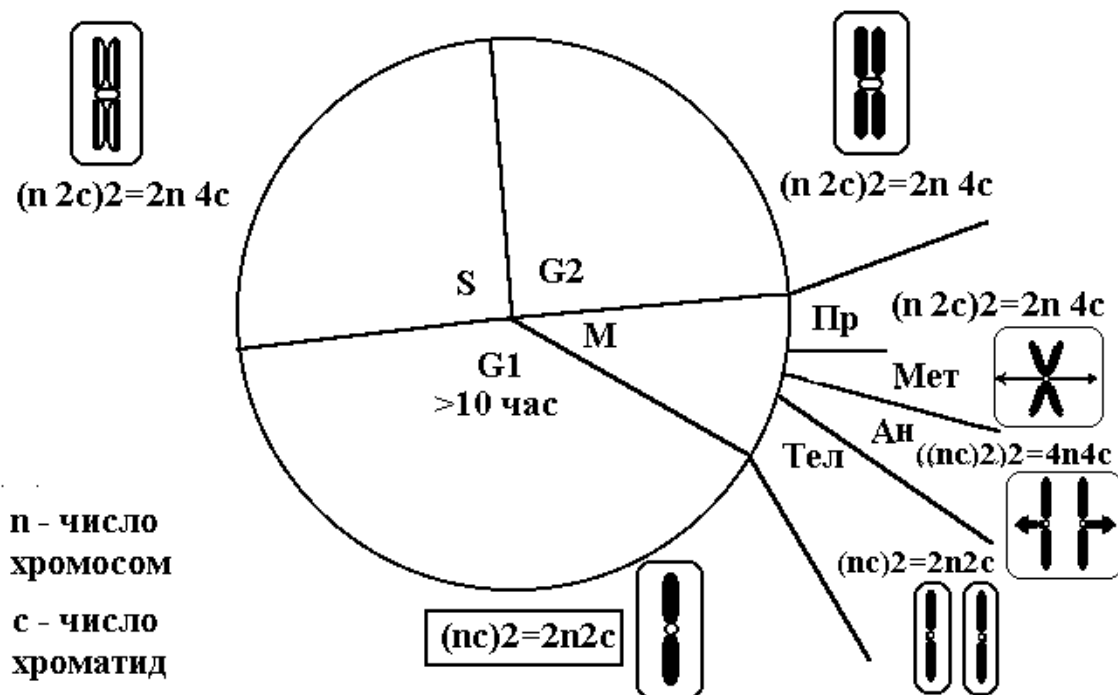


Рис. 3.3. Клеточный цикл

представителей разного пола и 1 пара половых хромосом (гетерохромосомы): XX у женщин и XY – у мужчин. Для изучения кариотипа клетки изучают на стадии метафазы, когда хромосомы максимально конденсированы. Именно на этой стадии можно наиболее точно определить морфологию каждой хромосомы.

### **Морфология хромосом**

В структуре хромосом выделяют: длинное плечо, короткое плечо, центромера, II перетяжка – ЯОР. По месту расположения II перетяжки различают метацентрические, субметацентрические, акроцентрические, телоцентрические хромосомы (рис. 3.2).

### **Клеточный цикл и митотический цикл клетки (МЦК)**

Особое значение для нормальной жизнедеятельности клеток организма имеет поддержание постоянства кариотипа в клетках организма, которое обеспечивают два важных механизма: 1. воспроизведение хромосом, 2. распределение хромосом при делении клеток. В основе воспроизведения хромосом лежат процессы их самоудвоения, т.е. репликация ДНК. Правильное и точное распределение хромосом при делении клеток обеспечивается митозом. Эти два механизма в совокупности образуют митотический цикл клетки (МЦК). В отличие от МЦК клеточный цикл включает период G<sub>0</sub>, в течение которого происходит рост, дифференцировка и функционирование клеток, иногда специализация с потерей способности к делению и естественная гибель.

МЦК – это совокупность процессов, происходящих в клетке от одного деления до следующего и заканчивающихся образованием из одной материнской двух новых дочерних клеток с неизменным набором хромосом. В МЦК условно можно выделить два периода: собственно митоз (деление) и интерфазу. В интерфазе различают 3 периода: пресинтетический (G<sub>1</sub>-период), синтетический (S-период), и постсинтетический (G<sub>2</sub>-период).

В пресинтетическом периоде клетки имеют диплоидный набор хромосом (2n), причем, каждая хромосома состоит из 1 хроматиды (рисунок). Формула хромосом 2n2c.

В синтетическом периоде происходит репликация ДНК. После окончания S-периода каждая хромосома состоит уже не из 1, а из 2 сестринских хроматид (образуются дочерние хромосомы). Формула хромосомного набора, соответственно, приобретает вид 2n4c (на 2 хромосомы теперь приходится 4 хроматиды) (рисунок).

В постсинтетическом клетка готовится к делению. Формула хромосом остается прежней – 2n4c.



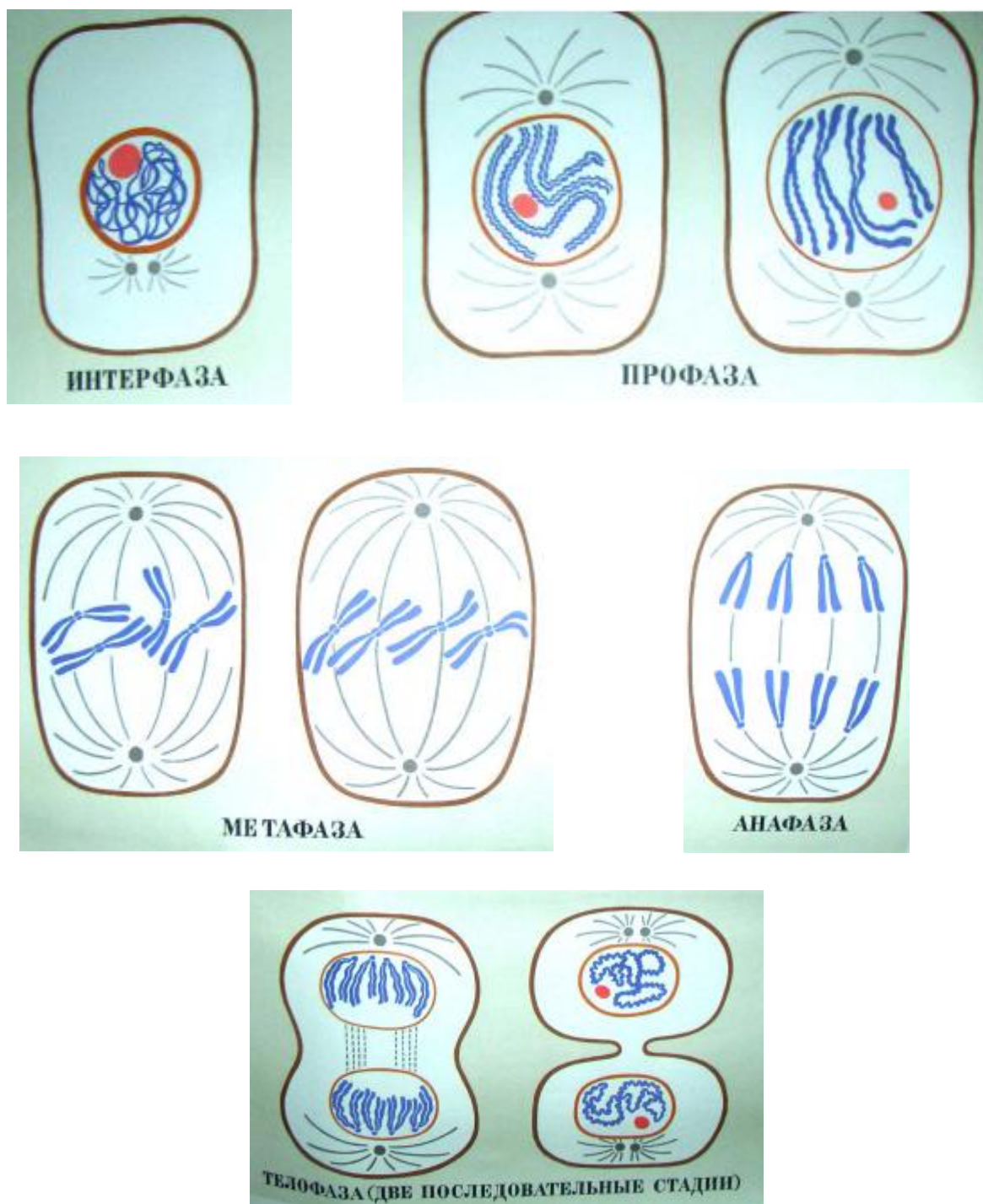


Рис. 3.4. Митотический цикл клетки.

За интерфазой следует непосредственно деление клеток - митоз, в котором различают два этапа: Деление ядра клетки – кариокинез; Деление цитоплазмы клетки – цитокинез.

### **Митоз**

**Митоз** состоит из 4 фаз: 1 – профаза (иногда выделяют прометафазу); 2 – метафаза; 3 – анафаза; 4 – телофаза. Каждая предыдущая фаза обуславливает переход к следующей (рис. 3.4).

#### ***Биологическое значение митоза***

Заключается в точном идентичном распределении сестринских хроматид (или дочерних хромосом) между дочерними клетками. В результате этого деления из одной материнской клетки образуются две генетически равноценные дочерние клетки, которые имеют хромосомный набор, по количеству и качеству точно идентичный материнской клетке. Так поддерживается постоянство кариотипа (т.е. набора хромосом) в поколениях клеток.

Разновидностями митоза являются амитоз, эндомиоз и эндоредупликация. **Амитоз** – прямое деление цитоплазмы без формирования веретена деления (у человека в норме встречается в клетках печени). При **эндомиозе** удвоение ДНК и деление центромер и хромосом в анафазе не сопровождается делением ядра и клетки, в результате чего набор хромосом в ядре удваивается. Это приводит к полиплоидии, когда число хромосом увеличивается пропорционально  $2n$ :  $2n$  (норма, диплоид) –  $4n$  (тетраплоид) и т.д. В результате **эндоредупликации** происходит удвоение ДНК без деления центромер, в результате чего число хроматид в одной хромосоме увеличивается пропорционально  $2c$ :  $2c$  –  $4c$  –  $8c$  –  $16c$  и т.д. Образуются политенные (от лат. *tensis* – нить) хромосомы, содержащие до 1000 нитей хроматина, объединенных одной центромерой.

#### **Нервно-гуморальные факторы регуляции митоза**

Среди факторов нервно-гуморальной регуляции митоза особое место отведено двум ключевым белкам: циклины и циклин-зависимые киназы. Циклины активируют CDK, что является сигналом к удвоению хромосом и делению клетки.

В процессе митотического деления каждая клетка получает полный двойной комплект хромосом. Если бы образование половых клеток шло таким же путем, то после оплодотворения (слияния женской и мужской гамет) число хромосом всякий раз удваивалось бы. На самом деле этого не происходит. Каждому виду свойственно определенное число и определенный набор хромосом (кариотип). Это возможно лишь при условии, если при образовании клеток будет происходить редукция, т.е. уменьшение, числа хромосом вдвое.

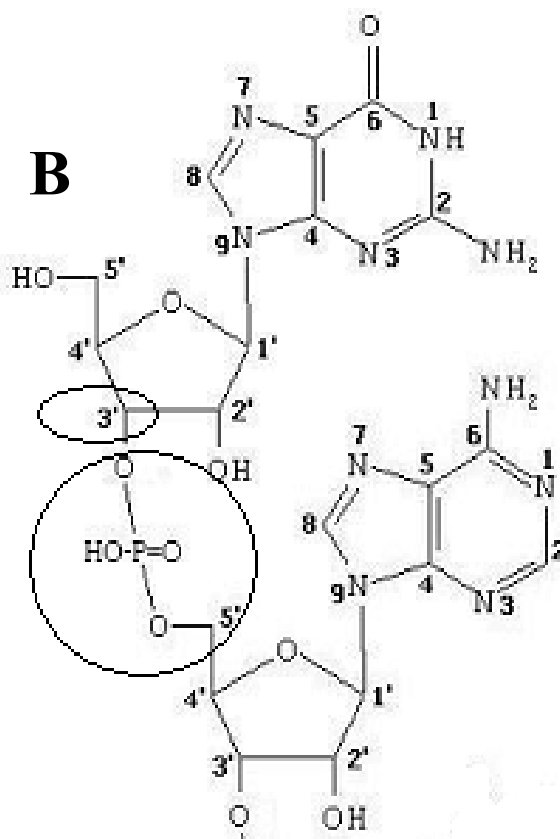
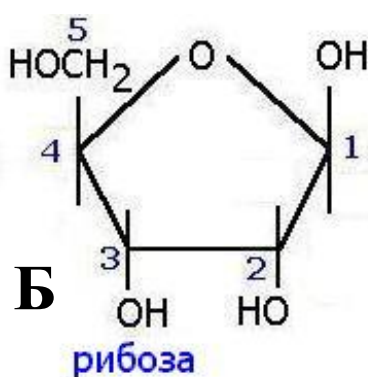
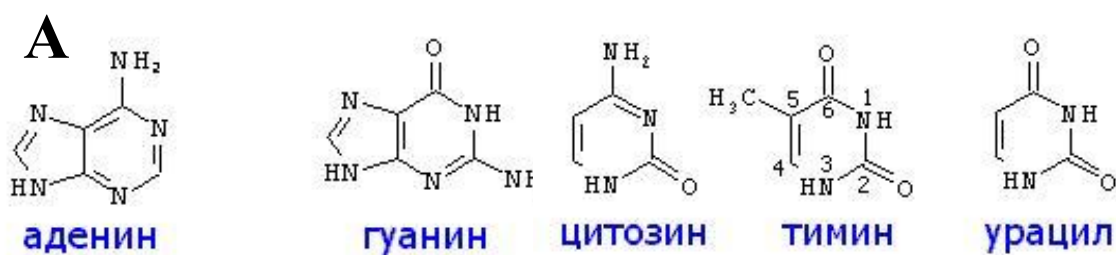


Рис. 4.1.Строение нуклеотида (А – пуриновые (аденин, гуанин) и пиримидиновые (Тимин, цитозин) азотистые основания, Б- сахар (пентоза), В- соединение нуклеотидов за счет фосфодиэфирных связей).

## Глава 4

# ГЕННЫЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ НАСЛЕДСТВЕННОГО МАТЕРИАЛА. ХИМИЧЕСКАЯ И СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ (ДНК И РНК). РЕПЛИКАЦИЯ И РЕПАРАЦИЯ ДНК. СТРУКТУРА ГЕНОВ ПРОКАРИОТ И ЭУКАРИОТ. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД И ЕГО СВОЙСТВА

Исследования, направленные на выяснение химической природы наследственного материала показали, что материальным субстратом генов являются нуклеиновые кислоты – ДНК и РНК. Нуклеиновые кислоты – это макромолекулы, т.е. отличаются большой молекулярной массой.

В структурной организации молекулы ДНК можно выделить 3 уровня:  
Первичная структура – полинуклеотидная цепь  
Вторичная структура – две комплементарные друг другу и антипараллельные полинуклеотидные цепи  
Третичная структура – трехмерная спираль

### Первичная структура ДНК

ДНК – это полимер, состоящий из мономеров – нуклеотидов. Каждый нуклеотид включает три основных компонента: азотистое основание (аденин, гуанин, цитозин, тимин, урацил), сахар (дезоксирибоза или рибоза), остаток фосфорной кислоты (рис. 4.1).

Соединение нуклеотидов в макромолекулу нуклеиновой кислоты происходит путём взаимодействия фосфата одного нуклеотида с гидроксильной группой другого, так, что между ними устанавливается фосфодиэфирная связь. В результате образуется полинуклеотидная цепь. Важно отметить, что сборка полипептидной цепи осуществляется строго в одном направлении, а именно, путем присоединения фосфатной группы, расположенной в 5'-положении последующего нуклеотида к 3'-гидроксильной группе предыдущего нуклеотида.

### Вторичная структура ДНК

В 1953 г Уотсон и Крик представили модель 3-х мерной молекулы ДНК (рис. 4.2). За это открытие в последующем они были удостоены Нобелевской премии. Ученые показали, что особенностью 2-й структурной организации ДНК является то, что в ее состав входят 2 полипептидные цепи, связанные между собой особым образом – путём образования водородных связей между азотистыми основаниями по принципу комплементарности: пурин связывается только с пиримидином, т.е. Аденин (А) может связываться только с Тимином (Т), а Гуанин (Г, англ. G) – только с Цитозином (Ц, англ. C) и наоборот. При этом между А и Т образуются 2 водородные

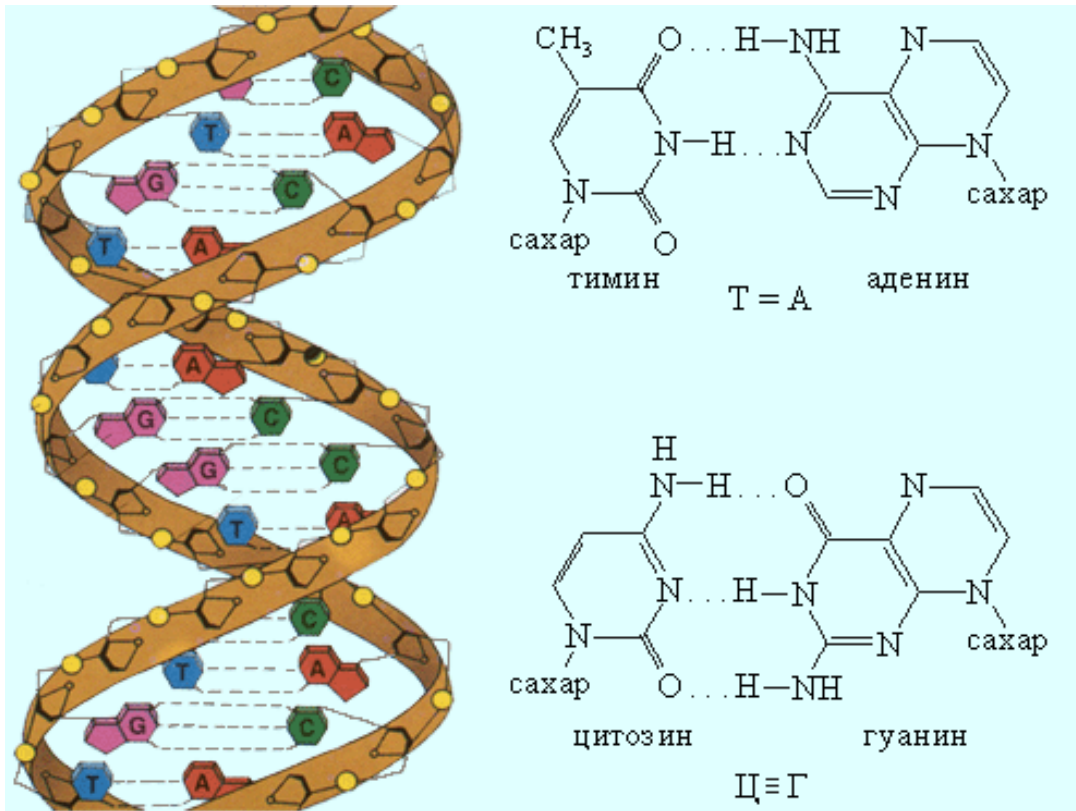
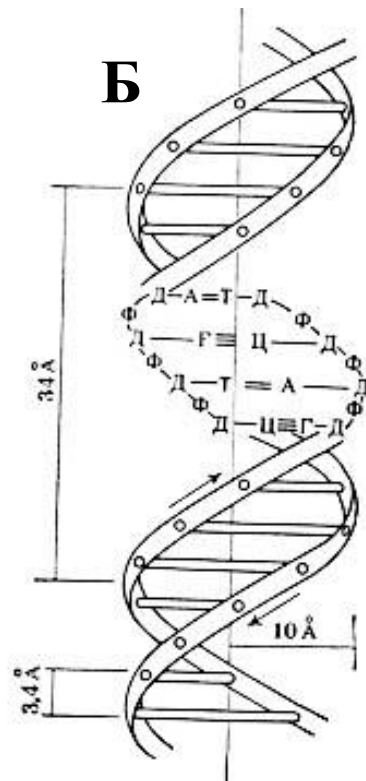
**А****Б****В**

Рис. 4.2.Строение молекулы ДНК (А – двойной тяж ДНК, Б – схематическое изображение спаривания азотистых оснований, В – показатели спирали).

связи, а между Г и Ц – 3. Благодаря комплементарности соединения в цепь число пуринов в молекуле ДНК всегда равно числу пиримидинов, т.е.

$A + G = T + C$  – это правило Чаргаффа (1951 г.)

Хотя водородные связи между парами оснований относительно слабы, каждая молекула ДНК содержит приблизительно 3,3 млрд. пар, так что в физиологических условиях ( $T^0$ , рН) цепи никогда не разрываются.

Сахаро-фосфатный остов находится по периферии молекулы ДНК, а пуриновые и пиримидиновые основания – внутри.

Другой важной особенностью молекулы ДНК является антипараллельность двух составляющих её цепей, т.е. 5'–конец одной цепи соединяется с 3'-концом другой.

### **Третичная структура ДНК**

Данные рентгеноструктурного анализа показали, что молекула ДНК образует правозакрученную спираль диаметром 2 нм; длиной шага – 3,4 нм. В каждый виток входит 10 п.н.

*ДНК эукариот неоднородна по функциональной значимости* и может быть подразделена на 3 класса:

1. Повторяющиеся последовательности (не транскрибируются) встречаются в геноме до 1млн. раз.
2. Умеренно повторяющиеся последовательности (встречаются в геноме  $10^2$  -  $10^3$  раз). Это гены тРНК и белков, входящих в состав рибосом, хроматина и рРНК.
3. Уникальные участки с неповторяющимися сочетаниями нуклеотидов. У человека уникальные участки ДНК составляют не более 10-15% от общей длины молекулы ДНК.

Уникальные участки ДНК являются структурной основой большинства генов человека, в которых закодирована информация о первичной структуре полипептида. Отсюда следует, что жизнедеятельность организма обусловлена, в основном, функциональной активностью уникальных участков, т.е. генов.

*Главная функция ДНК* заключается в том, что она предназначена для хранения и передачи наследственной информации в клетках про- и эукариот. У вирусов эту функцию выполняет РНК.

### **Основные отличия ДНК от РНК**

1. В молекула ДНК – двухцепочечная, молекула РНК - одноцепочечная.

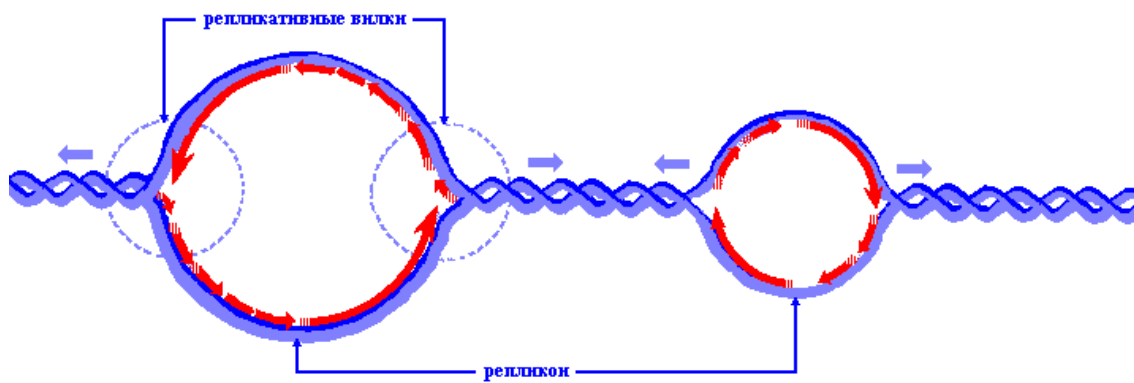
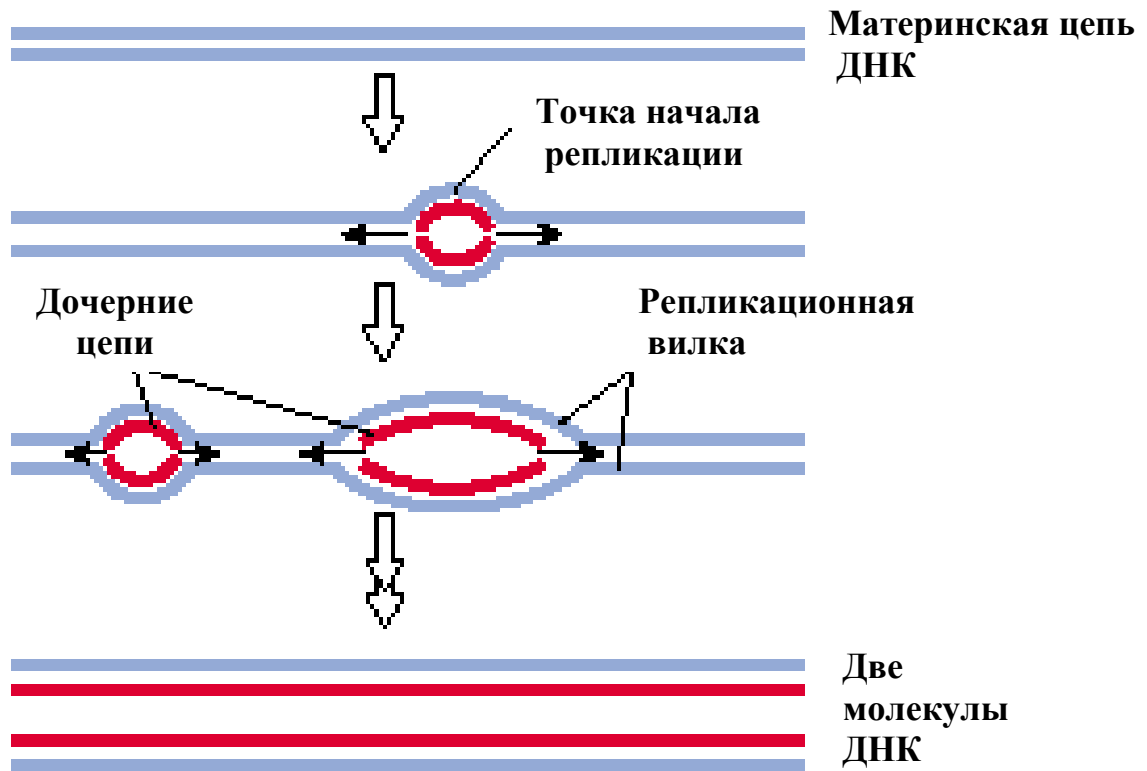


Рис. 4.3. Область начала репликации ДНК.

2. По строению она сходна с одной из цепей ДНК, только вместо Тимина, входящего в состав молекулы ДНК в молекуле РНК присутствует Урацил (У) (пиримидиновый нуклеотид).

3. Между ДНК и РНК существуют различия в характере углевода: в ДНК- дезоксирибоза, в РНК – рибоза. В отличие от ДНК, содержание которого в клетке постоянно, содержание в них РНК сильно колеблется и зависит от интенсивности синтеза белка.

### **Виды РНК**

1. Транспортная (тРНК). Состоит из 75-95 нуклеотидов. Осуществляет перенос аминокислот в рибосомы, т.е. к месту синтеза полипептида.
2. Рибосомная (рРНК). Включает 3-5 тысяч нуклеотидов. р РНК составляет существенную часть структуры рибосомы.
3. Информационная, или матричная (иРНК, или мРНК) – осуществляет перенос информации о структуре белка от ДНК к месту синтеза белка в рибосомах.

### **Важно отметить, что все виды РНК синтезируются по матрице ДНК!**

Нуклеиновые кислоты отличаются от всех других макромолекул двумя удивительными свойствами.

2. Во-первых, это способность к самовоспроизводству, самокопированию или размножению - репликации.
3. Во-вторых, в нуклеиновых кислотах в виде генов записана информация о структуре полипептидов, белков, отвечающих за те или иные признаки и развитие организма. Недаром ДНК сравнивают с энциклопедией жизни!

Рассмотрим эти два свойства молекулы ДНК.

### **Самовоспроизводство - репликация молекулы ДНК**

Артур Корнберг в 1956 провел уникальные опыты. Он синтезировал ДНК *in vitro*, т.е. в пробирке. Репликация (удвоение) ДНК происходит в S-периоде клеточного цикла (S - synthesis). В результате из одной молекулы ДНК образуются две идентичные двойные спирали. Каждая из двух цепей материнской молекулы служит матрицей для «дочерей». После репликации в обеих двойных спиралях одна цепочка – материнская, другая- дочерняя. Такой способ удвоения молекул ДНК называется полуконсервативным.

Репликация ДНК начинается в строго определенных точках, имеющих уникальные последовательности длиной около 300 п.н., которую узнают специальные иницирующие белки. Эти участки называются точками начала репликации - (Ori – Origine - источник). У прокариот имеется одна точка Ori, у эукариот их много (рис. 4.3).



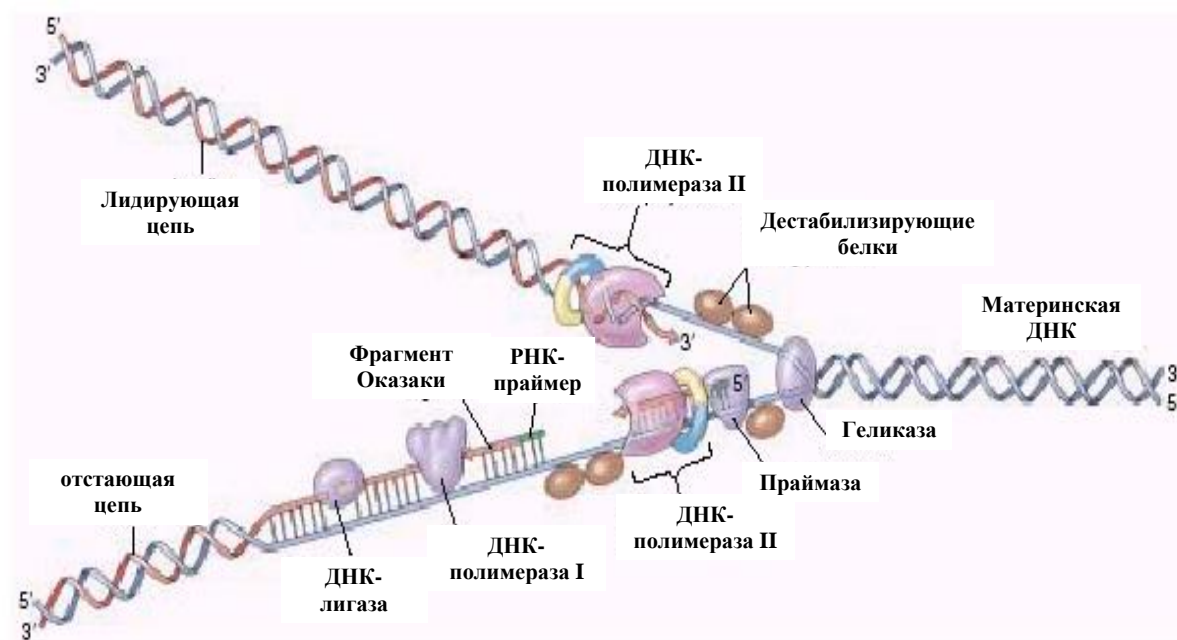


Рис. 4.4. Белки, участвующие в процессе репликации ДНК (репликационная вилка).

Двойная спираль ДНК раскручивается и образуется репликационная вилка. Участок молекулы ДНК от точки начала одной репликации до точки начала другой репликации называется репликоном.

В процессе репликации ДНК принимает участие множество ферментов (рис.4.4).

1. ДНК-геликаза разрывает водородные связи и двойная спираль расплетается.

2. Дестабилизирующие белки соединяются с одноцепочечной ДНК и фиксируют ее.

3. В результате раскручивания цепи ДНК возникает суперспирализация. ДНК-топоизомераза – фермент, который разрывает одну из цепей ДНК и дает ей возможность свободно вращаться вокруг другой цепи. Это снимает напряжение в спирали ДНК.

4. Начало репликации активируется короткими фрагментами РНК (100-200 нуклеотидов), которые называются РНК – затравкой или РНК-праймерами.

5. ДНК-полимераза синтезирует цепь ДНК от места присоединения РНК-затравки. Новая цепь синтезируется в направлении от 5' к 3', т.к. 5' конец последующего нуклеотида с остатком фосфорной кислоты присоединяется к 3'ОН-концу (гидроксильная группа) уже синтезированного участка ДНК.

Синтез ДНК происходит полунепрерывно, поскольку различают *лидирующую (ведущую цепь)* и *отстающую цепь*. На отстающей цепи синтезируются *фрагменты Оказаки* длиной 1000-2000 нуклеотидов.

6. ДНК-лигаза соединяет (сшивает) отдельные фрагменты Оказаки.

За один митотический цикл ДНК клетки полностью реплицируется только один раз. Пока полностью не закончится репликация ДНК, не происходит деления клетки.

Репликация ДНК и про- и эукариот в основных чертах протекает сходно. Однако скорость репликации у эукариот составляет около 100 нуклеотидов в секунду, что на порядок ниже, чем у прокариот (1000 н/сек). Это необходимо для высокой точности репликации ДНК (1 ошибка на 100.000 нуклеотидов). Но благодаря наличию множества точек Ori репликация ДНК у эукариот происходит достаточно быстро.

### **Репарация ДНК**

Точность репликации ДНК у эукариот поддерживается несколькими механизмами. Во-первых, это самокоррекция, т.е. отщепление ошибочно присоединенного нуклеотида. Этот процесс контролирует ДНК-полимераза и частота ошибок уменьшается в 10 раз (1 ошибка на 10.000 нуклеотидов). Во-вторых, в организме действует система репарации, т.е. восстановления повреждений ДНК и исходной последовательности



Рис. 4.5. Механизм эксцизионной репарации ДНК.

нуклеотидов. Наиболее распространенным механизмом репарации ДНК является **эксцизионная репарация** – вырезание ошибочных нуклеотидов.

Механизм эксцизионной репарации ДНК(рис.4.5) .

- 1) эндонуклеаза- (находит и разрезает двойную цепь)
- 2) экзонуклеаза- вырезает брешь ( несколько тысяч нуклеотидов )
- 3) ДНК- полимераза- застраивает брешь
- 4) ДНК- лигаза – сшивает разрыв.

Итак, молекула ДНК- носитель всей генетической информации в клетке. Структура ДНК - набор нуклеотидов. Следовательно, структурной единицей генов являются нуклеотиды (ATGC). Структурной единицей белков являются аминокислоты. Первым белком, для которого была определена последовательность аминокислот, был белок инсулина. В молекуле ДНК зашифрована информация о последовательности аминокислот в полипептидах (или белках) с помощью биологического (или генетического) кода. Т.о. **Генетический код** – это запись в уникальных участках молекулы ДНК информации о структуре белков и полипептидов. Каким же образом в молекуле ДНК зашифрована информация о структуре белка? Ответ на этот вопрос был дан в 1961 году Фрэнсисом Криком.

Ф. Крик и его коллеги предположили, что информация должна быть выражена через блоки – кодоны. Они предположили, что кодоны должны включать не менее 3-х нуклеотидов. Почему?

В природе обнаружено 20 различных аминокислот, из которых комплектуются все белки. Для того, чтобы зашифровать 20 вариантов аминокислот, генетический код должен включить как минимум 3 нуклеотида, т.к. из двух нуклеотидов можно скомбинировать только  $4^2 = 16$  вариантов, а из трех нуклеотидов –  $4^3 = 64$  варианта.

Полная расшифровка генетического кода проведена в 60-х годах XX века. Оказалось, что из 64 возможных вариантов триплетов 61 кодирует различные аминокислоты, а 3 являются бессмысленными, или STOP-кодонами: UAG, UAA, UGA кодонами, на которых прекращается считывание наследственной информации (рис. 4.6).

### Свойства генетического кода

1. **Триплетность**: каждый кодон включает 3 нуклеотида.
2. **Универсальность**: у всех живых организмов, существующих на Земле, генетический код одинаковый, что свидетельствует о единстве происхождения всего живого. Кодон AGA кодирует аминокислоту аргинин и у бактерий, и у человека, и у всего живого.
3. **Вырожденность**: 61 триплет на 20 аминокислот. Отсюда следует, что некоторые аминокислоты должны шифроваться несколькими

Первое основание	Второе основание			
	Т	С	А	Г
<b>Т</b>	ТТТ Фенилаланин ТТС Фенилаланин ТТА Лейцин ТТГ Лейцин	ТСТ Серин ТСС Серин ТСА Серин ТСГ Серин	ТАТ Тирозин ТАС Тирозин ТАА STOP ТАГ STOP	TGT Цистеин TGC Цистеин TGA STOP TGG Триптофан
<b>С</b>	СТТ Лейцин СТС Лейцин СТА Лейцин СТГ Лейцин	ССТ Пролин ССС Пролин ССА Пролин ССГ Пролин	САТ Гистидин САС Гистидин САА Глутамин СAG Глутамин	CGT Аргинин CGC Аргинин CGA Аргинин CGG Аргинин
<b>А</b>	АТТ Изолейцин АТС Изолейцин АТА Метионин АТГ Метионин	АСТ Треонин АСС Треонин АСА Треонин АСГ Треонин	ААТ Аспарагин ААС Аспарагин ААА Лизин АAG Лизин	AGT Серин AGC Серин AGA Аргинин AGG Аргинин
<b>Г</b>	GTT Валин GTC Валин GTA Валин GTG Валин	GCT Аланин GCC Аланин GCA Аланин GCG Аланин	GAT Аспарагин к-та GAC Аспарагин к-та GAA Глутамин к-та GAG Глутамин к-та	GGT Глицин GGC Глицин GGA Глицин GGG Глицин

Рис. 4.6. Генетический код. Триплетные кодоны ДНК и соответствующие им аминокислоты

триплетами. Это имеет очень важное значение, поскольку замена нуклеотида не всегда может приводить к замене аминокислоты). Например, аминокислоту валин кодируют три триплета: GTT, GTC, GTA, GTG.

4. Специфичность: каждый триплет соответствует только 1 аминокислоте: GTT- только валин. Кодон ATG является стартовым (метионин).
5. Универсальность: у всех живых организмов, существующих на Земле, генетический код одинаковый, что свидетельствует о единстве происхождения всего живого. Кодон AGA кодирует аминокислоту аргинин и у бактерий, и у человека, и у всего живого.
6. Непрерывность и непрерываемость (считывается без пропусков).

Рассмотрим условные примеры:

Норма: 123 123 123 123 ...

Делеция (утрата): 123 231 231 231 ... (произошел сдвиг рамки считывания).

Вставка: 123 112 312 312 312 ... (произошел сдвиг рамки считывания).

### Классификация генов

Все гены по функциям подразделяются на структурные и функциональные (рис.4.7).

1. **Структурные гены** несут информацию о белках-ферментах и гистонах, о последовательности нуклеотидов в различных видах РНК.
2. Среди **функциональных генов** выделяют:
  - **гены-модуляторы**, усиливающие или ослабляющие действие структурных генов (**супрессоры (ингибиторы), активаторы, модификаторы**);
  - гены, регулирующие работу структурных генов (**регуляторы и операторы**).

Все клетки многоклеточного организма, возникая из зиготы путем митоза, получают полноценный набор генетической информации. Несмотря на это, они отличаются друг от друга по морфологии, биохимическим и функциональным свойствам. В основе этих различий лежит активное функционирование в разных клетках неодинаковых частей генома. Большая часть генома находится в клетках организма в неактивном, *репрессированном*, состоянии, и только 7—10% генов *активны*, т. е. транскрибируются. Спектр функционирующих генов зависит от тканевой принадлежности клетки, от

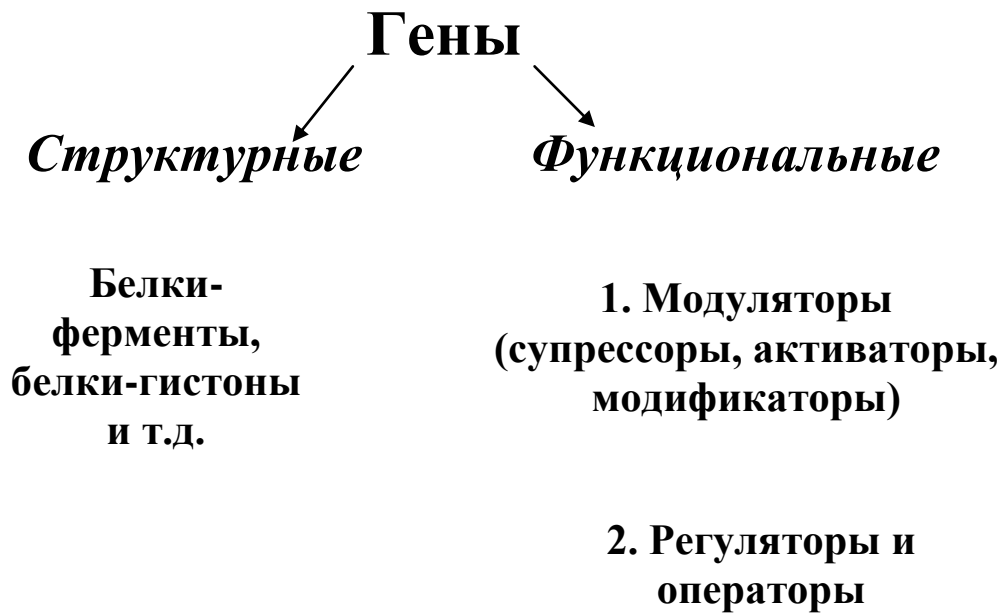


Рис. 4.7. Классификация генов.

периода ее жизненного цикла и стадии индивидуального развития организма.

Основная масса генов, активно функционирующих в большинстве клеток организма на протяжении онтогенеза,— это гены «домашнего хозяйства», которые обеспечивают синтез белков общего назначения (белки рибосом, гистоны, тубулины и т. д.), тРНК и рРНК. Транскрибирование этих генов обеспечивается соединением РНК-полимеразы с их промоторами и, видимо, не подчиняется каким-либо другим регулирующим воздействиям. Такие гены называют **конститутивными**.

Другая группа генов, детерминирующих синтез специфических продуктов, в своем функционировании зависит от различных регулирующих факторов, ее называют **регулируемыми** генами. Они функционируют только в определенных клетках и тканях и называются генами «роскоши». Изменение условий может привести к активации «молчащих» генов и репрессии активных. Дифференцированная экспрессия одного генома у млекопитающих обуславливает развитие огромного множества типов клеток.

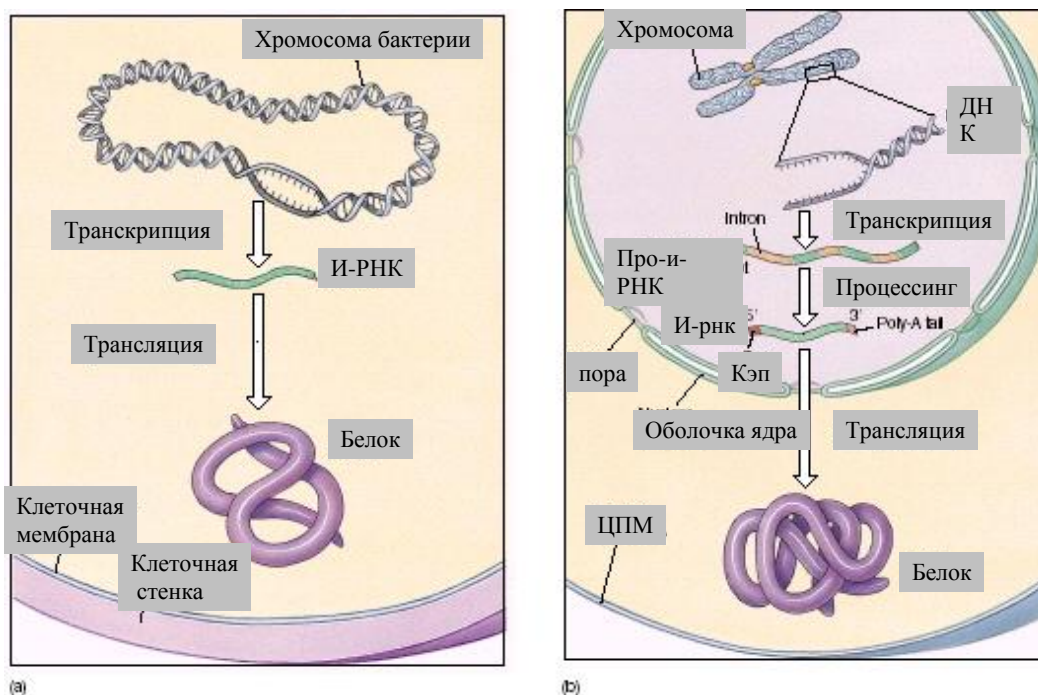


Рис. 5.1 Особенности реализации генетической информации у прокариот и эукариот.



## Глава 5

### ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОЙ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОВ ПРО- И ЭУКАРИОТ. РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У ПРО- И ЭУКАРИОТ. РЕАЛИЗАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ. БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

Наследственность и изменчивость - важнейшие свойства любой живой системы, обеспечиваются функционированием особого материального субстрата. Как же он устроен?

Первые предположения об организации наследственного материала высказал основоположник генетики Г. Мендель. В своей работе “Опыты над растительными гибридами” на основании результатов проведенных экспериментов на горохе он пришел к заключению, что наследственный материал дискретен, т.е. представлен отдельными наследственными задатками, отвечающими за развитие определенных признаков. Понятия «ген» в то время еще не существовало. Только в 1909 году В. Иогансен назвал «наследственные задатки» Менделя генами.

Что же такое ген? Следует сразу оговориться, что до сих пор не существует достаточно полного и всеобъемлющего определения понятия ген, оно эволюционировало вместе с познанием его структуры и функции.

Долгое время ген рассматривали как минимальную часть наследственного материала, обеспечивающую развитие определенного признака, что выражалось формулой **«1 ген—1 признак»**. Это понятие классической генетики XX века. Между тем, какова структура гена, как он функционирует оставалось неясным. В 1945 г. Бидл и Татум установили, что гены отвечают за образование определенных ферментов, которые затем оказывают влияние на развитие тех или иных признаков. Эту гипотезу можно выразить формулой **«1 ген-1 фермент»** или **«1 ген-1 белок»**.

Однако позднее было показано, что многие белки имеют четвертичную структуру, в образовании которой принимают участие разные пептидные цепи. Например, гемоглобин взрослого человека включает 4 глобиновые цепи - 2 альфа и 2 бета, которые кодируются совершенно разными генами. Поэтому формула гена была преобразована: **«1 ген – 1 полипептид»**.

Но в дальнейшем открытие особенностей структурной организации генов показало, что одна и та же последовательность (т.е. ген) может обеспечивать синтез нескольких разных полипептидных цепей с разными функциями. Так, у человека примерно 100.000 белков и всего 30.000 генов, т.е. большинство генов несут информацию о нескольких полипептидах. Стало понятно, что нельзя говорить о гене как об участке генома, кодирующем только 1 полипептидную цепь. Кроме того, в гене

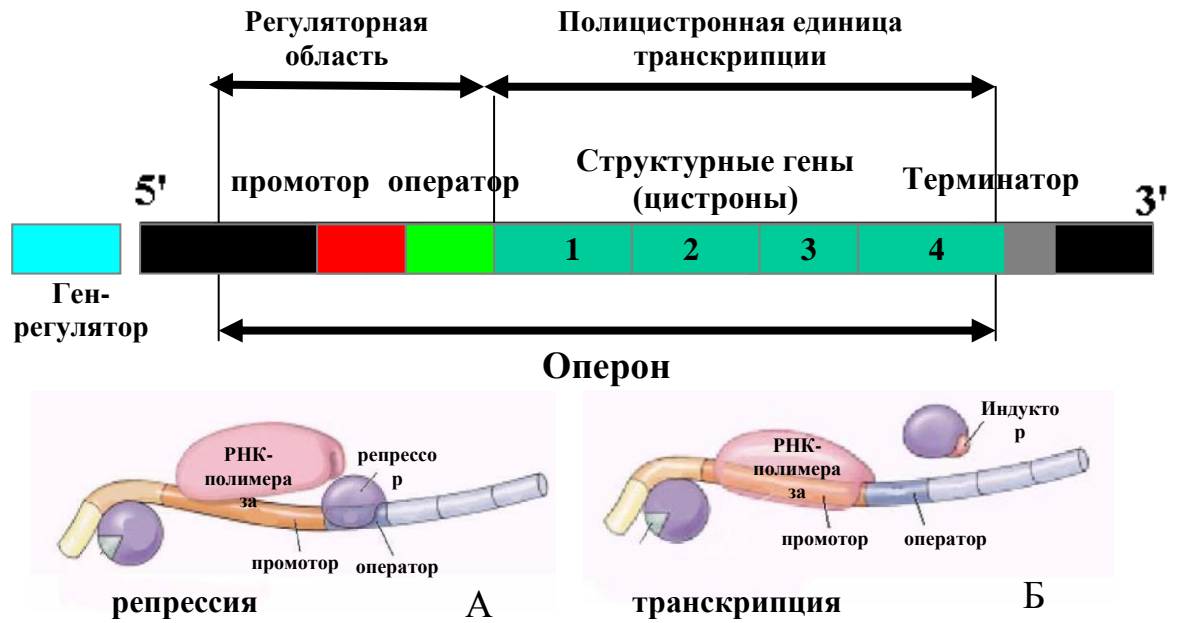


Рис. 5.2. Схема регуляции экспрессии генов у прокариот (А - Белок-репрессор блокирует оператор, Б - Индуктор связывает белок-репрессор. Оператор освобождается. РНК-полимераза осуществляет транскрипцию).

зашифрована информация не только о каком-то белке, но и об РНК (н-р, тРНК). Таким образом, в настоящее время определение гена следующее:

**Ген** – это фрагмент ДНК, ассоциированный с регуляторными элементами и соответствующий одной единице транскрипции, которая определяет возможность синтеза полипептидной цепи или молекулы РНК.

Реализация наследственной информации, заключенной в генотипе организма,— это сложный процесс, который требует тонкой регуляции для того, чтобы в клетках разной тканевой принадлежности в определенное время в процессе развития организма обеспечить синтез специфических белков в необходимом количестве (рис. 5.1). Рассмотрим основные закономерности экспрессии (функционирования) генов.

### Экспрессия генов у прокариот

Рассмотрим классическую схему работы (экспрессии) генов прокариот по принципу обратной связи или негативного контроля (репрессии) на примере лактозного оперона у бактерий (кишечной палочки). Эта схема была предложена французскими учеными Жакобом и Моно в 1961 г. За эту работу, признанную классической, они были удостоены Нобелевской премии.

В состав оперона у прокариот входят промотор, ген-оператор (включает или выключает работу структурных генов), группа регуляторных и структурных генов и терминатор (рис. 5.2.). На некотором расстоянии от оперона находится ген–регулятор, который синтезирует белки 2–х типов. Белок–репрессор блокирует оператор, оперон не работает, белок не синтезируется (рис. 5.2 А). Если в клетку поступает индуктор, то он связывает белок–репрессор. Оператор освобождается, происходит считывание информации с ДНК на мРНК, запускается биосинтез белка (рис. 5.2 Б). Накопление белка (фермента) избыточном количестве приводит к связыванию и разрушению индуктора. Белок–репрессор освобождается, оператор блокируется и работа оперона останавливается.

### Регуляция работы генов у эукариот

Схема регуляции транскрипции у эукариот разработана Г. П. Георгиевым (1972) (рис. 5.3). Принцип регуляции (обратная связь) сохраняется, но механизмы ее более сложные. Единица транскрипции у эукариот называется **транскриптоном**. Он состоит из неинформативной (акцепторной) и информативной (структурной) зон. **Неинформативная зона** начинается с **промотора**, за которым следуют группа **генов-операторов**. **Информативная зона** образована одним структурным геном, разделенным на экзоны (информативные участки) и интроны (неинформативные участки). Заканчивается транскриптон **терминатором**. Т.о. в состав транскриптона входят промотор, гены-операторы,

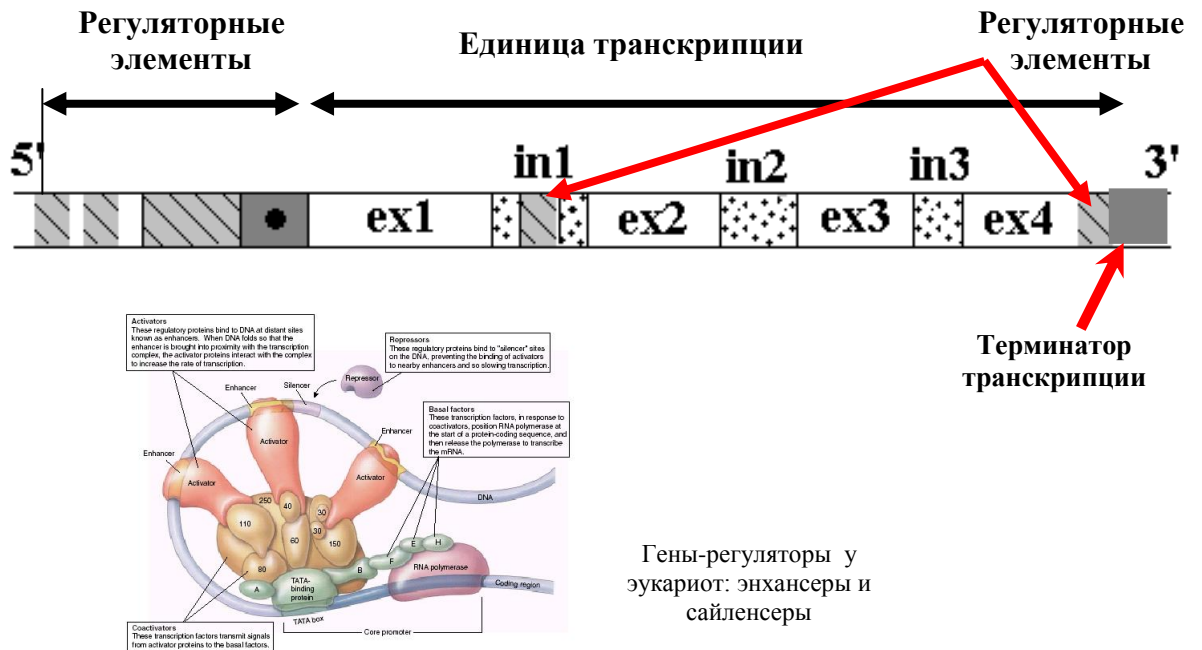


Рис. 5.3. Схема регуляции экспрессии генов у эукариот. Гены эукариот имеют прерывистую структуру (кодирующий фрагмент – экзон, некодирующий фрагмент – интрон) и кодируют только один белок!

структурный ген и терминатор. Работу транскриптона регулирует несколько генов-регуляторов, дающих информацию для синтеза нескольких белков-репрессоров. Индукторами в клетках эукариот являются сложные молекулы (например, гормоны), для расщепления которых требуется несколько ферментов (многоступенчатые реакции).

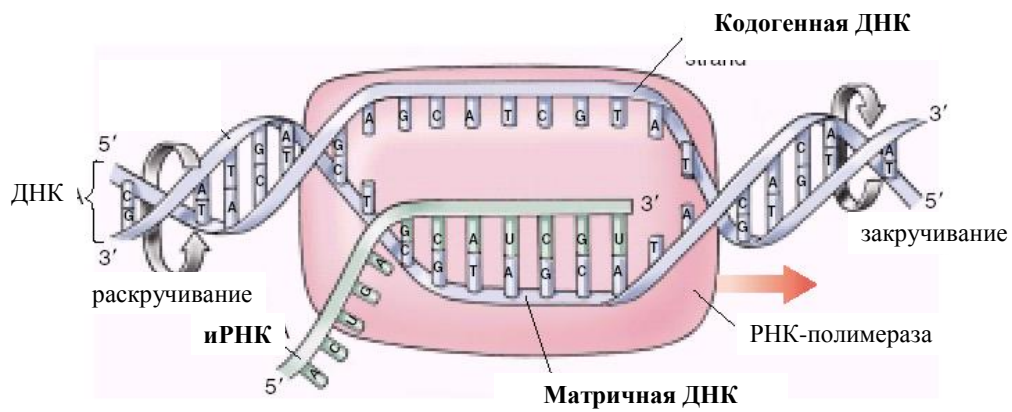
Когда индукторы освобождают гены-операторы от белков-репрессоров, РНК-полимераза разрывает водородные связи между двумя цепочками ДНК транскриптона и по правилу комплементарности на нем сначала синтезируется большая молекула **проинформационной РНК**, списывающая информацию как с информативной, так и с неинформативной зон. В дальнейшем в ядре клетки происходит **процессинг** – разрушение неинформативной части РНК. Молекула иРНК формируется посредством **сплайсинга** (сплавления) отдельных фрагментов ферментами **лигазами**. Далее иРНК выходит из ядра, идет в рибосомы, где и происходит синтез белка-фермента, необходимого для расщепления индукторов. Включение и выключение транскриптона происходит принципиально так же, как и оперона.

Таким образом, по химической организации наследственного материала эукариот и прокариот клетки принципиально не отличаются друг от друга. Генетический материал у них представлен ДНК. Общим для них является генетический код. Принципиально одинаковым образом у про- и эукариот осуществляется использование наследственной информации, хранящейся в ДНК.

### **Реализация генетической информации** **Биосинтез белка**

Одним из центральных процессов метаболизма клетки является синтез белка, т.е. формирование сложной молекулы полипептида из мономеров – аминокислот. Синтезированные в клетке полипептиды либо сами являются полноценными белками, либо входят в состав сложных белков в виде субъединиц. Информация о структуре белков (полипептидов) зашифрована в молекуле ДНК в виде генетического кода (вспомним свойства генетического кода: триплетность, универсальность, специфичность, вырожденность, непрерываемость и неперекрываемость). Как осуществляется перенос этой информации? Какова связь между геном и признаком? Как происходит биосинтез белка?

Весь процесс биосинтеза белка можно представить в виде очень простой схемы, которую необходимо хорошо запомнить. Представление о том, что генетическая информация хранится в клетке в виде молекулы ДНК и реализуется благодаря транскрипции в РНК и последующей трансляции в



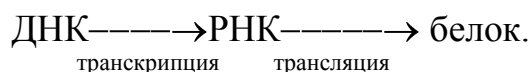
5' TTTCCCAAAGGG 3' ← ДНК – Смысловая (кодогенная) цепь

5' UUUCCCAAAGGG 3' ← мРНК

3' AAAGGGTTTCCC 5' ← ДНК - Антисмысловая цепь (матрица)

Рис. 5.4.Схема синтеза матричной РНК (транскрипция). Матрицей для транскрипции мРНК служит только одна – антисмысловая (матричная) цепь ДНК, ориентированная в направлении 3' - 5'.

белок известно, как «Центральная догма молекулярной биологии», которую можно представить в виде простой формулы:



Как видно, функционирование (экспрессия) генов от ДНК до белка реализуется благодаря двум глобальным молекулярно-генетическим механизмам: транскрипции и трансляции.

Итак, генная информация у всех клеток закодирована в виде последовательности нуклеотидов в ДНК. Первый этап реализации этой информации состоит в образовании РНК по подобию ДНК, который называется транскрипцией.

### **I этап биосинтеза белка – транскрипция**

Транскрипция (рис. 5.4) начинается с обнаружения особого участка гена в молекуле ДНК, который указывает место начала транскрипции - промотора с помощью специального фермента РНК-полимеразы. После присоединения к промотору РНК-полимераза раскручивает прилежащий виток спирали ДНК. Две цепи расходятся и на одной из них фермент осуществляет синтез м-РНК. Сборка рибонуклеотидов в цепь происходит с соблюдением правила комплементарности нуклеотидов. В связи с тем, что РНК-полимераза способна собирать полинуклеотид только в одном направлении, а именно от 5' к 3'-концу, матрицей может служить только та цепь ДНК, которая обращена к ферменту своим 3'-концом. Такую цепь называют матричной или антисмысловой. Другая, антипараллельная цепь ДНК, называется кодогенной или смысловой, т.к. последовательность нуклеотидов этой цепи полностью соответствует последовательности РНК и читается в том же направлении, т.е. от 5' к 3'-концу. Поэтому генетический код иногда пишут по молекуле РНК, иногда – по кодогенной ДНК.

Продвигаясь вдоль цепи ДНК, РНК-полимераза осуществляет последовательное точное переписывание информации до тех пор, пока она не встречает на своем пути STOP-кодон-терминатор транскрипции. У человека три STOP-кодона – TAG, TGA, TAA (или UAG, UGA, UAA).

### **II этап биосинтеза белка – трансляция**

Трансляция (рис.5.5) включает 3 фазы: инициация, элонгация и терминация.

#### **1 фаза - Инициация – фаза начала синтеза полипептида**

- 1) Происходит объединение находящихся порознь в цитоплазме субчастиц рибосомы (большой и малой). Формируется рибосома, в составе которой различают пептидильный и аминоацильный центры.
- 2) Происходит присоединение к рибосоме первой аминоацил т-РНК.

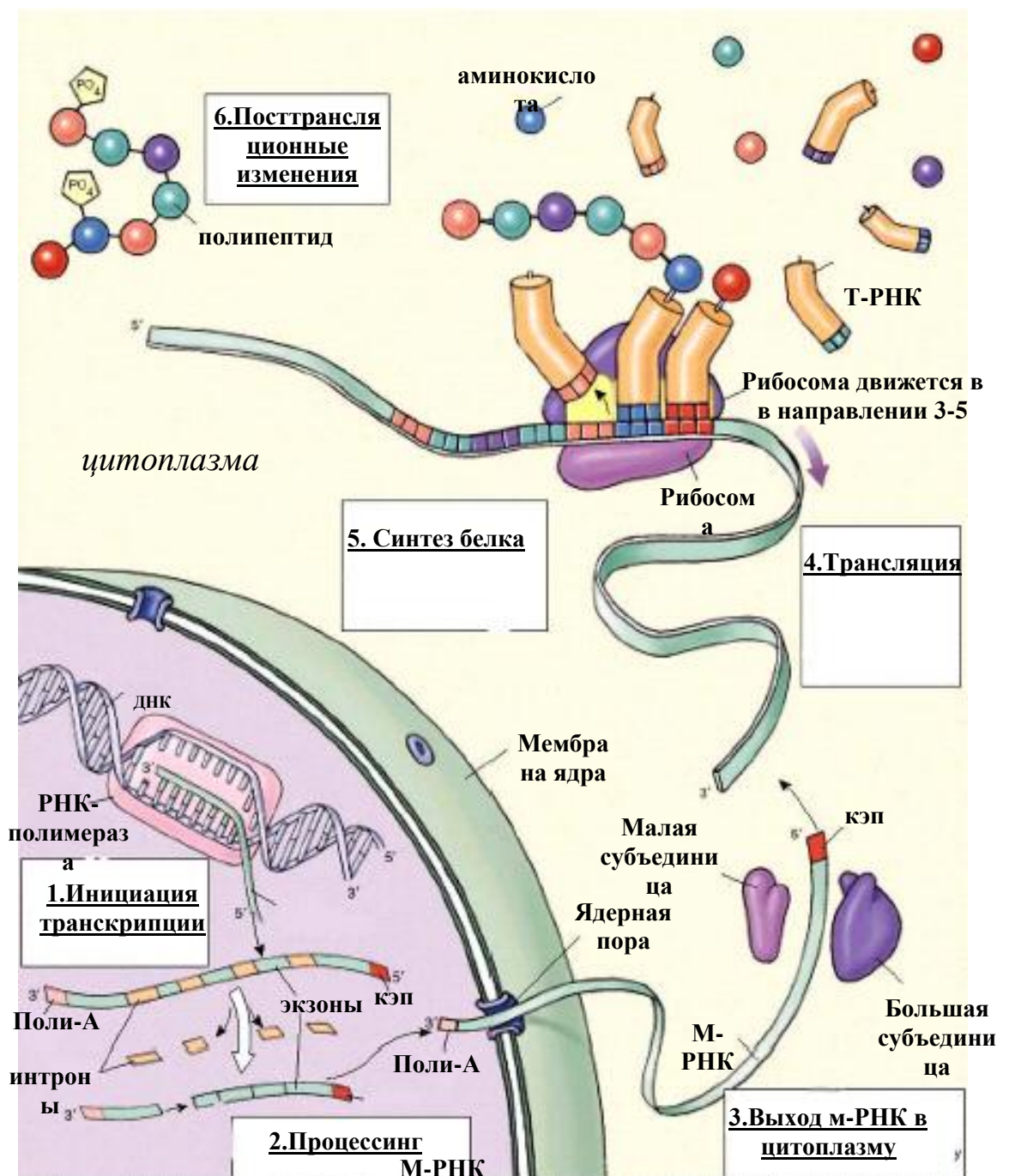


Рис. 5.5. Обобщенная схема процесса экспрессии генетической информации в эукариотической клетке.



Рассмотрим, как же проходят в клетке эти процессы.

1) В молекуле любой мРНК вблизи 5'-конца имеется участок, комплементарный последовательности нуклеотидов рРНК малой субчастицы рибосомы. Рядом с этим участком расположен стартовый кодон АУГ, кодирующий аминокислоту - метионин. Малая субчастица рибосомы соединяется с мРНК. Затем происходит объединение малой субчастицы с большой субчастицей, формируется рибосома. В рибосоме образуются два важных участка – пептидилный центр - П-участок и аминоацильный центр – А-участок. К концу фазы инициации П-участок занят аминоацил т-РНК, связанной со стартовой аминокислотой - метионином, а А-участок готов принять следующий за стартовым кодон.

2) В рибосомы транспортируются молекулы тРНК. Молекулы тРНК состоят из 75–95 нуклеотидов и по форме напоминают лист клена. В своем составе они имеют два активных центра:

1) акцепторный конец, к которому присоединяется транспортируемая аминокислота путем ковалентной связи с затратой энергии 1 АТФ. Формируется аминоацил т-РНК.

2) антикодоновая петля, комплементарная кодону мРНК.

## **2-я фаза элонгация – удлинение полипептида.**

Внутри большой субчастицы рибосомы одновременно находятся около 30 нуклеотидов мРНК и только 2 информативных триплета-кодона: один – в аминоацильном А-участке, другой – в пептидилном П-участке. Молекула тРНК с аминокислотой вначале подходит к А-центру рибосомы. В том случае, если антикодон т-РНК комплементарен кодону мРНК, происходит временное присоединение аминоацил-тРНК к кодону мРНК. После этого рибосома передвигается на 1 кодон по мРНК, а тРНК с аминокислотой перемещается в П-участок. К освободившемуся А-участку приходит новая аминоацил-тРНК с аминокислотой и вновь останавливается там в том случае, если антикодон тРНК комплементарен кодону м-РНК. Между аминокислотой и полипептидом образуется пептидная связь и одновременно разрушается связь между аминокислотой и ее тРНК, а также между тРНК и мРНК. Освободившаяся от аминокислоты тРНК выходит из рибосомы в цитоплазму. Она готова соединиться со следующей аминокислотой. Рибосома снова перемещается на 1 триплет.

## **3 фаза – терминации – завершение синтеза полипептида.**

Когда на рибосоме появляется один из бессмысленных STOP-кодонов, синтез белка прекращается. При этом к последней аминокислоте присоединяется вода и ее карбоксильный конец отделяется от тРНК. В результате пептидная цепь теряет связь с рибосомой, которая распадается на 2 субчастицы.

## ГЛАВА 6. МЕЙОЗ КАК ПРОЦЕСС ФОРМИРОВАНИЯ ГАПЛОИДНЫХ ГАМЕТ. ГАМЕТОГЕНЕЗ. РАЗМНОЖЕНИЕ ОРГАНИЗМОВ КАК МЕХАНИЗМ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЙ СМЕНУ ПОКОЛЕНИЙ. ОСНОВНЫЕ СПОСОБЫ РАЗМНОЖЕНИЯ

### Мейоз

*Мейоз* – это вид деления клеток, при котором из одной диплоидной клетки образуются 4 гаплоидные (рис. 6.1.). Мейоз включает два деления: 1 - редукционное и 2 - эквационное (уравнительное). Мейоз состоит из ряда фаз. Предшествует мейозу интерфаза, в процессе которой происходит синтез ДНК— редупликация хромосом.

*Редукционное деление* начинается с профазы I, которая принципиально отличается от профазы митоза. *Профаза I состоит из ряда стадий: лептотена, зиготена, пахитена, диплотена, диакинез.*

В стадии *лептотены* (тонких нитей) уже хорошо видны отдельные нити очень тонких (слабо спирализованных) и длинных (в 2—5 раз длиннее метафазных) хромосом. Хромосомы в это время состоят из двух хроматид, соединенных общим участком — центромерой. Это говорит о том, что удвоение хромосом, их редупликация, в основном произошла в интерфазе, предшествующей мейозу.

На стадии *зиготены* (стадия конъюгирующих нитей) хромосомы, одинаковые по размеру и морфологии, т. е. гомологичные, притягиваются друг к другу— конъюгируют. Они соединяются друг с другом наподобие застёжки «молния». Такое объединение хромосом-гомологов осуществляется благодаря присущей только мейозу уникальной структуре — синаптонемальному комплексу. Синаптонемальный комплекс обеспечивает тесный контакт между гомологичными сегментами хроматид. Это важное генетическое событие, поскольку конъюгация делает возможным обмен участками между несестринскими хроматидами гомологичных хромосом, приводя к качественному изменению внутренней генетической структуры хромосом. Этот обмен участками между хроматидами гомологичных хромосом получил название «кроссинговер». Каждая пара конъюгирующих гомологичных хромосом образует бивалент. Бивалент, таким образом, состоит из четырех хроматид, поэтому бивалент называют тетрадой.

В следующей стадии—*пахитене* (стадия толстых нитей)—происходит утолщение и укорочение хромосом, главным образом за счет спирализации и конденсации. Хроматиды одной хромосомы—сестринские - хорошо видны. В этой стадии хорошо различима продольная дифференциация хромосом, так что можно идентифицировать каждую хромосому.

В следующей стадии—*диплотене* (стадия двойных нитей) гомологичные хромосомы начинают отталкиваться. Процесс отталкивания начинается в области центромеры и распространяется к концам. В это время

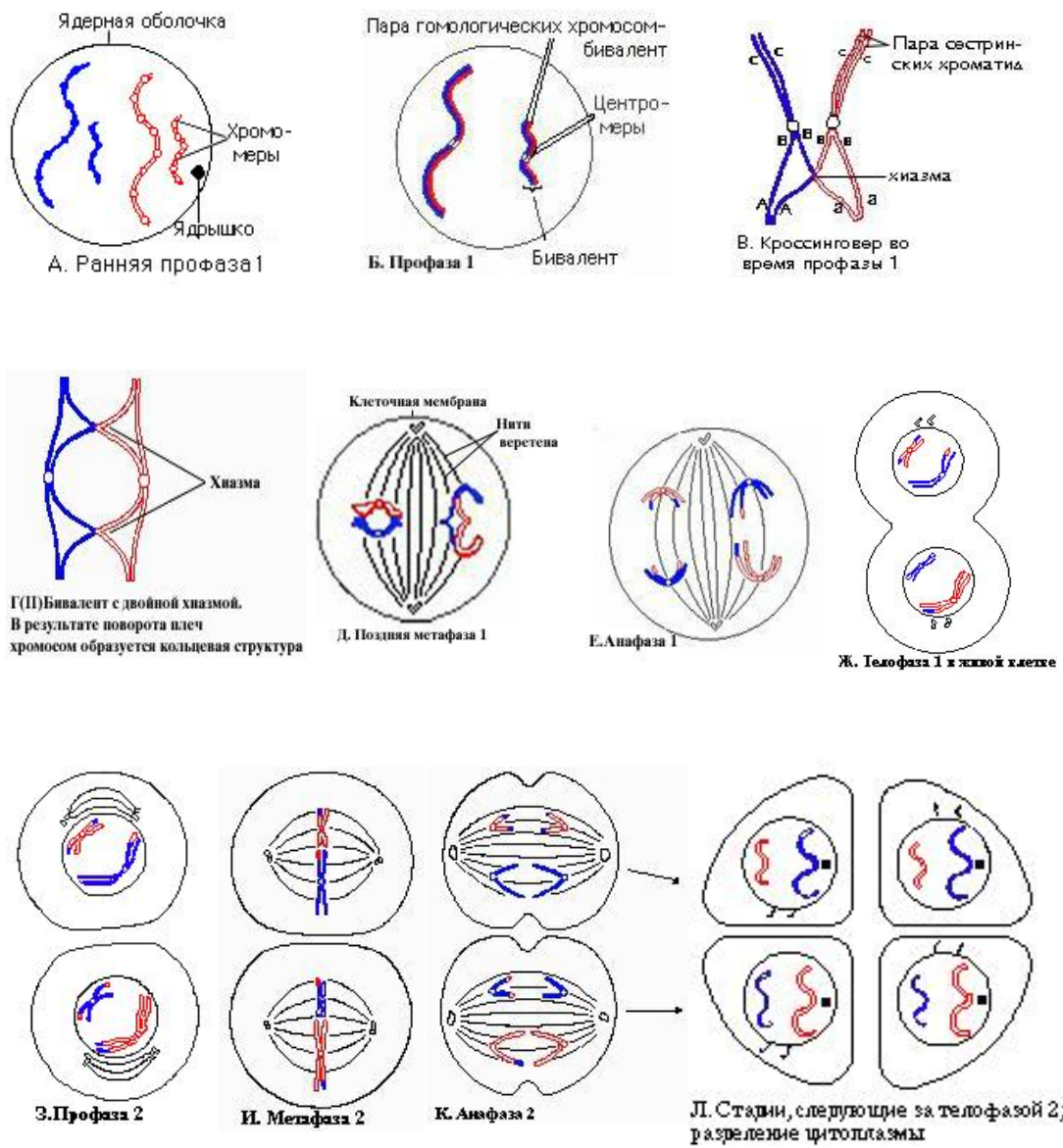


Рис. 6.1. Схема мейотического деления клетки.

хорошо видно, что бивалент состоит из двух хромосом (откуда и название стадии «двойные нити»).

В биваленте обособлены четыре хроматиды, поэтому бивалент называют тетрадой. В это же время становится видно, что тела двух гомологичных хромосом переплетаются. Фигуры перекрещенных хромосом напоминают греческую букву «хи» ( $\chi$ ), поэтому места перекреста называли хиазмами. Наличие хиазм связано с произошедшим кроссинговером. По мере прохождения этой стадии хромосомы как бы раскручиваются, происходит перемещение хиазм от центра к концам хромосом (терминализация хиазм). Это обеспечивает возможность движения хромосом к полюсам в анафазе.

На стадии *диакинеза* (стадия движения вдаль или стадия расхождения нитей) биваленты, которые заполняли весь объем ядра,

начинают перемещаться ближе к ядерной оболочке. К концу диакинеза контакт между хроматидами сохраняется на одном или обоих концах. Исчезновение оболочки ядра и ядрышек, а также окончательное формирование веретена завершают профазу I.

В *метафазе I* биваленты прикреплены в области центромер к нитям веретена, причем центромеры гомологичных хромосом располагаются на противоположных сторонах экваториальной плоскости. Гомологичные хромосомы связаны друг с другом переместившимися к концам хромосом хиазмами. Число бивалентов вдвое меньше, чем число хромосом в соматической клетке организма, т. е. равно гаплоидному числу.

В *анафазе I* к полюсам отходят гомологичные хромосомы из каждого бивалента, т. е. число хромосом у каждого полюса уменьшается вдвое. Центромеры не делятся. В этот редуцированный гаплоидный набор попадает обязательно по одной гомологичной хромосоме из каждого бивалента. Происходит независимая комбинация гомологичных хромосом (отцовские и материнские). В этом принципиальное отличие мейоза от митоза.

*Телофаза I* очень короткая, в процессе ее идет формирование новых ядер. Хромосомы деконденсируются и деспирализуются. Так заканчивается редукционное деление.

*Цитокинез* у многих организмов происходит не сразу после деления ядер, так что в одной клетке лежат два ядра более мелких, чем исходное.

Затем наступает стадия *интеркинеза*, **которая отличается от интерфазы тем, что в ней не происходит синтеза ДНК и дупликации хромосом**. Интеркинез – это промежуточная стадия между редукционным и эквационным делениями мейоза.

Вслед за интеркинезом наступает ***второе деление мейоза— эквационное***. Оно проходит по типу митоза. Эквационное деление состоит из тех же фаз, что и митоз: *профаза II*, *метафаза II* (при рассмотрении пластинки с полюса хорошо видно, что число хромосом в клетке гаплоидное,

а каждая хромосома состоит из двух хроматид), *анафаза II* (хроматиды расходятся к полюсам), *телофаза II* (в каждом ядре—гаплоидное число хромосом, а число ядер в клетке равно четырем). В клетке происходит цитокинез, в результате которого образуются четыре клетки.

Итак, в мейоз I вступает диплоидная клетка с удвоенным набором хромосом. В результате мейоза I образуются две гаплоидные клетки с удвоенными хромосомами. В результате мейоза II образуются четыре гаплоидные, генетически разнородные клетки с одинарными хромосомами.

### **Отличия мейоза от митоза (рис.6.2)**

1. Профаза I деления мейоза в отличие от профазы митоза очень растянута, в ней происходят важные процессы, связанные с конъюгацией гомологичных хромосом и кроссинговером.
2. Функциональной единицей митоза является хроматида, а мейоза – целая хромосома.
3. На протяжении двух делений мейоза имеет место только однократное удвоение ДНК.
4. В итоге митоза образуются клетки с диплоидным набором хромосом и ДНК, а в результате мейоза – с гаплоидным набором хромосом и ДНК.

### **Биологическое значение мейоза**

Мейоз – это механизм, с помощью которого поддерживается постоянство числа хромосом (кариотип) у животных при половом размножении от одного организма к другому. Значение мейоза состоит также в том, что в анафазе I деления мейоза каждая пара хромосом ведет себя независимо от другой пары, в результате чего образуется большое число различных новых комбинаций негомологичных хромосом, т.е. происходит рекомбинация генов на уровне целых хромосом. Благодаря такому механизму достигается большое число новых сочетаний наследственной информации. Оно может быть выражено формулой  $2^n$ , где  $n$  – число хромосом в гаплоидном наборе. Например, у дрозофилы  $n = 4$  и количество типов гамет, обеспечиваемое комбинацией родительских хромосом в них, равно  $2^4 = 16$ . У человека  $n = 23$ , и разнообразие гамет, обусловленное этим механизмом, соответствует  $2^{23}$ , или 8 388 608.

Далее в процессе кроссинговера происходит рекомбинация генетического материала, что создает мощный дополнительный резерв наследственной изменчивости.

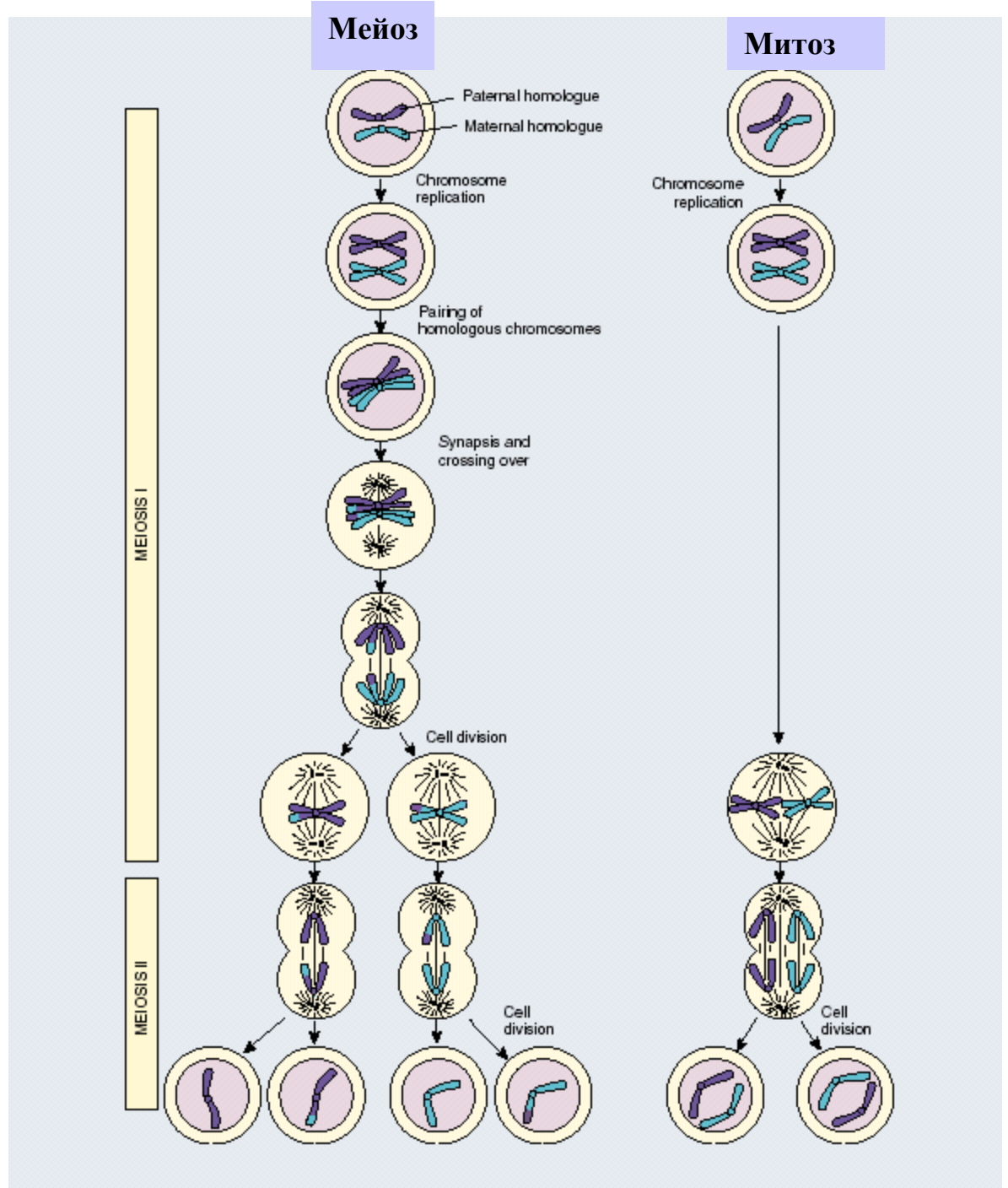


Рис. 6.2. Отличительные особенности митоза и мейоза.

Мейоз лежит в основе образования половых клеток при половом размножении многоклеточных организмов. Развитие гамет происходит в половых железах – гонадах. Формирование мужских половых клеток (сперматозоидов) происходит в семенниках и называется сперматогенезом. Процесс образования женских половых клеток (яйцеклеток) происходит в яичниках и называется овогенезом.

### Сперматогенез

Сперматогенез происходит в мужских половых железах – семенниках (рис. 6.3).

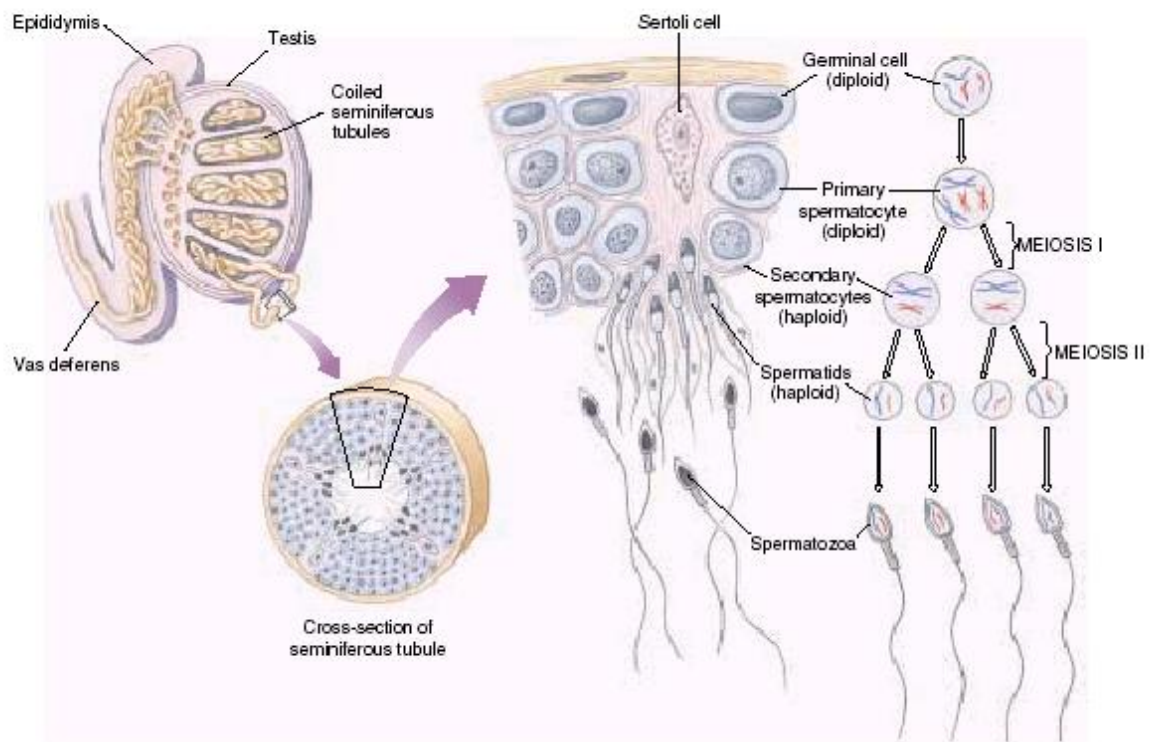


Рис. 6.3. Схема сперматогенеза.

Семенник состоит из многочисленных канальцев. На поперечном разрезе через каналец видно, что его стенка состоит из нескольких слоев клеток, которые представляют собой последовательные стадии развития сперматозоида. Наружный слой – сперматогонии. Сперматогонии развиваются из первичных половых клеток, мигрирующих в семенники на ранних стадиях эмбрионального развития.

Когда животное достигает периода половой зрелости сперматогонии начинают быстро делиться путем митоза. Это **период размножения (I)**

сперматогониев, который продолжается на протяжении всего периода половой зрелости мужской особи. Часть сперматогониев перемещается в следующую зону – зону роста, расположенную ближе к просвету семенного канальца.

В **период роста (II)** происходит увеличение объема цитоплазмы и клеточных размеров. Важным событием этого периода является репликация ДНК. Хромосомы приобретают двунитчатую структуру (набор хромосом  $2n4c$ ) – сперматоциты I порядка.

Следующий период – **период созревания (III)**. Основным событием этого периода является мейоз, включающий два последовательных деления (редукционное и эквационное). В результате редукционного деления образуются сперматоциты II порядка (набор  $n2c$ ), затем – сперматиды (хромосомный набор  $nc$ ). Сперматиды – клетки с гаплоидным набором хромосом.

Процесс сперматогенеза завершается **периодом формирования (IV)**. Сперматиды перемещаются ближе к просвету семенного канальца, меняется их форма, формируются зрелые сперматозоиды – клетки, способные к передвижению, которые выходят в просвет канальца.

Т.о. сперматогенез включает 4 периода: размножение, рост, созревание и формирование. Из одного сперматогония образуется 4 зрелых сперматозоида.

Морфология сперматозоидов. Сперматозоиды – очень маленькие клетки, обладающие способностью к передвижению. Сперматозоид имеет головку, шейку и хвост. На переднем конце головки расположена акросома, состоящего из видоизмененного комплекса Гольджи. В ней содержится фермент для растворения оболочка яйца. Основную массу головки занимает ядро. В шейке находятся центриоль и много митохондрий. От шейки отрастает хвост, представляющий собой жгутик – специализированный органоид для передвижения.

### Овогенез

Процесс развития женских половых клеток (яйцеклеток) называется овогенезом. Овогенез происходит в женских половых органах – яичниках (рис. 6.4). Периоды развития яйцеклеток сопоставимы с Периодами сперматогенеза.

Овогонии развиваются из первичных половых клеток, мигрирующих в яичник на ранней стадии эмбриогенеза. **Период размножения (I)** овогоний у



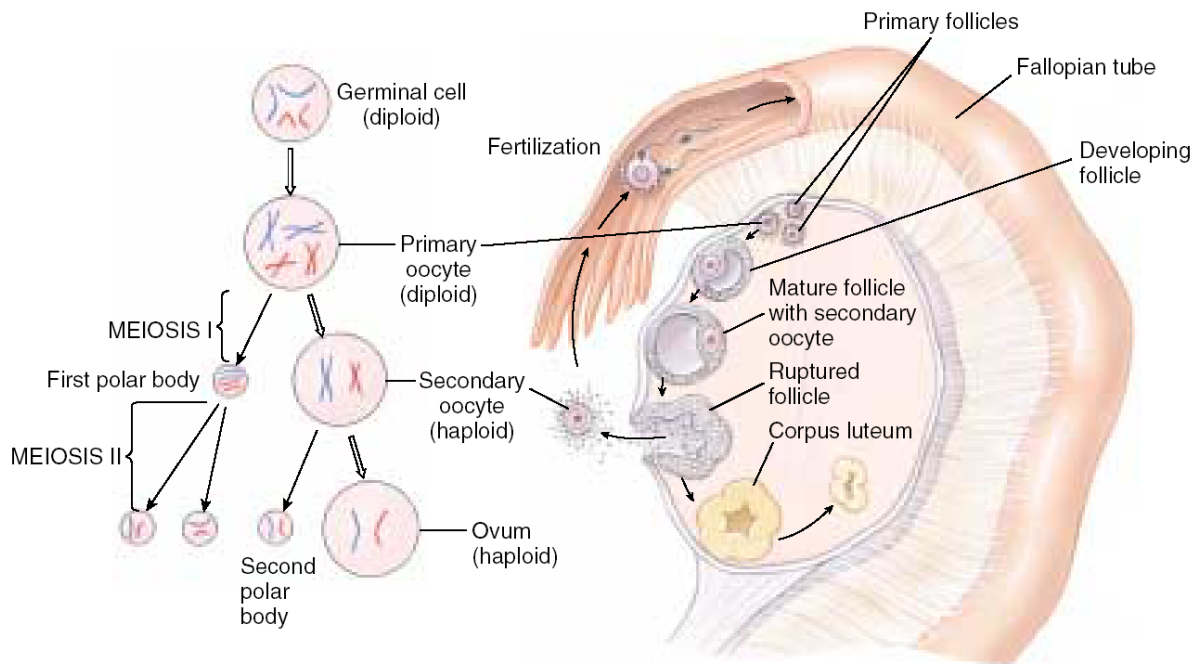


Рис. 6.4. Схема овогенез.

млекопитающих и человека заканчивается еще до рождения. Сформировавшиеся к этому времени овоциты I порядка ( $2n4c$ ) сохраняются в яичнике без изменения многие годы. С наступлением половой зрелости один раз в 28-32 дня один из овоцитов увеличивается в размерах (**период роста (II)**), окружается фолликулярными клетками, обеспечивающими питание.

Наступает **период созревания (III)**. Под влиянием женских половых гормонов овоцит I порядка проходит редукционное деление мейоза. Образуется один овоцит II порядка и одно полярное тельце. Наступает второе мейотическое деление, которое в яичнике проходит до стадии метафазы. На этой стадии овоцит II порядка выходит из яичника в брюшную полость, а оттуда попадает в маточные трубы. Дальнейшее созревание не произойдет до тех пор, пока овоцит не объединится со сперматозоидом, который окажет стимулирующее воздействие. В маточных трубах овоцит II порядка уже после слияния со сперматозоидом завершает 2-е мейотическое деление и превращается в овотиду - зрелую яйцеклетку. Если оплодотворения не произойдет, овоцит II порядка погибает, слизистая матки отторгается и наступает менструация.

Т.о. овогенез включает 3 периода: размножение, рост и созревание. Из одного овоцита I порядка образуется только 1 зрелая яйцеклетка и 3 полярных тельца.

Морфология яйцеклетки. Яйцеклетка неподвижна, имеет шарообразную форму, содержит ядро, цитоплазму, все органоиды. В яйцеклетке содержатся питательные вещества, необходимые для зародыша (желток). По количеству желтка различают 3 типа яйцеклеток (рис. 6.5.): алецитальные (характерны для человека) и олиголецитальные (маложелтковые), мезолецитальные (среднежелтковые), полилецитальные (многожелтковые). По расположению желтка яйцеклетки бывают изолецитальными (желтка немного, он распределен

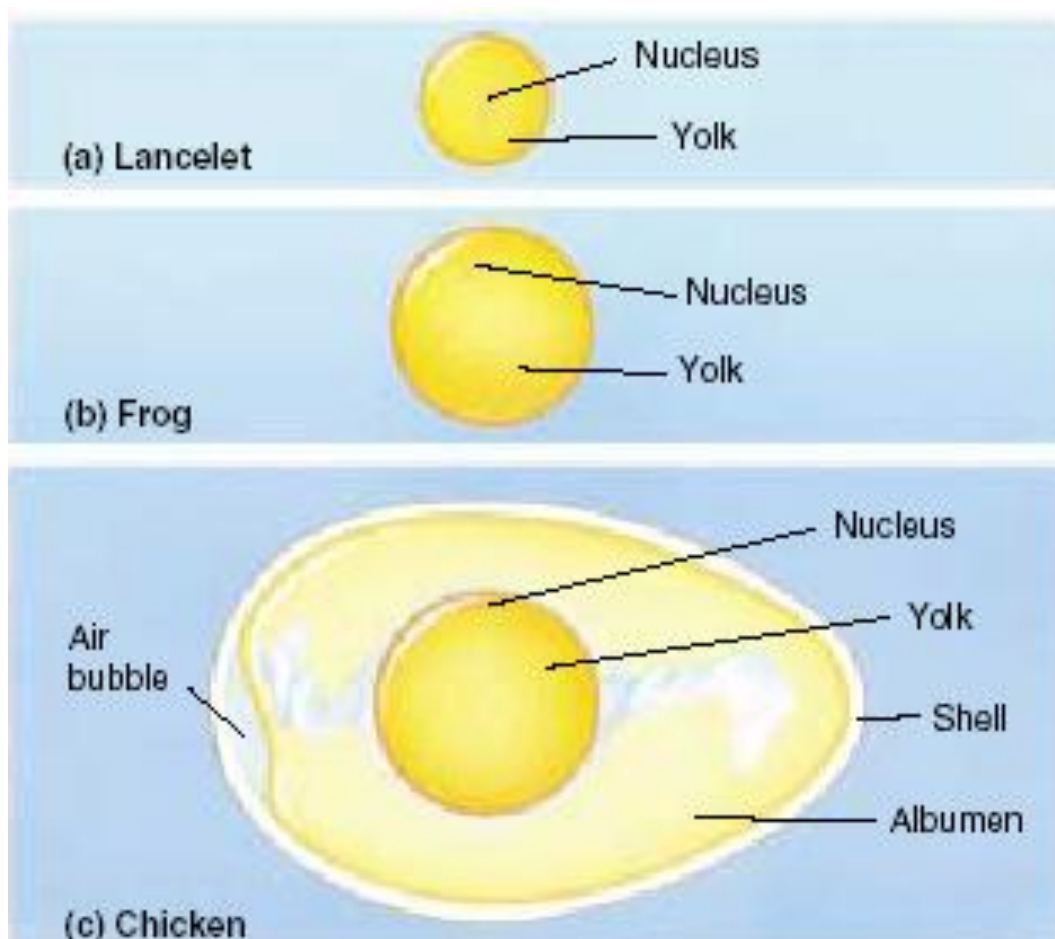


Рис. 6.5. Типы яйцеклеток.

равномерно, такой тип характерен для низших хордовых, иглокожих, млекопитающих), телолецитальными (желтка много, он сосредоточен на одном из полюсов, характерен для птиц, земноводных, рептилий) и центролецитальными (желток находится в центре клетки вокруг ядра, встречается у насекомых).

В овогенезе яйцеклетки приобретают полярность: формируются вегетативный и анимальный полюса, возникает различие состава участков цитоплазмы. Это явление называется овоплазматической сегрегацией.

### **Основные виды размножения. Половое и бесполое размножение**

Размножение или репродукция – одно из основных свойств живого. Размножение подразумевает способность организмов производить себе подобных особей. В конечном итоге существование любого вида организмов поддерживается размножением. Известны две основные формы размножения – половое и бесполое.

При *бесполом* размножении (рис. 6.7) организм возникает из соматических клеток и источником изменчивости могут быть случайные мутации. Бесполое размножение широко распространено среди растений, простейших и некоторых многоклеточных. Основные формы бесполого размножения – деление на два и множественное деление (шизогония).

*Деление на два сопровождается митозом*, в результате образуются две идентичные особи. Такой тип деления распространен у простейших, встречается у амёб, эвглени зеленой.

При *множественном делении (шизогонии)* ядро исходной клетки несколько раз делится митозом, и только потом происходит деление цитоплазмы. Шизогония встречается у малярийного плазмодия.

При *почковании* новая особь образуется в виде выроста (почки) на родительской особи, а затем отделяется от нее, превращаясь в самостоятельный организм, идентичный родительскому. Почкование характерно для дрожжей, кишечнополостных.

*Фрагментация* – это способ размножения фрагментами. Происходит при делении особи на 2 или больше частей, каждая из которых образует новую особь. С фрагментацией связана регенерация, т.е. способность восстанавливать целостный организм. Фрагментация встречается у плоских червей, морских звезд.

**I Деление клетки надвое:**

*1. Деление прокариот (не митоз!).*

*2. Митоз у одноклеточных эукариот (простейшие).*

**II Множественное деление:**

*3. Шизогония – множественное деление (малярийный плазмодий).*

**III Неравномерное деление:**

*4. Размножение спорами (мхи, грибы, папоротники).*

*5. Фрагментация морские звезды, кишечнополостные).*

*6. Почкование (дрожжи, гидра).*

*7. Вегетативное размножение (у растений – клубни, луковицы, усы, стебли и т.д.).*

*8. Полиэмбриония (человек и др.)*

*9. Клонирование.*

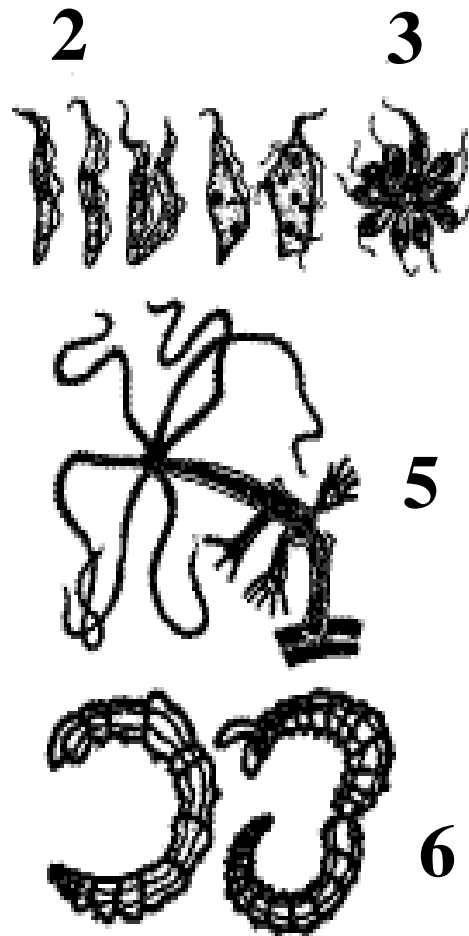


Рис. 6.7. Формы бесполого размножения

**Спорообразование.** Спора – одна из стадий жизненного цикла, служащая для размножения. Спора состоит из клетки с ядром и цитоплазмой, покрытой оболочкой. Споры гаплоидны. Они способны разноситься на дальние расстояния, имеют приспособления для полета и для защиты от неблагоприятных условий. Спорообразование характерно для водорослей, грибов, папоротников, мхов.

При *вегетативном размножении* от растения отделяется часть, способная развиваться в самостоятельное растение. Для вегетативного размножения могут служить специальные образования, имеющие запас питательных веществ: клубни (картофель), луковицы (лук, тюльпан), корни (ландыш, малина), усы (земляника). Для искусственного вегетативного размножения используют черенки (части стебля), отводки (ветки пригибают к земле и на них образуются корни – у малины, крыжовника), деление кустов (смородина, земляника), корневые отпрыски (малина), прививки.

У организмов, размножающихся бесполом путем, новое поколение появляется из неспециализированных клеток тела. В основе их самовоспроизведения лежит митоз, обеспечивающий постоянство наследственного материала не только в ряду клеточных поколений, но и организмов.

Примером бесполого размножения у многоклеточных является *полиэмбриония* (например, рождение однояйцевых близнецов у человека – в результате одного оплодотворения появляется 2 или более организмов).

### Половое размножение

Хотя в процессе развития жизни бесполое размножение возникло первым, половое размножение существует на Земле более 3 млрд. лет. **Половое размножение** характеризуется наличием полового процесса, при котором происходит слияние гаплоидных (т.е. с одинарным набором хромосом) половых клеток (гамет). Гаметы образуются в результате особого вида деления клеток – мейоза.

Половой процесс встречается у *одноклеточных* по типу конъюгации и копуляции. *Конъюгация* происходит у инфузорий при неблагоприятных условиях (рис. 6.8). Инфузории имеют 2 ядра: макронуклеус и микронуклеус. При конъюгации инфузории сближаются, между ними образуется цитоплазматический мостик. Макронуклеус, обеспечивающий обменные

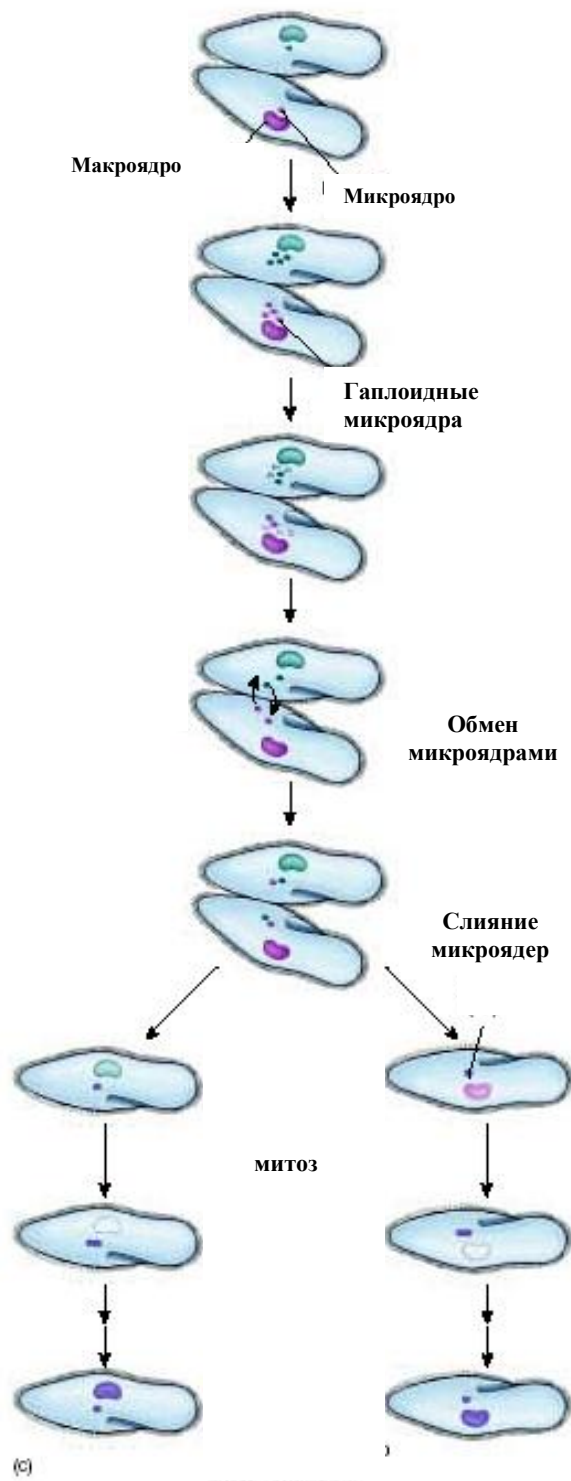


Рис. 6.8. Конъюгация у инфузорий.

процессы, растворяется. Микронуклеус делится мейозом, в результате чего образуется 2 ядра с гаплоидными наборами хромосом (стационарное и мигрирующее). Мигрирующие ядра переходят через цитоплазматический мостик в цитоплазму партнера. Затем стационарное ядро 1 сливается с мигрирующим ядром 2, образуя, так называемый, синкарион. В синкарионе содержится диплоидный набор хромосом. После ряда сложных перестроек из синкариона формируются обычные микронуклеус и макронуклеус. После конъюгации инфузории расходятся, но, благодаря обмену ядрами, наследственная информация каждой особи изменяется, что приводит к появлению новых комбинаций и свойств.

*Копуляция* – это половой процесс у одноклеточных организмов, при котором две особи приобретают половые различия, т.е. превращаются в гаплоидные гаметы, и полностью сливаются, образуя диплоидную зиготу.

В процессе эволюции степень различия гамет нарастает. На I этапе различия между клетками отсутствуют (изогамия). Так, например, размножается жгутиконосец политома. Дальнейшее усложнение связано с дифференцировкой гамет на крупные и мелкие, т.е. появляется анизогамия (гетерогамия), т.е. неравный брак (например, Вольвокс). Такая форма анизогамии, когда гаметы резко различаются, называется оогамией. У многоклеточных при половом размножении имеет место лишь оогамия.

### **Половое размножение многоклеточных**

Примером полового размножения многоклеточных является *партеногенез* – развитие из гамет без оплодотворения. Партеногенез встречается у дафний, а в неблагоприятных условиях - у пчел.

В классическом варианте половой процесс включает период формирования половых клеток и оплодотворение (см. часть II).

## Глава 7

# ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ ГЕНЕТИКИ. ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ И ИЗМЕНЧИВОСТИ ПРИЗНАКОВ. ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ И ТЕРМИНЫ ГЕНЕТИКИ. ЗАКОНЫ МЕНДЕЛЯ. ГИПОТЕЗА «ЧИСТОТЫ» ГАМЕТ. ДИГИБРИДНОЕ СКРЕЩИВАНИЕ И ТРЕТИЙ ЗАКОН МЕНДЕЛЯ. ВИДЫ

Генетика изучает закономерности наследственности и изменчивости - два основных свойства живой материи всех организмов. Термин «генетика» был предложен в 1906 г. (Бэтсон). В 1909 г. появились понятия «ген», «генотип», «фенотип» (Иогансен).

История развития генетики включает два основных периода: I – доменделевский и менделевский.

### Доменделевский период

- 1) Гиппократ писал «О семени и природе ребенка». Значение работы – истоки эмбриологии. Выдвинул впервые предположение о наследственной предрасположенности к гемофилии и эпилепсии.
- 2) Платон – предлагал подбирать супружеские пары – истоки «евгеники».
- 3) Адамс, врач-педиатр (1756-1818). Автор работы: «Трактат о предполагаемых свойствах наследственных болезней» - своеобразный справочник для медико-генетического консультирования.
- 4) Ф. Гальтон (1883). Дарвина. Изучал наследование таланта и характера. Является родоначальником евгеники. Дал определение евгенике, как науке об улучшении потомства. Писал о преимуществе одаренной расы над менее одаренной.
- 5) Флоренский писал о совершенствовании и вырождении человеческого рода (1881). Он указал на вред кровнородственных браков и пользу смешения наций.
- 6) Левенгук обнаружил сперматозоиды (считалось, что для зародыша главное – мужское начало).

### Менделевский период

- 1) В 1865 году на заседании общества любителей естествознания в городе Брно (Чехия) он сделал сообщение о своих исследованиях. В 1866 году в работе «Опыты над растительными гибридами», ставшей впоследствии классической, Мендель описал результаты своих экспериментов. Но в то время его работа не привлекла внимания современников.



- 2) Лишь в 1900 г., спустя 34 года, те же закономерности вновь установили независимо друг от друга Ги Де Фриз в Голландии, Корренс в Германии и Чермак в Англии. Вскоре, было показано, что закономерности, открытые Менделем, свойственны всем организмам, растениям и животным. Поэтому 1900 год можно считать годом второго рождения генетики.

Условно можно выделить следующие этапы Менделевского периода развития генетики:

I этап (1900-1920) – подтверждение законов Менделя на разных объектах. Биохимик Гаррольд писал о распространенности алкаптонурии и изучил химические особенности. Значение: а) продемонстрировал действие законов Менделя (Менделеские болезни, менделирующие признаки).

Б) впервые на химическом уровне показал блок гена.

2 этап (1920-1940). Создание хромосомной теории наследственности Морганом и его учениками (Бриджес, Меллер, Стертвант). Заложены основы популяционной генетики (з-н Харди-Вайнберга).

3 этап (1940-1960). Развитие биохимической генетики, молекулярной генетики. 1944 г. Мак-Карти: ДНК – химический субстрат наследственности. Бидл, Татум – «один ген – один фермент»

1953 г. Дж.Уотсон и Ф.Крик – модель ДНК – двунитчатая спираль. Еще раз доказали, что ДНК – субстрат наследственности и изменчивости.

Крик, Бреннер – генетический код.

4 этап (1960-1970) – развитие клинической цитогенетики. Денверская и Парижская классификация хромосом. Цитогенетические основы синдрома Дауна и Клайнфельтера).

5 этап (1980-2003) – развитие молекулярной генетики. Совокупная длина ДНК в соматической клетке – 2 метра.

1980 – ПЦР.

1991 – программа «Геном человека». Секвенирование всего генома человека предложено Уотсоном.

6 этап – с 2003 г. – функциональная геномика, протеомика.

### **Основные понятия и термины современной генетики**

Наследственность – это свойство живых систем передавать из поколения в поколение особенности морфологии, физиологии и индивидуального

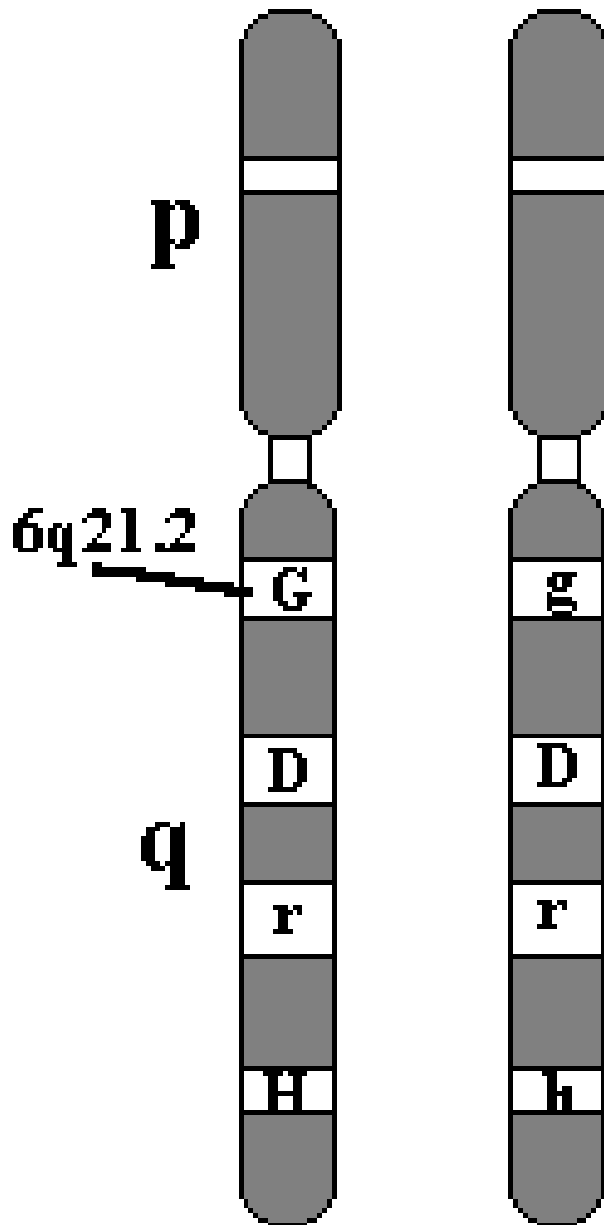


Рис. 7.1. Локализация генов в хромосоме (Аллели: G и g локуса–гетерозиготное состояние по гену, локализованному в локусе 6q21.1: 6 пара гомологичных хромосом, длинное плечо, 2 сегмент, 1 субсегмент ).

развития в определенных условиях среды. свойство организмов повторять в ряду поколений сходные признаки. Благодаря наследственности родители и потомки имеют сходство в химическом составе тканей, характере обмена веществ, морфологических признаках и других особенностях. Вследствие этого каждый вид организмов воспроизводит себе подобных из поколения в поколение. Материальными носителями наследственности информации являются гены.

*Ген* - это участок молекулы ДНК, ассоциированный с регуляторными элементами и соответствующий одной единице транскрипции ( один полипептид или один белок). Ген - это функциональная единица наследственности, определяющая развитие какого-либо признака.

*Геном* - совокупность всех генов гаплоидного набора хромосом данного вида особей.

• *Генотип* - совокупность всех генов диплоидного набора хромосом.

• *Фенотип* – внешнее проявление генотипа, реализация генотипа в определенных условиях среды.

Гены находятся в хромосомах (рис. 7.1).

*Гомологичные хромосомы*- это хромосомы одинакового размера и морфологии, которые состоят из одних тех же генов, при этом одна из пары гомологичных хромосом является отцовской, другая- материнской.

*Локус* – термин, обозначающий местоположение конкретного гена в хромосоме. Оно постоянно для каждого гена.

• *Аллель* – это варианты одного и того же гена, обусловленные изменениями нуклеотидных последовательностей (м.б. одинаковыми или разными - альтернативными).

• *Гомозигота* - диплоид, содержащий одинаковые аллели данного гена в идентичных локусах гомологичных хромосом (н-р: DD, AA, rr, aa).

• *Гетерозигота*- диплоид, содержащий разные аллели данного гена в идентичных локусах гомологичных хромосом (н-р: Gg, Aa).

• *Доминантный аллель* определяет признак, проявляющийся как в гомо-, так и в гетерозиготном состоянии.

• *Рецессивный аллель* определяет признак, проявляющийся только в гомозиготном состоянии

*Альтернативные аллели* - разные состояния одного и того же гена (например, аллель А или аллель а).

*Одинаковые аллели* – одинаковые формы гена.

Основные закономерности свойств и признаков в поколениях были открыты Г.Менделем в опытах на горохе. Горох – самоопыляемое растение. В своих опытах Мендель использовал гибридологический метод (скрещивал особей с различными генотипами).

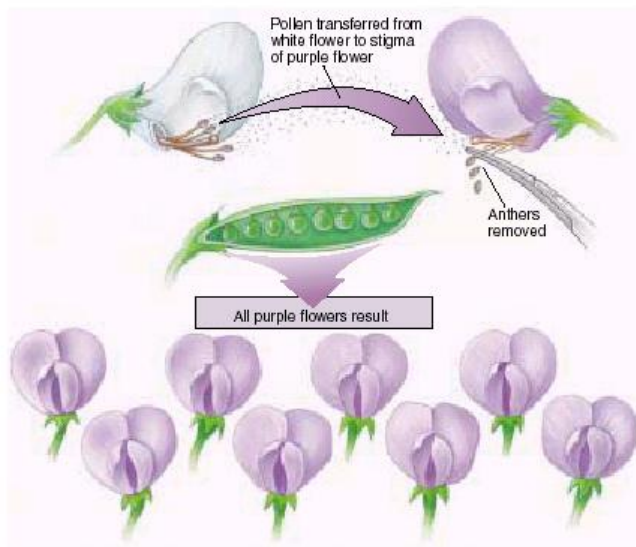


Рис. 7.2. I закон Менделя – единообразие гибридов I поколения, правило доминирования.

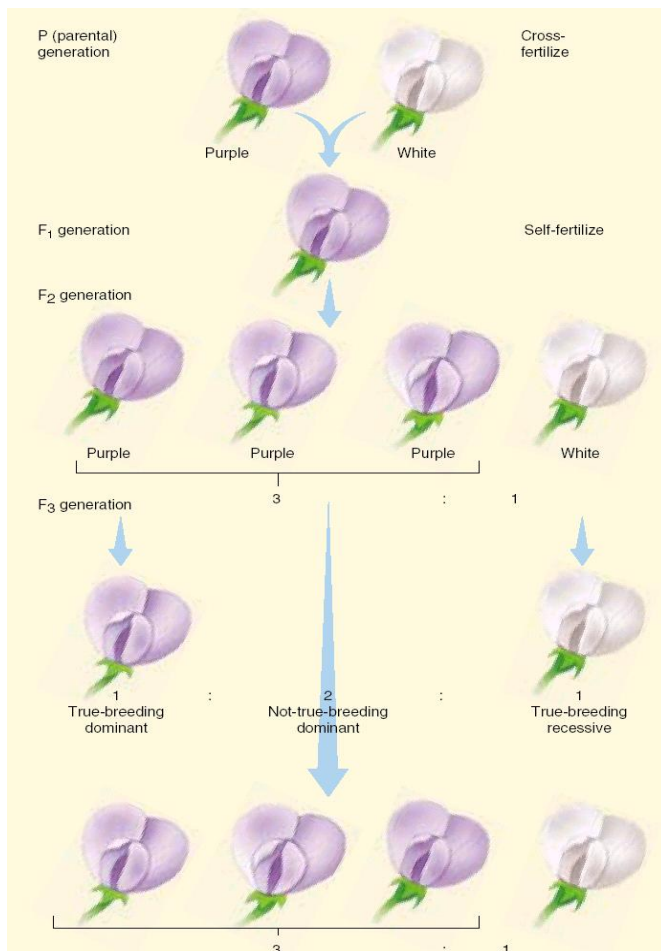


Рис. 7.3. II закон Менделя – закон расщепления.

*Гибридизация* – это скрещивание особей с различными генотипами.

*Моногибридное скрещивание* – скрещивание особей, различающихся по 1 паре альтернативных признаков.

Дигибридное - по двум парам.

Полигибридное – по многим парам.

### **Особенности гибридологического метода, использованные Менделем.**

1) Все эксперименты Мендель начинал только с чистыми линиями.

Чистые линии - это особи, не дающие расщепления по изучаемым признакам, и имеющие только один тип гамет. Примером чистых линий являются особи с генотипами по изучаемым признакам AA; BB; aaBB; AAвв; аавв

2) Мендель изучал наследование по отдельным признакам, а не по всему комплексу генов. Так, чистые линии гороха при моногибридном скрещивании отличались только по цвету (желтый и зеленый), при дигибридном – по двум признакам – по цвету и форме и т.д.

3) Мендель проводил точный количественный учет наследования каждого признака в ряду поколений.

4) Изучал характер потомства каждого гибрида в отдельности.

*I закон Менделя – закон единообразия гибридов I поколения, правило доминирования (рис.7.2).*

***При скрещивании гомозиготных особей, анализируемых по одной паре альтернативных признаков, наблюдается единообразие гибридов I поколения.***

(Единообразие обусловлено доминированием аллеля А над аллелем а).

Затем Мендель скрестил гибридов I поколения между собой.

*II закон Менделя – закон расщепления (рис.7.3).*

***При скрещивании гибридов I поколения во втором поколении наблюдается расщепление в соотношении 3:1 (по генотипу 1 : 2 : 1).***

Особи, содержащие хотя бы один доминантный ген А, имели желтую окраску семян (явление доминирования), а оба рецессивных гена (aa) - зеленую. То есть появились формы, свойственные прародителям.

Впоследствии, в 1902 г., после открытия мейоза, Бэтсон для объяснения II закона Менделя предложил цитологическое обоснование и

**гипотезу «чистоты» гамет:**

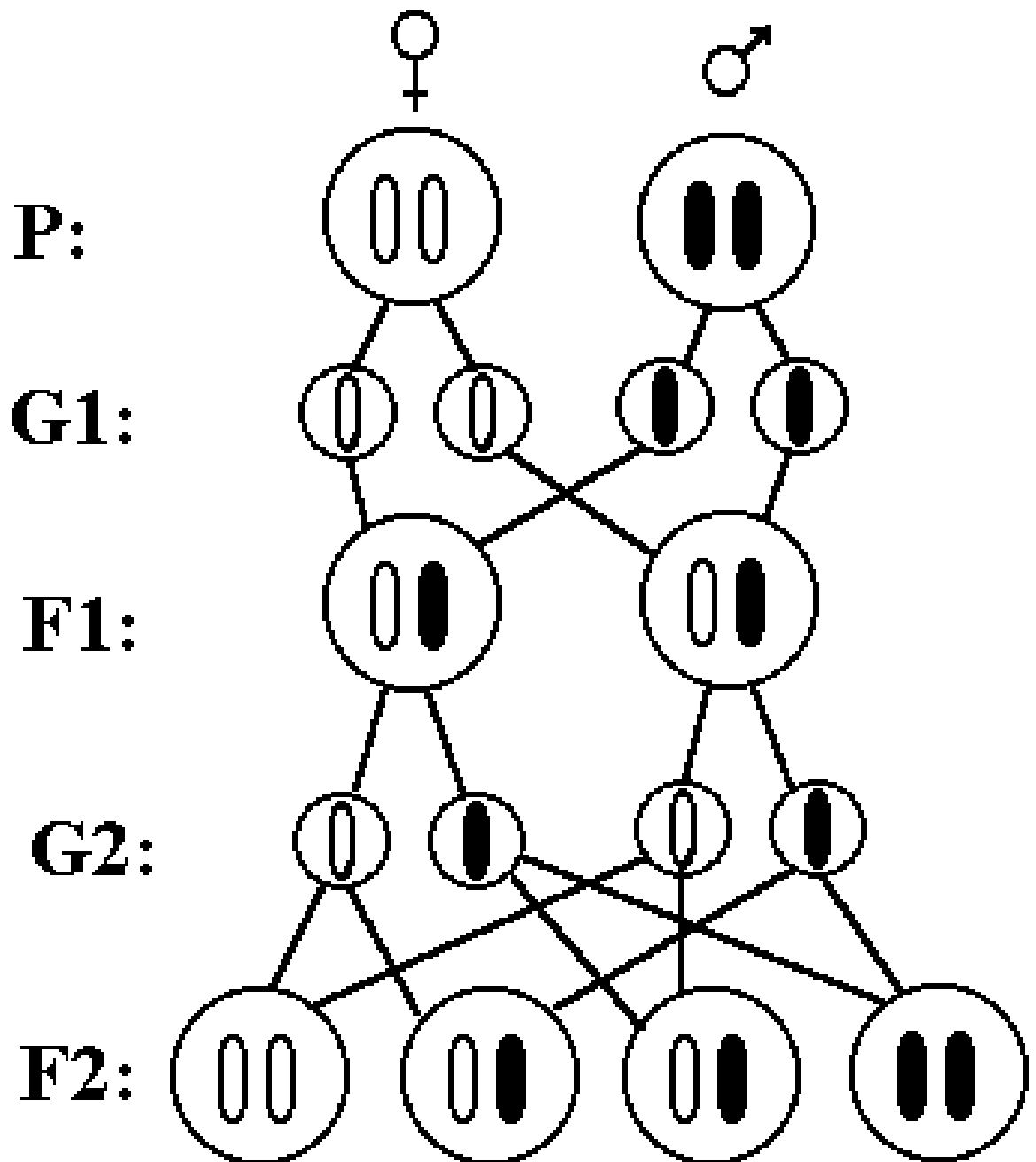


Рис. 7.4. Цитологические основы законов Менделя. Гипотеза «чистоты» гамет (Бэтсон, 1902 г.).

«Аллельные гены в гетерозиготном состоянии не изменяют друг друга, не смешиваются. В гамете может быть лишь один из пары аллельных генов, поэтому гаметы остаются «чистыми»».

***Аллельные гены в гетерозиготном состоянии не изменяют друг друга, не смешиваются. В гамете может быть лишь один из пары аллельных генов, поэтому гаметы остаются «чистыми» (рис.7.4).***

\*Гамета чиста, т.к. в ней находится только одна хромосома.

\*Вследствие независимого расхождения гомологичных хромосом и хроматид в мейозе из каждой пары аллелей в гамету попадает только один ген.

\*Аллельные гены находятся в гетерозиготном состоянии.

\*При оплодотворении гаметы, несущие доминантный и рецессивный признаки, свободно и независимо комбинируются.

Для объяснения результатов скрещивания, проведённого Менделем, Бэтсон в 1902 г. предложил, так называемую, гипотезу «чистоты гамет».

Изучив наследование 1 пары аллелей, Мендель решил проследить наследование 2-х признаков одновременно. Для этого он использовал гомозиготные растения гороха, различающиеся по 2-м парам альтернативных признаков: цвету (жёлтые и зелёные) и форме (гладкие и морщинистые). В результате в 1 поколении он получил все растения с жёлтыми гладкими семенами, т.е. было показано, что закон единообразия гибридов 1 поколения проявляется и при полигибридном скрещивании.

Затем он опять скрестил гибриды 1 поколения между собой. В потомстве оказалось:

<b>9 частей - жёлтые гладкие</b>	<b>- генотип А_В_</b>
<b>3 части - жёлтые морщинистые</b>	<b>- генотип А_вв</b>
<b>3 части - зелёные гладкие</b>	<b>-генотип аа В_</b>
<b>1 часть - зелёные морщинистые</b>	<b>- генотип аавв</b>

Этот радикал служит основой для всех видов расщепления и взаимодействия аллелей. Его нужно хорошо запомнить.

Отсюда вытекает

***III закон Менделя – закон независимого наследования и комбинирования. (рис.7.5).***

***При скрещивании гомозиготных организмов, анализируемых по двум (или более) парам альтернативных признаков, во 2-ом поколении наблюдается независимое наследование и комбинирование признаков.***

Мендель обнаружил, что признаки цвета и формы наследуются независимо друг от друга, а именно: В поколении F<sub>2</sub>: желтых семян - (9+3=12); зеленых (3+1=4); т.е. 12:4=3:1. Такое же распределение наблюдалось по форме семян: гладких - (9+3=12); морщинистых - (3+1=4). 12:4=3:1. Т.е., и по цвету, и по форме соотношение сохраняется таким же, как и при обычном моногибридном скрещивании.

Независимое комбинирование признаков проявляется в том, что оба признака могут сочетаться в зиготе независимо друг от друга: 9:3:3:1 –

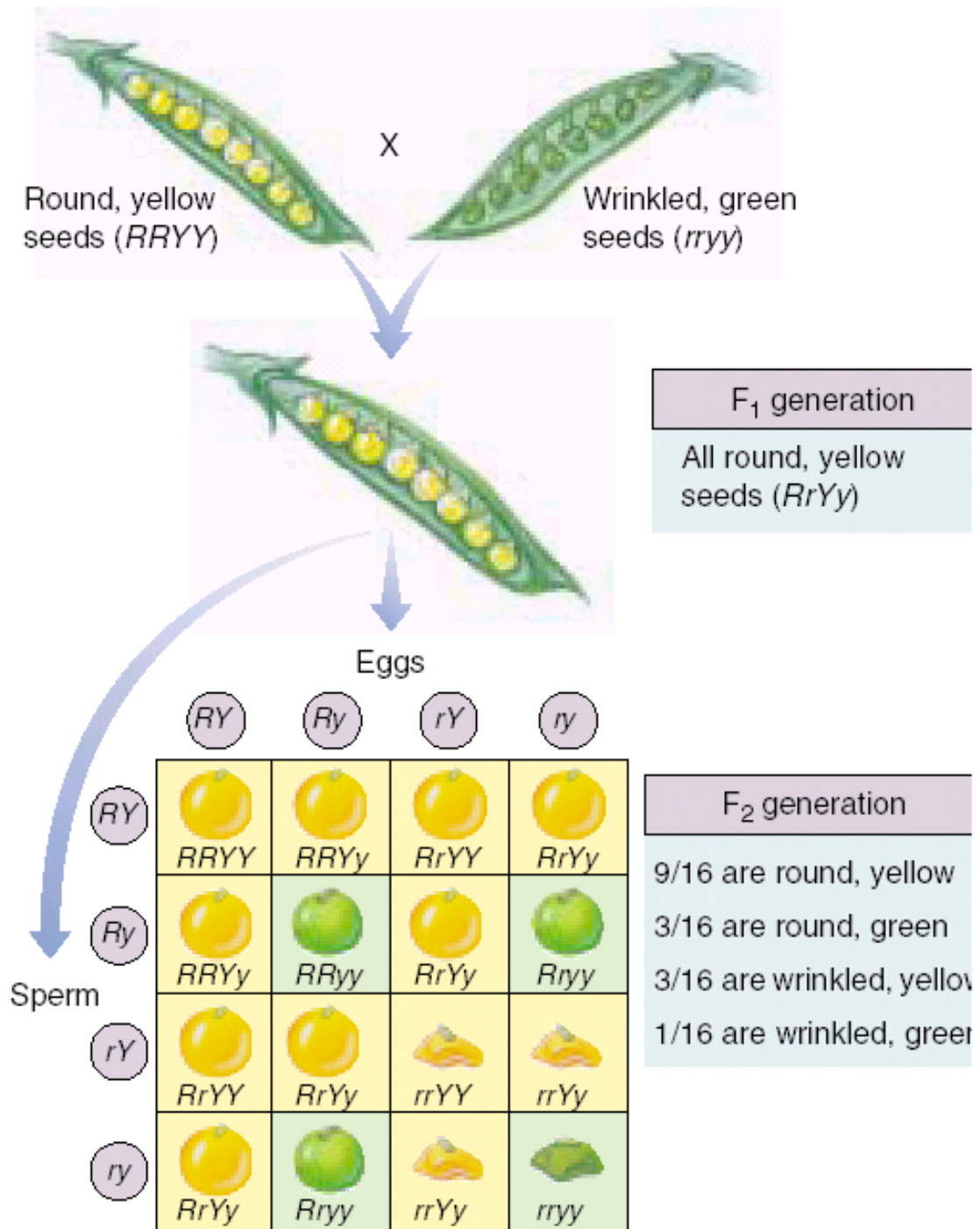


Рис. 7.5. III закон Менделя – закон независимого наследования и комбинирования признаков.



- 9 – оба признака доминантные  
 3 – один признак доминантный  
 3 – другой признак доминантный  
 1 – оба признака рецессивные

Точный количественный учёт признаков позволил Менделю выявить статистические закономерности при полигибридном скрещивании:

1. Количество возможных гамет равно  $2^n$ , где  $n$  – количество гетерозигот. Например: по 3-м признакам генотип ААВвСс

Т.к.  $n = 2$  ( гетерозиготы Вв и Сс ), то количество гамет  $2^2 = 4$ .

При моногибридном скрещивании: АА  $n = 0$  ( гетерозигот нет).  $2^0 = 1$  (Один тип гамет А).

АаввссДДКК  $n = 1$                       Аа  $n = 1$

$2^1 = 2$ . Получаем два типа гамет (А и а).

2. Число возможных зигот равно  $2^{n1} * 2^{n2}$ , где  $n1$  - число гетерозигот у первого родителя,  $n2$  – у второго.

3. При скрещивании гетерозиготных особей, отличающихся по нескольким параметрам альтернативных признаков, в потомстве наблюдается расщепление по фенотипу  $(3+1)^n$ , где  $n$  – число анализируемых признаков.

При дигибридном скрещивании  $(3+1)^2 = 9+3+3+1$ .

На основе своих экспериментов Мендель впервые показал:

- 1) наследственные задатки – дискретные единицы
- 2) за каждый признак отвечает не один, а пара наследственных задатков.
- 3) В этой паре один из генов является доминантным, другой – рецессивным.
- 4) Наследственные задатки у потомков могут наследоваться и комбинироваться независимо друг от друга.

Оказалось, что не все признаки подчиняются законам Менделя. Поэтому было предложено понятие менделирующих признаков, т.е. подчиняющихся законам Менделя. У человека более 1000 известных признаков наследуются по законам Менделя (голубые и карие глаза; цвет кожи; веснушки; преобладающая рука; абсолютный музыкальный слух ( дом.+ , рец.-); волосы (курчавые волосы доминируют над прямыми волосами); группы крови; моногенные наследственные болезни) и т.д.

### **Анализирующее скрещивание**

На практике для установления генотипа родительской особи, проявляющей доминантные признаки (которая может быть как гомо-, так и гетерозиготой), её скрещивают с рецессивной формой. Если от такого

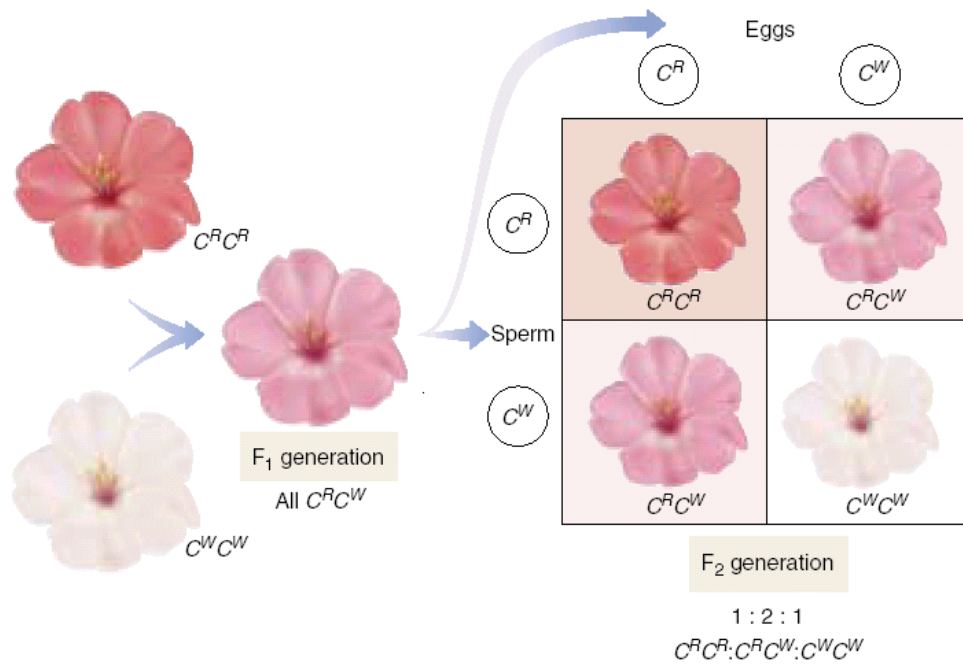


Рис. 7.6.Схема скрещивания при неполном доминировании.

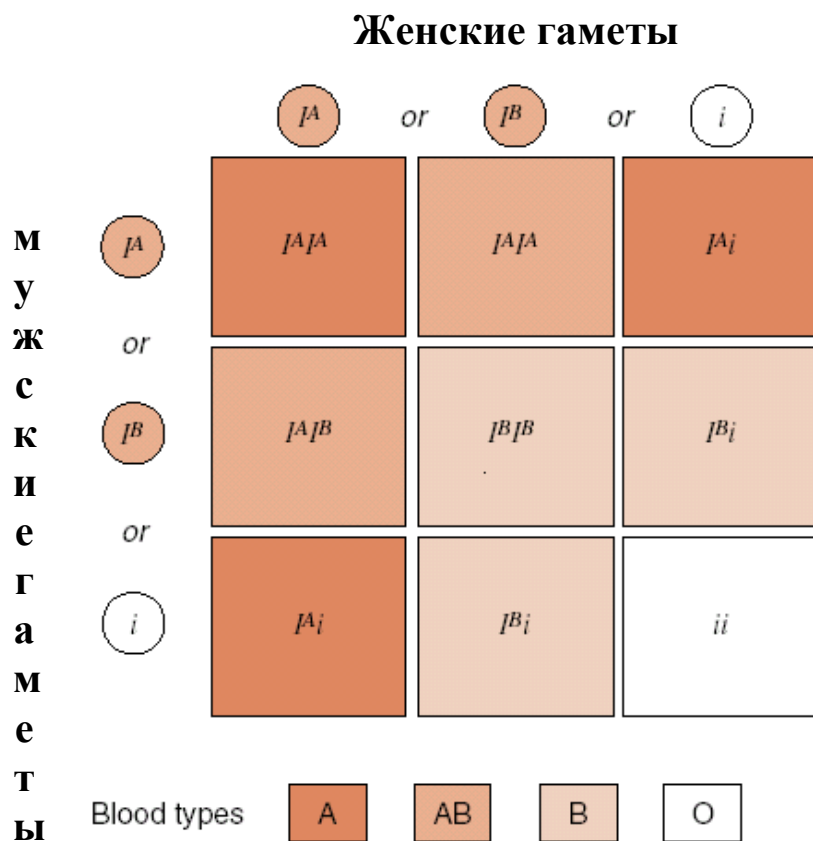


Рис. 7.7. Наследование групп крови системы ABO.

скрещивания все потомство окажется однородным, значит анализируемая особь гомозиготна (единообразие гибридов 1 поколения), если произойдет расщепление, то она гетерозиготна.

(Пример: мужчина купил чёрного американского дога и захотел выяснить, чистопородный ли он?)

Если при скрещивании с рецес. геном все чёрные – пес чистопородный (в потомстве Аа), если появится расщепление 1:1 (Аа и аа = 50%:50%) – не чистопородный).

Причиной отклонения от законов Менделя являются *летальные гены*.

(АА –чёрные - гибнут, Аа –чёрные, аа – серые). В результате гибели эмбрионов с генотипом АА в родившемся потомстве будет расщепление по фенотипу не 3:1, а 2:1.

Но наиболее частой причиной отклонения от законов Менделя является взаимодействие аллелей генов. Различают взаимодействие аллелей одинаковых генов и разных генов.

### **Взаимодействие аллелей одинаковых генов**

1. *Полное доминирование:  $A > a$*  – когда доминантный аллель полностью подавляет действие рецессивного аллеля (выполняются законы Менделя). При этом гомозиготы по доминантному признаку и гетерозиготы фенотипически не отличимы (жёлтый горох).

2. *Неполное доминирование  $AA = Aa = aa$*  – доминантный аллель не полностью подавляет рецессивный аллель (рис.7.6).

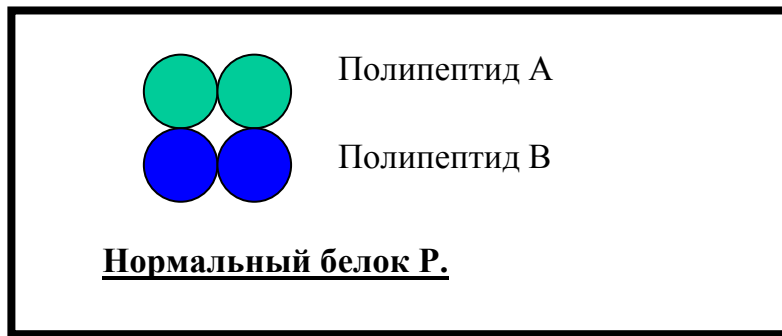
В случае неполного доминирования расщепление по генотипу 1 : 2 : 1 совпадает с расщеплением по фенотипу 1 : 2 : 1 ( красн., розов., белый ).

3. *Сверхдоминирование.  $AA < Aa$*

Доминантный аллель в гетерозиготном состоянии проявляет себя сильнее, чем в гомозиготном. Например : АА – мухи менее плодовиты и живучи, чем Аа. (рецессивная летальная мутация у мух, явление гетерозиса у растений).

### **Множественные аллели**

Часто в гене может образовываться несколько разных аллелей. Они возникают вследствие мутаций разных участков в пределах одного гена. Но в генотипе одного диплоидного организма могут находиться только 2 аллеля из серии множественных аллелей ( т.к. гомологичных хромосом две, например: аллель 1 сочетается с аллелем 4, и т.д.



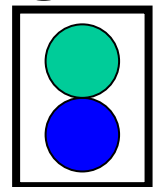
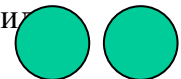
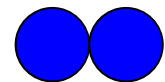
D1 – мутация полипептида А белка Р.

D2 – мутация полипептида В белка Р.

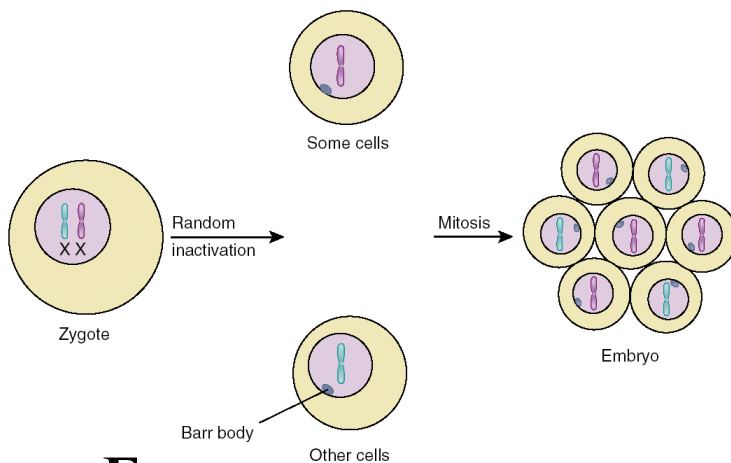
Генотип D1D1 – полипептида А нет, белок Р не полноценный

Генотип D2D2 – полипептида В нет, белок Р не полноценный

Генотип D1D2 – имеется по половинной дозе обоих полипептидов, белок нормальный.



**А**



**Б**

Рис. 7.8. Взаимодействие аллелей ( А.- Межаллельная комплементация, Б. - Аллельное исключение).

## Основные закономерности множественного аллелизма

1. Множественные аллели возникают в результате разных мутаций одного гена.
2. В одном генотипе из всех серий множественных аллелей могут быть представлены только два аллеля.
3. Множественные аллели могут взаимодействовать.
4. Множественные аллели могут мутировать в прямом и обратном направлениях.

Примером множественных аллелей у человека могут быть аллели, ответственные за развитие групп крови системы АВО (рис.7.7). Группы крови у человека определяются по наличию на поверхности эритроцитов определённых антигенов. Гены групп крови принято обозначать буквой I.

(см. таблицу «Наследование групп крови системы АВО»):

аллель  $I^0$  – на поверхности эритроцитов нет антигенов

аллель  $I^A$  – антиген А

аллель  $I^B$  – антиген В.

При сочетаниях  $I^0I^0$  – формируется I группа крови

$I^AI^0$  или  $I^AI^A$  – II группа крови

$I^BI^0$  или  $I^BI^B$  – III группа

**$I^AI^B$  – IV группа крови**

На этом примере мы видим явление кодоминирования.

### 4. Кодоминирование $A1+A2=C$

Оба аллеля (доминантные) равнозначны и в сочетании создают новый признак. Классический пример – 4 группа крови у человека .

5. Межаллельная комплементация (рис.7.8 А) – относится к достаточно редко встречающимся способом взаимодействия аллелей. В этом случае у организма формируется нормальный признак при наличии в генотипе двух мутантных аллелей. Рассмотрим пример:

d1d1- мутация полипептида А – неполноценный белок.

d2d2 – мутация полипептида В – неполноценный белок.

Но! при генотипе d1d2 будут синтезироваться оба полипептида и нормальный белок.

### 6. Аллельное исключение (рис.7.8 Б).

Когда в разных клетках у одной особи проявляются разные аллели. Например, при инактивизации одной из аллелей X-хромосомы у женщин на некоторых участках кожи отсутствуют потовые железы. Это участки с активной мутантной X-хромосомой:  $X^*x$  - отсутствие потовых желез,  $x^*X$  – норма.

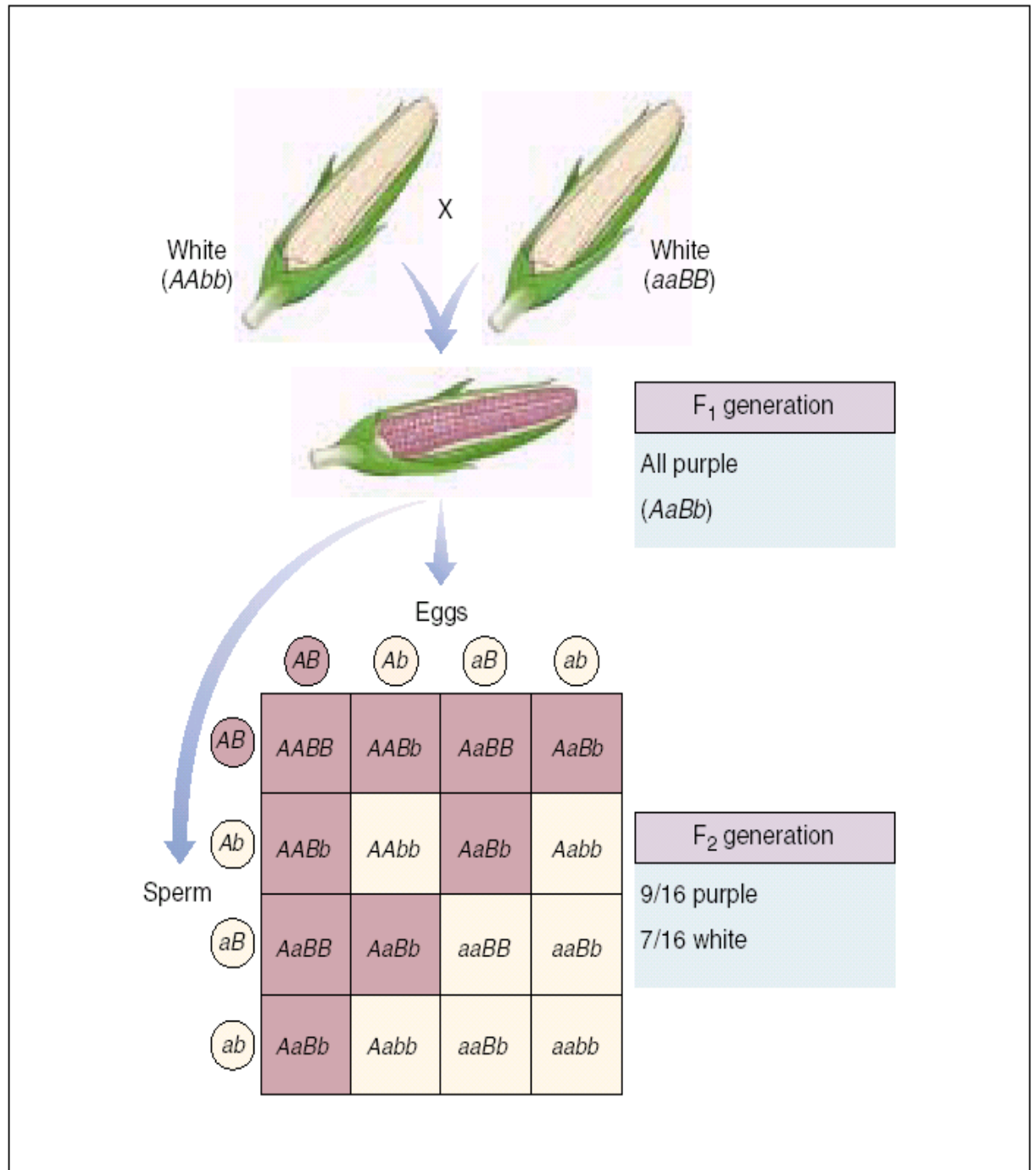


Рис. 7.9. Комплементарное взаимодействие аллелей.

Формирование сложных признаков предполагает необходимость взаимодействия аллелей разных генов, занимающих разные локусы (могут быть в разных хромосомах).

### Виды взаимодействия аллелей разных генов

Различают три основных вида такого взаимодействия:

1. Комплементарность.
2. Эпистаз.
3. Полимерия.

**Комплементарность** – такой вид взаимодействия доминантных аллелей разных генов, когда признак проявляется при одновременном присутствии в генотипе двух доминантных аллелей) (рис. 7.9.).

Чёрный цвет - СС, белый цвет - АА, СА - серые мыши.

Душистый горошек – пурпурный цвет А + В

У человека: Д – развитие улитки,

Е - развитие слух. нерва.

Д\_еe - глухие

ddE\_ - глухие

ddee - глухие

D\_E\_ - нормальный слух.

**Эпистаз** – это вид взаимодействия аллелей разных генов, при котором один аллель (может быть как доминантным, так и рецессивным) подавляет другой. В этом случае наличие доминантного аллеля А каким-то образом препятствует проявлению доминантного аллеля В, и признак не формируется. Такое взаимодействие аллелей разных генов принято называть эпистатическим. При доминантном эпистазе признак появится только при отсутствии аллеля А, при рецессивном – при отсутствии генотипа аа.

Примером эпистатического взаимодействия аллелей может быть подавление у многих видов развития окраски покровов, определяемое одним из аллелей, при наличии в генотипе другого аллеля в доминантном состоянии. Так, у тыквы доминантный аллель В определяет желтую, а рецессивный – зеленую окраску. Однако окраска не развивается вообще, если в генотипе имеется эпистатический аллель А.

Окраска тыквы:

В - жёлтая

vv –зелёная

А – нет окраски

В\_аа – жёлтая

vv аа – зелёная

А\_ - нет окраски.

### **Комплементарность:**

- 9 : 3 : 3 : 1** – окраска шерсти у собак, цвет глаз у дрозофилы,  
 форма гребня у кур  
**9 : 3 : 4** – окраска мышей  
**9 : 6 : 1** – форма плодов у тыквы  
**9 : 7** – окраска кукурузы, слух у человека

### **Эпистаз:**

- 13 : 3** – окраска оперения у кур, Бомбейский феномен  
**12 : 3 : 1** – окраска масти у лошадей, наследование  
 близорукости у человека, окраска плодов тыквы

### **Полимерия :**

- 15 : 1** – с кумулирующим эффектом – рост человека (по 5  
 см на каждый доминантный ген), пигментация кожи

Рис. 7.10. Варианты возможных расщеплений генотипов при различных видах взаимодействия аллелей разных генов.



В данном случае доминантный аллель одного гена (репрессор) подавляет действие доминантного аллеля другого гена.

**Полимерия.** Доминантные аллели разных генов влияют на степень проявления одного и того же признака. По полимерному типу взаимодействия у человека определяется интенсивность окраски кожных покровов, зависящая от уровня меланина. В геноме человека имеются четыре разных гена, отвечающие за этот признак. Их обозначают одной буквой (т.к. отвечают за развитие одного признака), но с разными символами, например, ген P1, ген P2, ген P3, ген P4. Максимальную пигментацию имеют представители негроидной расы, т.к. у них все аллели находятся в доминантном состоянии, формируя генотип P1P1 P2P2 P3P3 P4P4. Минимальная пигментация кожи у европеоидов вследствие отсутствия доминантных аллелей (генотип 1p1 p2p2 p3p3 p4p4). Число доминантных аллелей может варьировать от 0 до 8, что обеспечивает разную интенсивность окраски кожи. Полимерное взаимодействие лежит в основе определения количественных признаков (рост, масса, возможно интеллект).

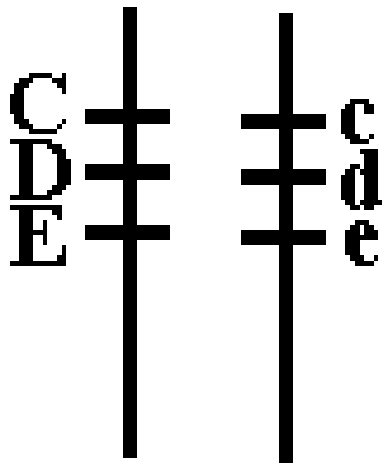
Варианты возможных расщеплений генотипов при всех видах взаимодействия неаллельных генов представлены на рис. 7.10.

Отсутствие необходимых данных о роли первичных продуктов многих генов в формировании сложных признаков часто не позволяет точно установить характер взаимодействия неаллельных локусов, участвующих в биохимических процессах и составляющих основу образования этих признаков. В одних случаях развитие признака при наличии двух аллелей разных генов в доминантном состоянии рассматривают как комплементарное взаимодействие, в других – отсутствие признака, определяемого одним из аллелей при отсутствии другого аллеля в доминантном состоянии, расценивают как рецессивный эпистаз; если же признак развивается при отсутствии доминантного аллеля неаллельного гена, а в его присутствии не развивается, говорят о доминантном эпистазе.

Вероятно, само разделение взаимодействия аллелей на комплементарное и эпистатическое несколько искусственно, ибо во всех этих случаях сложный признак является результатом сочетания в генотипе определенных аллелей соответствующих генов, которые обеспечивают синтез продуктов, участвующих в цепи биохимических преобразований на разных уровнях формирования сложного признака.

**Плейотропное действие гена** – явление, когда один и тот же ген может действовать на различные признаки организма. Например, ген, определяющий рыжий цвет волос, одновременно обуславливает более светлую окраску кожи и появление веснушек.

**Генотип:**  
**CcDdEe**  
**Rh(+)**



**Генотип:**  
**CcDdEe**  
**Rh(-)**

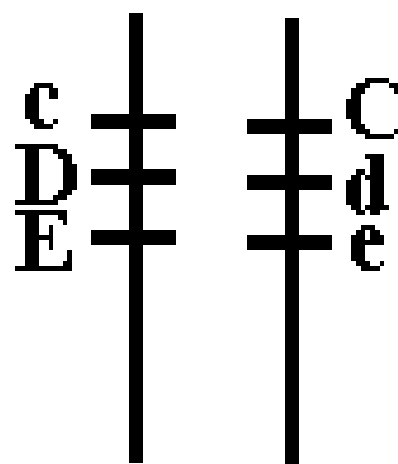


Рис. 7.11. Эффект положения генов.

Особый вид представляет взаимодействие, обусловленное местом положения гена в системе генотипа, — ***эффект положения*** (рис.7.11). Непосредственное окружение, в котором находится ген, может сказываться на характере его экспрессии. Изменение активности гена, наблюдаемое при хромосомных перестройках, нередко связано с перемещением его в другую группу сцепления при транслокациях или изменением его положения в своей хромосоме при инверсиях. Особый случай, очевидно, представляет изменение экспрессии генов в результате деятельности подвижных генетических элементов, активирующих или угнетающих проявление генов, вблизи которых они встраиваются.

Наконец, большое значение в объединении генов в единую систему генотипа имеют *регуляторные взаимодействия*, обеспечивающие регуляцию генной активности. Продукты генов-регуляторов — белки-регуляторы — обладают способностью узнавать определенные последовательности ДНК, соединяться с ними, обеспечивая, таким образом, транскрибирование информации со структурных генов или препятствуя транскрипции.

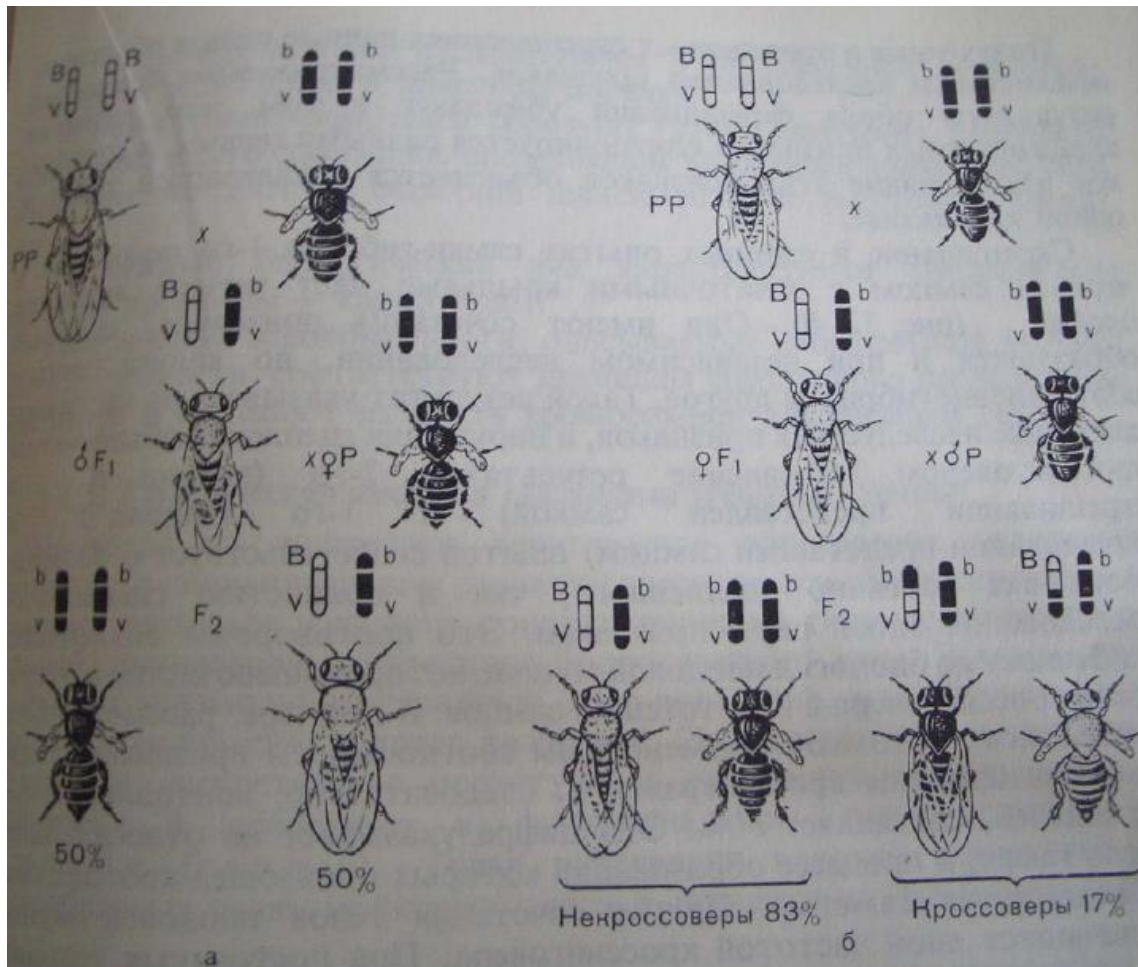


Рис. 8.1. Сцепленное наследование генов окраски тела и состояния крыльев у плодовой мушки (опыты Морган).

## Глава 8

### **СЦЕПЛЕННОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ ГЕНОВ И ПРИЗНАКОВ. КРОССИНГОВЕР КАК МЕХАНИЗМ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ НАРУШЕНИЕ СЦЕПЛЕНИЯ ГЕНОВ. ХРОМОСОМНАЯ ТЕОРИЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КАРТЫ ХРОМОСОМ. НАСЛЕДОВАНИЕ ГЕНОВ, ЛОКАЛИЗОВАННЫХ В ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМАХ. ГЕНЕТИКА ПОЛА**

#### **Сцепленное наследование генов и признаков. Кроссинговер как механизм, определяющий нарушение сцепления генов**

При изучении закономерностей наследования, открытых Менделем, мы подчеркивали, что гены находятся в разных хромосомах и наследуются независимо. Но генов и признаков в организме намного больше, чем число хромосом. Так, у человека 23 пары хромосом, но генов около 30-40 000!!! Следовательно, в каждой хромосоме находится много разных генов. Как же наследуются гены, находящиеся в одной хромосоме?

Закономерности сцепленного наследования генов были изучены в 20-х годах XX в. школой Моргана на мушках дрозофилах. У дрозофилы 8 хромосом (6 аутосом и 2 половые хромосомы: XY – у самцов, XX – у самок).

Морган изучал следующие признаки:

V – серая окраска тела

v – черная окраска тела

V – длинные крылья

v – зачаточные крылья.

При скрещивании гомозиготной доминантной особи с гомозиготной рецессивной особью в первом поколении все гибриды имели одинаковые признаки (единообразие гибридов I поколения), а именно, все мухи были серые с длинными крыльями, что соответствовало законам Менделя. Однако при скрещивании двух гетерозиготных особей Морган наблюдал существенное отклонение от закона Менделя вместо ожидаемого расщепления 3:1 или 1:2:1. Чтобы выяснить причину этого, Морган провел анализирующее скрещивание гетерозиготной особи с рецессивной гомозиготной особью. Согласно законам Менделя в этом случае при независимом наследовании признаков ожидалось получить 4 разных особи с частотой по 25% каждой – расщепление 1:1:1:1. Но, вопреки ожиданию, при скрещивании гетерозиготных самцов дрозофилы с рецессивными

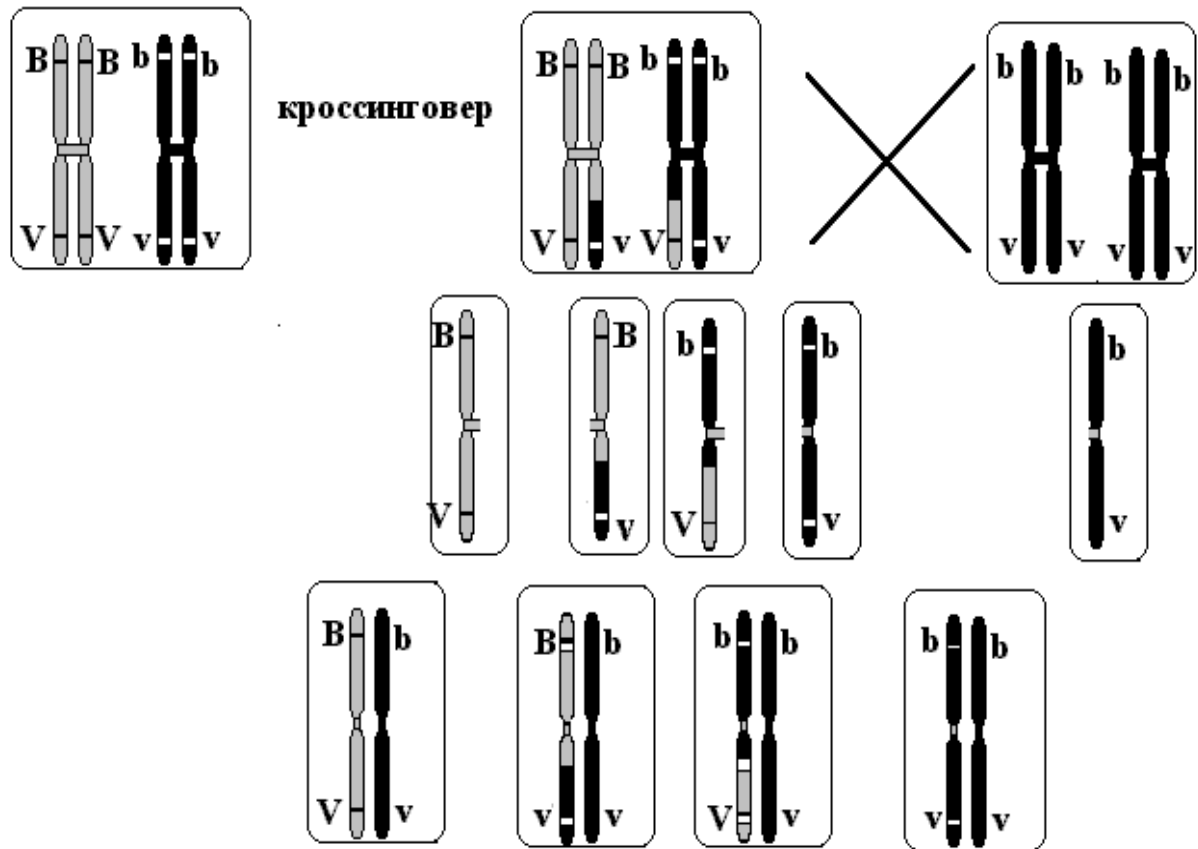


Рис. 7.2. Механизм рекомбинации генов при кроссинговере.

самками расщепление оказалось равным 1:1, т.е. имелось всего 2 варианта с равной частотой (50% и 50%). Причиной этого могло быть только полное сцепление генов, когда они наследуются в паре. Действительно, у самцов дрозофилы сцепление генов всегда полное, т.к. кроссинговер (обмен гомологичными участками) не происходит.

При скрещивании гетерозиготной самки с рецессивным самцом в потомстве получили все ожидаемые 4 варианта, при этом родительские формы существенно преобладали по частоте: (41,5%: 41,5%: 8,5%: 8,5%) (рис.7.2).

Преобладание исходных родительских форм указывает на то, что гены BV и bv действительно сцеплены. С другой стороны, появление новых форм (серое тело и короткие крылья, черное тело и длинные крылья) говорит о том, что в этих случаях произошел разрыв сцепления. Это является результатом конъюгации хромосом во время профазы I мейоза и обмена участками между гомологичными хромосомами, т.е. кроссинговера.

В результате кроссинговера с более высокой частотой образуются некроссоверные гаметы и реже – кроссоверные гаметы, сочетающие признаки обоих родителей. В нашем примере некроссоверные гаметы – BV и bv (83%), кроссоверные гаметы – Bv и bV (17%).


На основании результатов своих опытов Морган и его ученики пришли к заключению, что гены находятся в хромосомах и сформулировали **хромосомную теорию наследственности**.

### **Основные положения хромосомной теории наследственности (ХТН)**

1. Гены находятся в хромосомах. Каждая хромосома представляет собой группу сцепления генов. Число групп сцепления у каждого вида равно гаплоидному числу хромосом.
2. Каждый ген в хромосоме занимает определенное место (локус). Гены в хромосомах расположены линейно.
3. Между гомологичными хромосомами может происходить обмен аллельными генами (кроссинговер).
4. Расстояние между генами в хромосоме пропорционально проценту кроссинговера между ними.

#### Значение ХТН:

- 1) Было установлено, что материальные носители наследственной информации – гены – расположены в хромосомах.
- 2) Начались интенсивные исследования на клеточном уровне.
- 3) Были составлены генные карты хромосом.

Five traits	Recombination frequencies		Genetic map
<i>y</i> Yellow body color	<i>y</i> and <i>w</i>	0.010	
<i>w</i> White eye color	<i>v</i> and <i>m</i>	0.030	
<i>v</i> Vermilion eye color	<i>v</i> and <i>r</i>	0.269	
<i>m</i> Miniature wing	<i>v</i> and <i>w</i>	0.300	
<i>r</i> Rudimentary wing	<i>v</i> and <i>y</i>	0.322	
	<i>w</i> and <i>m</i>	0.327	
	<i>y</i> and <i>m</i>	0.355	
	<i>w</i> and <i>r</i>	0.450	
			.58 <i>r</i>
			.34 <i>m</i>
			.31 <i>v</i>
			.01 <i>w</i>
			0 <i>y</i>

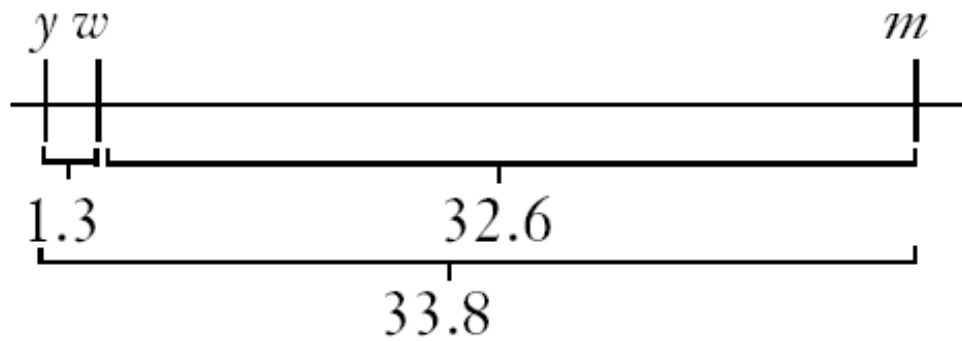


Рис. 7.3. Первая генетическая карта X-хромосомы дрозофилы., определенная по частоте кроссинговера (А.Н.Sturtevant, 1913).



Согласно 1 и 2 положениям, гены, локализованные в одной хромосоме, наследуются сцепленно и образуют группу сцепления. Число групп сцепления равно гаплоидному числу хромосом. У человека у женщин 23 группы сцепления (22 пары аутосом + X-хромосомы), у мужчин – 24 группы сцепления (22 пары аутосом + X + Y).

Согласно последнему положению ХТН частота кроссинговера, которая выражается отношением числа кроссоверных гамет к общему числу особей, характеризует расстояние между генами. Расстояние между генами выражается в % кроссинговера, или в Морганидах (М), или в сантиморганидах (сМ) и соответствует 1 млн. пар оснований:

$$1\% = 1\text{М} = 1\text{сМ} = 1 \text{ млн. п.о.}$$

Чем ближе располагаются два гена, тем меньше вероятность кроссинговера между ними. При сцепленном наследовании расстояние между генами можно установить по проценту кроссоверных особей, полученных при анализирующем скрещивании. В нашем примере расстояние между генами В и V равно  $8,5\% + 8,5\% = 17\% = 17\text{М} = 17 \text{ млн.п.о.}$  Если расстояние между генами более 50% кроссинговера, то они наследуются как несцепленные гены.

Кроссинговер имеет важное значение для эволюции, поскольку в результате перекреста «полезные» для организма аллели могут быть отделены от «вредных», следовательно, могут возникнуть более выгодные для существования вида комбинации. Это имеет существенное значение для прогрессивной эволюции и адаптации.

Существование кроссинговера позволило школе Моргана разработать в 1911 – 1914 гг. принцип построения генных карт хромосом, т.е. схемы взаимного расположения генов в одной группе сцепления. В основу этого принципа положено представление о расположении генов по длине хромосомы в линейном порядке.

### **Генные карты хромосом**

Генные карты (рис.7.3) были составлены при использовании гибридологического метода анализирующим скрещиванием. Для их составления применяют метод «трех точек» по анализу результатов трех анализирующих скрещиваний. В качестве примера рассмотрим определение мест локализации генов А, В и С, относящихся к одной группе сцепления.

1. Определяем расстояние между генами А и В путем скрещивания АаВв с аавв. Получили некроссоверных особей АаВв и аавв – 85%, кроссоверных – Аавв и ааВв – 15%. Следовательно, расстояние между А и В равно 15% кроссинговера.

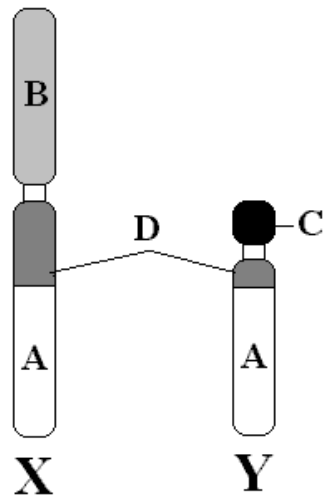
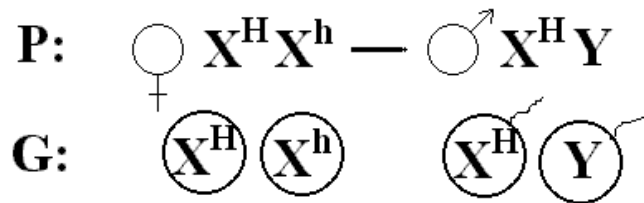


Рис. 7.4. Морфология половых хромосом человека:  
 А – участок с аллельными (одинаковыми) генами;  
 В – гены, сцепленные с X-хромосомой;  
 С – гены, сцепленные с Y-хромосомой;  
 D – конъюгирующий сегмент



F1:  $\text{X}^{\text{H}}\text{X}^{\text{H}}$   $\text{X}^{\text{H}}\text{X}^{\text{h}}$   $\text{X}^{\text{H}}\text{Y}$   
 здоровая носительница здоровый

$\text{X}^{\text{h}}\text{Y}$   
 гемофилия А  
 50%  
 мальчиков

Рис. 7.5. Сцепленное с половыми хромосомами наследование.  
 Пример: наследование гемофилии А (ген локализован в X-хромосоме).

2. Определяем также расстояние между генами В и С путем скрещивания ВвСс с ввсс. Пусть оно равно 7% кроссинговера.
3. Определяем также расстояние между генами А и С путем скрещивания АаСс с аасс. Пусть оно равно 8% кроссинговера.
4. Рисуем схему расположения генов: А 8% С 7% В.

### **Наследование генов, локализованных в половых хромосомах**

Рассмотрим условную схему морфологии половых хромосом (рис.7.4).

У человека две половые хромосомы – X и Y. По морфологии в этих хромосомах можно выделить следующие участки:

А – участок с аллельными (одинаковыми) генами;

В – гены, сцепленные с X-хромосомой – около 200 генов: детерминирующих развитие женских половых признаков, гены гемофилии, дальтонизма, мышечной дистрофии и т.д.

С – гены, сцепленные с Y-хромосомой – 6 генов: детерминирующие развитие мужских половых признаков, ихтиоз, гипертрихоз, перепонки между пальцами ног, много повторов.

Д – конъюгирующий сегмент. Во время мейоза X и Y хромосомы конъюгируют только в строго определенных точках – околоцентромерных участках.

Гены, локализованные в участках А, В и С, называют сцепленными с половыми хромосомами.

Признаки, которые наследуются через Y-хромосому, называются *голандрическими*. Они проявляются только у лиц мужского пола и передаются только по мужской линии.

Признаки, которые наследуются через X-хромосому, называются сцепленными с X-половой хромосомой. Они встречаются как у женщин, так и у мужчин. При этом женщины могут быть как гомозиготными, так и гетерозиготными по генам, локализованным в X-хромосоме. Рecessивные аллели у женщин проявляются только в гомозиготном состоянии, но у мужчин recessивные гены проявляются всегда, т.к. находятся в гемизиготном состоянии и не имеют аллельных генов в гомологичной хромосоме. Классическим примером такого наследования является гемофилия А – заболевание, характеризующееся нарушением свертывания крови и кровоточивостью. Поскольку в данном случае матери-носители мутантного recessивного гена передают болезнь своим сыновьям, то такое наследование называется крест-накрест (рис.7.5).

	<i>самка</i>	<i>самец</i>
человек, дрозофила	XX	XY
птицы	ZW	ZZ
Клопы	XX	XO
дафнии, пчелы	Diploid	Haploid

Рис. 7.6. Сингамное определение пола у некоторых организмов.

## Генетика пола

Ни один природный феномен не привлекает к себе такого внимания и не содержит столько загадок, как генетика пола. **Пол** – это важная фенотипическая характеристика особи, включающая совокупность морфологических, физиологических, биохимических, поведенческих признаков организма, обеспечивающих воспроизведение потомства и передачу ему наследственной информации. Признаки пола присущи всем живым организмам, даже самым простейшим (бактерии имеют признаки пола).

Признаки пола подразделяются на две группы: первичные (наружные и внутренние органы размножения) и вторичные (особенности телосложения, тембр голоса, развитие волосяного покрова и т.д.).

Важным доказательством того, что пол определяется наследственными факторами, является наблюдаемое у большинства видов соотношение 1:1, что может быть обусловлено образованием двух видов гамет у представителей гетерогаметного пола и одного вида гамет – у другого пола (как при анализирующем скрещивании). У человека гетерогаметным является мужской пол – XY, гомогаметным – женский – XX. У разных видов организмов механизм определения пола реализуется по-разному: клопы, бабочки – XO, птицы – женский – XY, мужской – XX (рис.7.6).

Существует несколько теорий определения пола (хромосомная, балансовая).

### Основные механизмы определения пола

1. Прогамное – пол определяется до оплодотворения. Характерно для особей, размножающихся партеногенетически. Так, у пчел особи женского пола развиваются из оплодотворенных диплоидных яиц, мужского – из неоплодотворенных, гаплоидных.
2. Сингамное – пол определяется в момент оплодотворения. Данный тип характерен для большинства млекопитающих и человека. Пол наследуется как обычный менделирующий признак (т.е. в соответствии с законами Менделя) с вероятностью 50% для обоих полов.
3. Эпигамное – пол определяется после оплодотворения и зависит от факторов внешней среды. Классическим примером эпигамного определения пола является морской червь *Bonnellia viridis*. Самка крупная – диаметром 10-15 см, имеет хоботок длиной до 1 м. Самец микроскопических размеров, ведет паразитический образ жизни на хоботке самки. В том случае, если личинка окажется на хоботке самки, под влиянием гормонов из зиготы могут развиваться самцы.

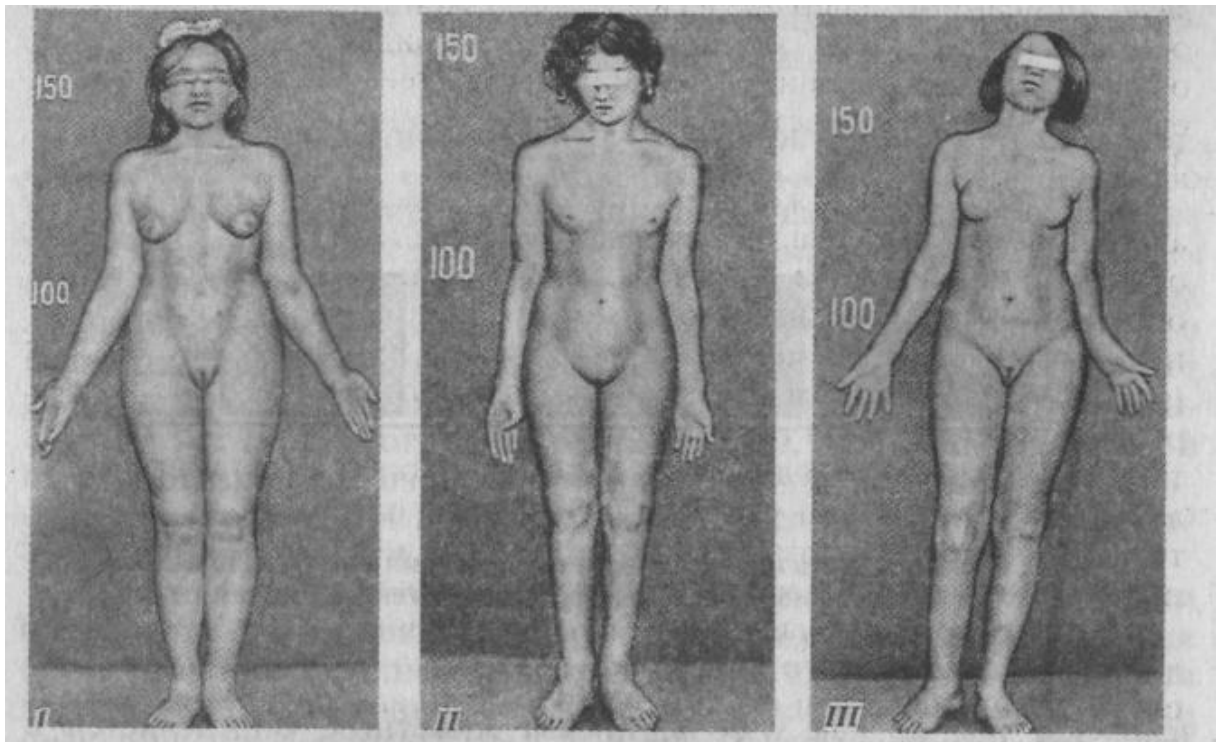
**А****Б****В**

Рис. 7.7. Синдром Морриса (синдром тестикулярной феминизации), кариотип 46, XY.

(А– удаление семенников в детском возрасте; Б, В– евнухоидная форма, отсутствие молочных желез, вторичного оволосения, естественного влагалища).

Но если личинка будет развиваться вдали от самки, то из нее сформируется самка.

У некоторых видов в ходе обычного онтогенеза при определенных условиях происходит естественное переопределение пола. В Тихом океане обитают рыбки вида *Labroides dimidiatus* (сельдевые), живущие стайками из множества самок и одного самца. Все самки постоянно пребывают в состоянии стресса, источником которого является самец. При этом уровень напряженности между самками различается, так, что можно выделить альфа, бетта, гамма-самок и т.д. В случае гибели самца альфа-самка (главная самка) сбрасывает напряжение и превращается в полноценного самца. Такое переопределение пола зависит от уровня в организме гормонов, выделяемых клетками надпочечников.

Иногда факторы внешней и внутренней среды оказывают существенное влияние на определение пола и у млекопитающих. Так, у человека описаны случаи проявления женского фенотипа при мужском генотипе 46, XY. Это, т.н. *синдром Морриса или синдром тестикулярной феминизации* (рис.7.7). Причина развития данного синдрома заключается в следующем. Гены Y-хромосомы определяют дифференцировку половых желез по мужскому типу и синтез этими железами гормона тестостерона (Т). Однако для проникновения этого гормона в клетки-мишени необходим белок-рецептор (R), который является продуктом другого гена, расположенного в X-хромосоме. Если белка R нет, то клетки не восприимчивы к действию Т. В этом случае развитие проходит по женскому типу. В результате появляется особь с кариотипом XY, но по внешним признакам сходная с женщиной. У таких индивидов не развиты ни мужские, ни женские половые органы (семенники, яичники, матка, влагалище и т.д. недоразвиты), но вторичные половые признаки характерны для женского пола.

### **Дифференцировка пола в процессе развития**

Процесс первичной дифференцировки пола связан с периодом эмбрионального развития. Формирование закладок половых желез происходит до 4-й недели эмбрионального развития и обеспечивается только X-хромосомой. Поэтому первичные гонады – половые железы – бисексуальны, т.е. состоят из одинаковых зачатков независимо от пола будущего организма.

Основная дифференцировка закладок в половые железы и половые органы у эмбриона человека происходит на 4-12 неделе эмбрионального развития. На этом этапе она полностью зависит от второй половой хромосомы: если это X-хромосома, то развиваются яичники, если Y-хромосома, то развиваются семенники. Соответственно формируются

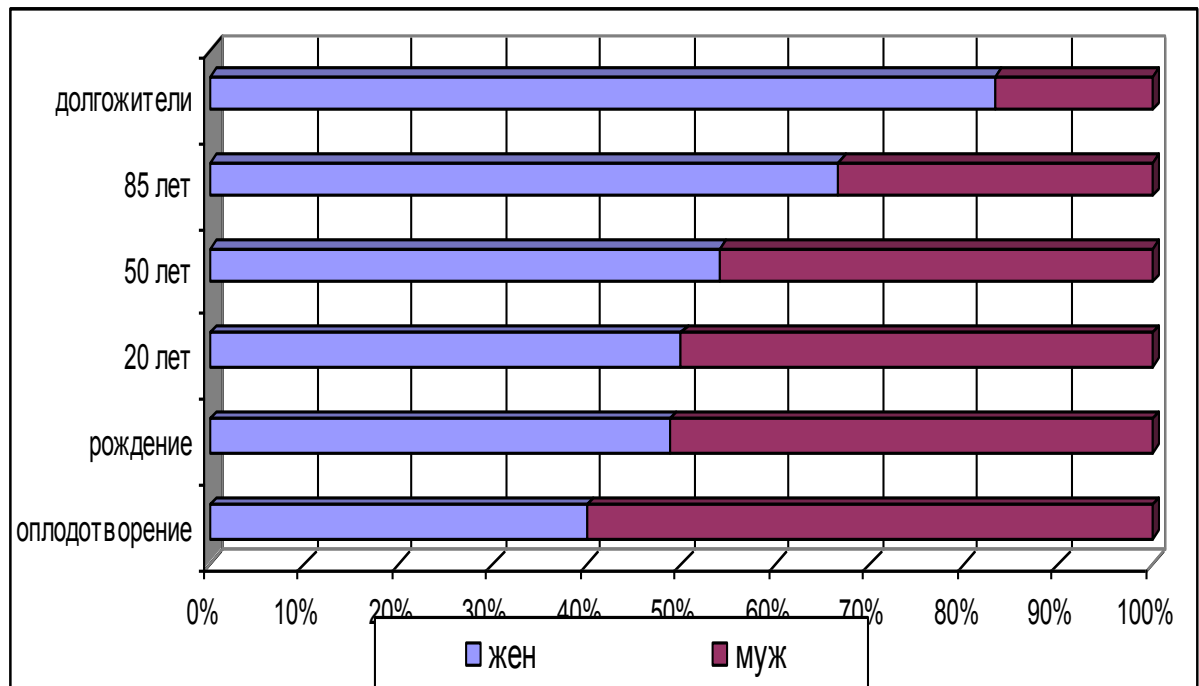


Рис. 7.8. Изменение соотношения полов у человека в процессе онтогенеза.



наружные половые органы. При наличии у человека только одной X-половой хромосомы (синдром Шерешевского-Тернера, 45, X0), гонады не дифференцируются, вместо них образуется соединительная ткань, половые железы не функционируют. Эмбрионы только с Y-половой хромосомой нежизнеспособны.

### **Соотношение полов у человека (рис. 7.8)**

Теоретически соотношение полов у человека должно быть 1:1 (50%:50%), т.к. встреча яйцеклетки со сперматозоидом, содержащим X или Y хромосому равновероятна. Однако при обследовании у человека установлено, что на 100 женских гамет образуется 140-160 мужских. Т.о. в действительности I соотношение полов = 100 жен. : 140-160 муж.

К моменту рождения на 100 девочек приходится 103-105 мальчиков, т.е.

II соотношение полов = 100 дев. : 103-105 мал.

К 20-ти годам на 100 девушек приходится 100 юношей.

III соотношение полов = 100 дев. : 100 юн.

К 50-ти годам = 100 жен. : 85 муж.

К 85 годам = 100 жен. : 50 муж.

Долгожители = 100 жен. : 21 муж.

Отсюда следует вывод о большей жизнеспособности женского организма. Причина этого феномена до сих пор не ясна. Существует множество гипотез и предположений. Одной из причин наблюдаемой диспропорции может быть то, что у женских организмов, в отличие от мужчин, гены X-хромосомы присутствуют в двойной дозе, поэтому гетерозиготы по мутациям не проявляются.

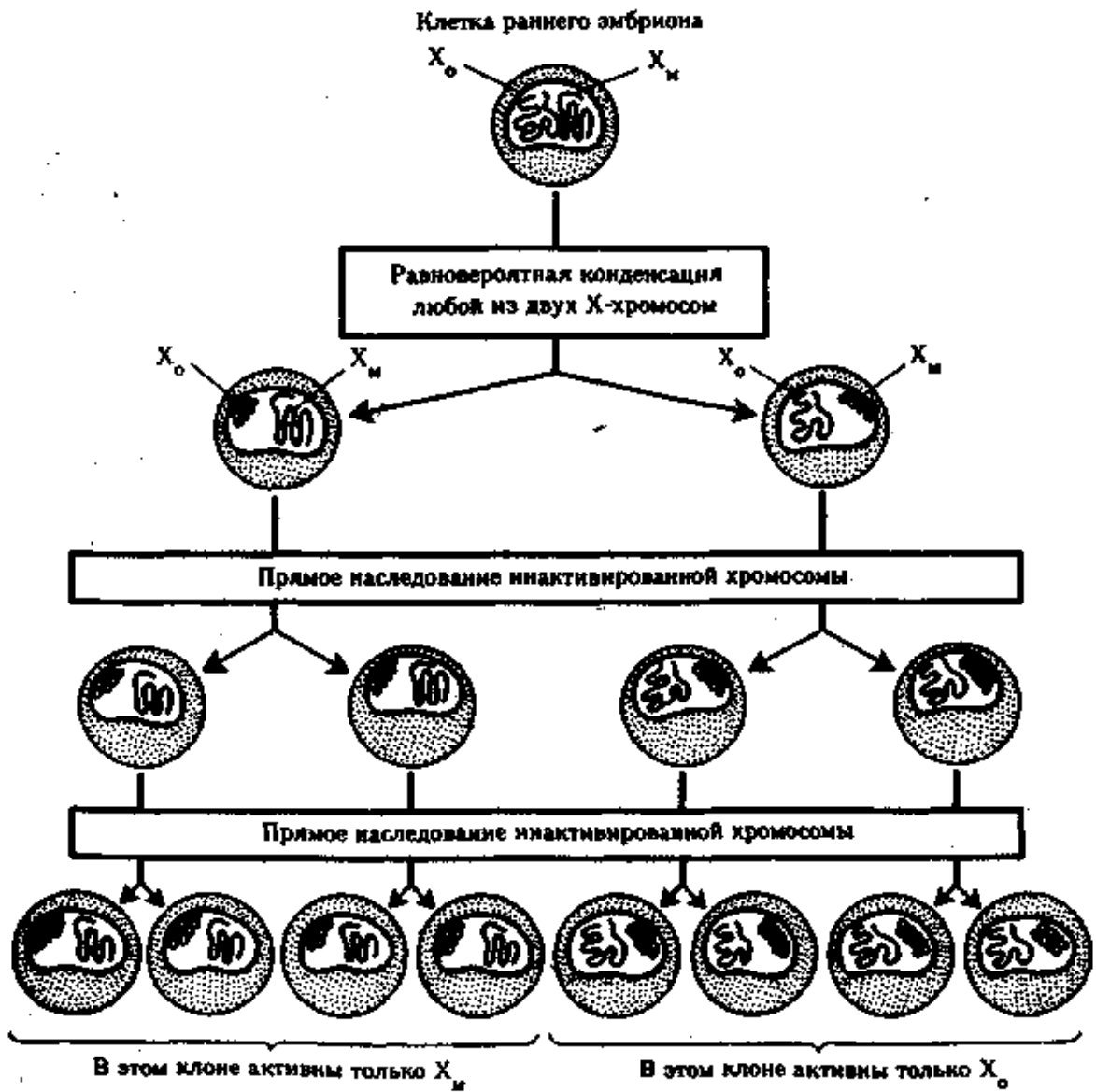


Рис. 8.1. Схема клонального наследования инактивированной X-хромосомы в клетках женского организма.

## Глава 9

### ЗНАЧЕНИЕ НОРМАЛЬНОГО ГЕННОГО БАЛАНСА ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ ФЕНОТИПА. НАРУШЕНИЕ ДОЗЫ ГЕНОВ. ХРОМОСОМНЫЕ БОЛЕЗНИ ЧЕЛОВЕКА

Сформировавшийся в процессе эволюции геном каждого отдельного вида представляет собой совокупность генетических единиц, представленных в нем в строго определенных дозах. В результате и генотипы особей и их клеток – сбалансированные по дозам генов системы.

У организмов, размножающихся половым путем, генотип формируется в результате слияния геномов двух родительских половых клеток. Он представляет собой двойной набор генов, заключенных в геноме данного вида. Так как при каждом оплодотворении взаимодействующие гаметы несут определенные и часто разные аллели генов, генотип каждого отдельного организма представляет собой оригинальный двойной набор аллелей генов. Таким образом, гены, представленные в геноме уникальными нуклеотидными последовательностями, в генотипе присутствуют в двойной дозе.




Однако многие гены, особенно у эукариот, в результате амплификации присутствуют в геноме в виде нескольких копий (гены гистонов, тРНК, рРНК). Они занимают разное место в геноме, но определяют возможность развития одного и того же признака. Такие нуклеотидные последовательности присутствуют в генотипе в виде нескольких двойных доз.

Наконец, так как геномы гамет разного пола отличаются друг от друга по набору генов, заключенных в половых хромосомах, в генотипе встречаются гены, представленные лишь одной дозой. Например, у некоторых видов два пола имеют разное число гетерохромосом – XX или XO. Следовательно, генотипы особей гетерогаметного пола XO содержат гены X-хромосомы не в двойной, а в единственной дозе.

Чаще два пола различаются по набору гетерохромосом XX или XY. Ввиду того, что морфология этих хромосом различна и одна из них часто крупнее, многие гены имеются лишь в одной гетерохромосоме и отсутствуют или неактивны в другой. В результате в генотипе особей гетерогаметного пола XY гены, расположенные в негомологичных участках X- и Y-хромосом, встречаются в одной дозе.

Значение поддержания определенного дозового соотношения генов в генотипе для формирования видовых характеристик подтверждается возникшим в процессе эволюции механизмом инактивации одной из X-хромосом у гомогаметного пола XX (рис. 8.1.). Это приводит дозу активно

### Численные (геномные)

полиплоидии	Triploidy	69 хромосом	Гибель
анеуплоидии	Trisomy of chromosome 21		Синдром Дауна
	Monosomy of X chromosome		Синдром Тернера
	47 chromosomes (XXY)		Синдром Клайнфельтера

### Структурные (хромосомные)



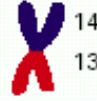
делеции	Terminal deletion 5p		Синдром кошачьего крика
	Interstitial deletion 11p		Опухоль Вильмса
инверсии	Pericentric inversion 9		норма
дупликации	Isochromosome X (fusion of long arms with loss of short arms)		Бесплодие у женщин
кольца	Ring chromosome 18		Умственная недостаточность
разрывы	Fragile X		Умственная недостаточность
транслокация	Reciprocal		Сбалансированные – нейтральны несбалансированные – МВНР, с/а
	Robertsonian		

Рис. 8.2. Причины дисбаланса дозы генов на хромосомном уровне.

функционирующих X-генов у данного пола в соответствие с их дозой у гетерогаметного пола ХО или ХУ.

У млекопитающих гомогаметным является женский пол ХХ, а гетерогаметным – мужской ХУ. У мышей такая инактивация происходит на 3 – 6-е сутки эмбрионального развития. У человека на 16-е сутки во всех клетках женского эмбриона одна из X-хромосом образует тельце полового хроматина (тельце Барра), которое может быть обнаружено вблизи ядерной мембраны интерфазных клеток в виде хорошо окрашивающегося гетерохроматинового образования.

Ввиду того что гены, расположенные в инактивированной X-хромосоме, не функционируют, в генотипе каждой клетки организма гомогаметного пола в диплоидном наборе остальных генов экспрессируется лишь одна доза X-генов. Так как инактивация X-хромосомы происходит, когда организм уже представляет собой многоклеточное образование и выключаться может любая из двух X-хромосом, клетки такого организма образуют мозаику, в которой экспрессируются разные аллели X-генов.

### **Нарушение дозы генов**

Нарушение дозовой сбалансированности генотипа организма (клетки) сопровождается, как правило, различными отклонениями в развитии. Примером служат нарушения развития организма при хромосомных перестройках, когда доза генов изменяется в результате отрыва и утраты или перемещения фрагмента хромосомы, а также при изменении количества хромосом в кариотипе – хромосомные болезни, которые приводят к нарушениям баланса дозы генов в генотипе (рис. 8.2.).

### **Хромосомные болезни человека**

Хромосомные болезни человека могут возникать под влиянием разных внешних и внутренних факторов. В результате численных или структурных изменений отдельных хромосом возникают хромосомные болезни.

Хромосомные болезни возникают в результате мутаций в половых клетках одного из родителей. Хромосомная патология является одним из основных факторов формирования множественных пороков развития и составляют 30% от общего числа всех пороков у новорожденных. Хромосомными нарушениями обусловлены около 50% спонтанных аборт, 7% всех мертворождений, 10% бесплодия. Среди недоношенных детей хромосомная патология выявляется с частотой около 3%. У детей с умственной отсталостью и пороками развития аномалии хромосом встречаются в среднем в 15% случаев. Аномалии половых хромосом встречаются наиболее часто и составляют около 2/3 всех хромосомных нарушений. Возможно, это связано с большей жизнеспособностью

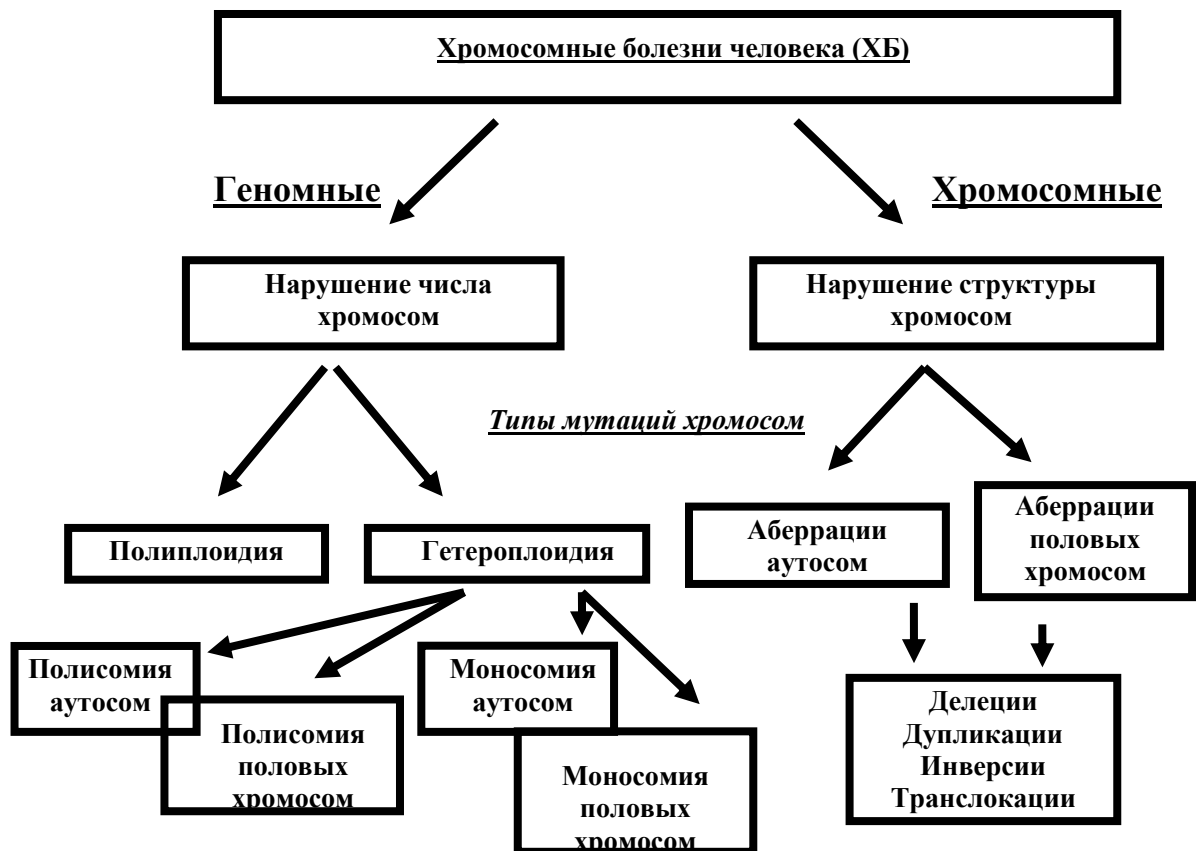


Рис. 8.3. Классификация хромосомных болезней человека.

индивидов с аномалиями половых хромосом, по сравнению с аномалиями аутосом.

Большинство несбалансированных аутосомных аббераций приводит к множественным и тяжелым порокам развития, которые затрагивают также мозг, вызывая тяжелую умственную отсталость. Изменение числа аутосом имеют более серьезные последствия, чем в случае аномалий по половым хромосомам.

Основные фенотипические проявления аутосомных аббераций. Наиболее заметной особенностью фенотипов при аутосомных абберациях является очень частое совпадение многих признаков и симптомов. Основные признаки:

а) Общие: - низкий вес при рождении; - резкая задержка развития-умственная отсталость( обычно тяжелая ) - низкий рост

б) Голова и лицо микроцефалия неполная оссификация микрогнатия аномальное расположение глаз «дизморфическое лицо » низко расположенные и деформированные ушные раковины

в) Верхние и нижние конечности аномальный дерматоглифический рисунок

г) Внутренние органы врожденный порок сердца и (или) крупных сосудов пороки развития мозга пороки развития мочеполовой системы.

Общее число хромосомных синдромов к настоящему времени (Ворсанова, Юров, 2003 г.) составляет около 100.

Все хромосомные болезни можно разделить на 2 группы (рис. 8.3.):

- 1) Геномные, связанные с аномалиями числа хромосом;
- 2) Хромосомные, связанные со структурными нарушениями хромосом.

В первую группу входят формы патологий, связанные с излишком (полиплоидии, трисомии) или утратой (моносомии) числа хромосом.

### **Геномные мутации и болезни - аномалии числа хромосом**

Существуют разные причины, приводящие к геномным мутациям.

1. Первым и наиболее важным механизмом является **нарушение нормального нерасхождения хромосом**. Хромосомы, которые в норме должны разделиться во время клеточного деления, остаются соединенными вместе и в анафазе отходят к одному полюсу. Это может произойти в ходе митотического деления, но чаще наблюдается во время мейоза. У человека по неизвестным причинам именно акроцентрические хромосомы имеют тенденцию чаще вовлекаться в нерасхождение.

## Геномные болезни человека



Рис. 8.4. Классификация геномных болезней человека.



Мейотическое нерасхождение было открыто Бриджесом у дрозофилы. На каждую гамету с одной добавочной хромосомой приходится другая без одной хромосомы. После оплодотворения гаметой с нормальным набором хромосом зигота оказывается по одной из хромосом либо трисомной, либо моносомной. Соматическое нерасхождение в митотически делящихся клетках во время раннего развития может приводить к мозаицизму с наличием нормальных клеток, трисомиков и миносомиков.

2. Вторым механизмом, обуславливающим геномные мутации, является утрата отдельной хромосомы вследствие **«анафазного отставания»**: во время анафазного движения одна хромосома может отстать от всех других.

3. **Третьим механизмом является полиплоидизация**. При этом в каждой клетке геном целиком представлен более чем дважды. У человека обнаружена только триплоидия, при которой число хромосом равно  $3n=69$ .

К геномным мутациям относятся полиплоидии и гетероплоидии (рис. 8.4.).

**Полиплоидия** — увеличение числа хромосом, кратное гаплоидному набору. В соответствии с этим различают триплоиды ( $3n$ ), тетраплоиды ( $4n$ ) и т. д. В настоящее время у человека описаны полиплоидные организмы с увеличением числа хромосом в 3 раза (69 хромосом, триплоидия) и в 4 раза (92 хромосомы, тетраплоидия). Описано уже около 100 случаев с триплоидией и имеется несколько сообщений о появлении на свет детей с тетраплоидиями. Однако ввиду грубых пороков развития, затрагивающих основные органы и системы, продолжительность жизни таких детей составляет от нескольких часов до нескольких дней.

**Гетероплоидия** — изменение числа хромосом, не кратное гаплоидному набору. При этом набор хромосом в клетке может быть увеличен на одну, две, три хромосомы ( $2n + 1$ ;  $2n + 2$ ;  $2n + 3$ ) или уменьшен на одну хромосому ( $2n-1$ ).

**Трисомия** — увеличение числа отдельных хромосом. Для человека описаны трисомии по 8, 9, 13, 14, 18, 21, 22, X и Y хромосомам.

**Трисомия 13** — синдром Патау

**Трисомия 18** — синдром Эдвардса.

**Трисомия 21** — болезнь Дауна.

**Трисомия X** — синдром Клайнфельтера, трисомии X.

**Моносомия** — уменьшение числа отдельных хромосом. Наблюдается только по половой X-хромосоме.

Новорожденный с **синдромом Дауна** (рис. 8.5.) отличается характерным внешним видом: округлый череп со скошенным затылком,

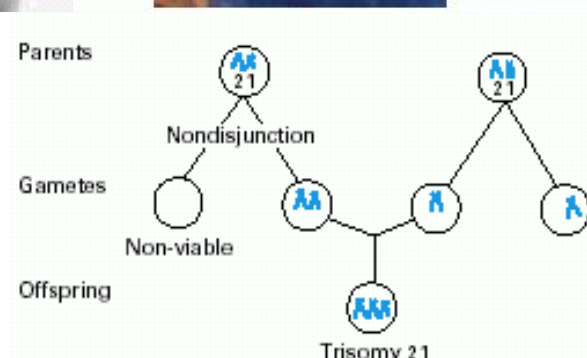
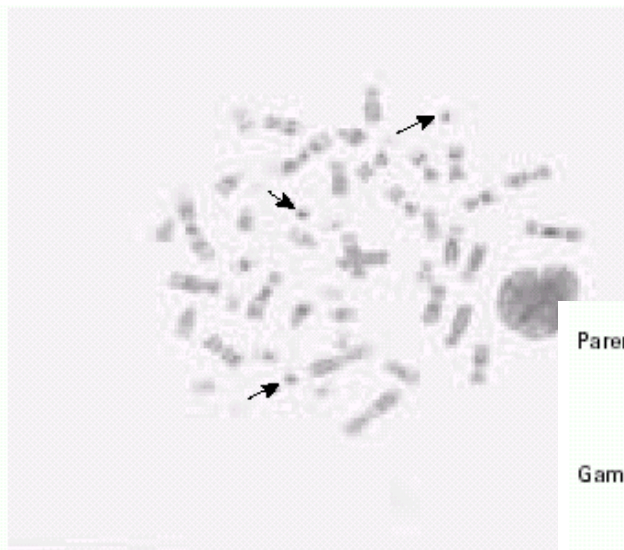


Рис. 8.5. Синдром Дауна ( 47 хромосом, трисомия 21 пары хромосом).



Рис. 8.6. Синдром трисомии X, кариотип (47, XXX).

косой разрез глаз, широкий плоский нос, добавочное веко, светло-серые пятна на радужной оболочке, “готическое” небо, маленькие уши, полуоткрытый рот с высунутым толстым языком. Имеют широкие короткие кости, иногда искривленные; может наблюдаться синдактилия. С возрастом выявляются отклонения в зрении, эндокринные нарушения, патологии кожных покровов, ногтей, волос, сниженный мышечный тонус. Продолжительность жизни ограничена 30-40 годами: умирают вследствие пороков развития внутренних органов и декомпенсации их функций. Обладают ранимой психикой. ведут малоподвижный образ жизни. Эмоции относительно сохранены. Степень недоразвития интеллекта варьирует от дебильности до глубокой идиотии.

Из рождающихся с трисомиями описаны **синдром Патау** (трисомия по 13 паре аутосом), характеризующийся отсутствием шеи, различными уродствами на лице, неспособностью к выработке условных рефлексов и **синдром Эдвардса** (трисомия по 18 паре аутосом), для которого типичными признаками являются крупные размеры черепа и вспученный живот. Такие больные умирают в раннем детстве.

Большинство трисомий по другим парам аутосом вызывают настолько серьезные патологии эмбриогенеза, что ведут к спонтанным абортam в период внутриутробного развития.

Наиболее распространенные хромосомные синдромы связаны с нарушениями числа и структуры половых хромосом (гоносом).

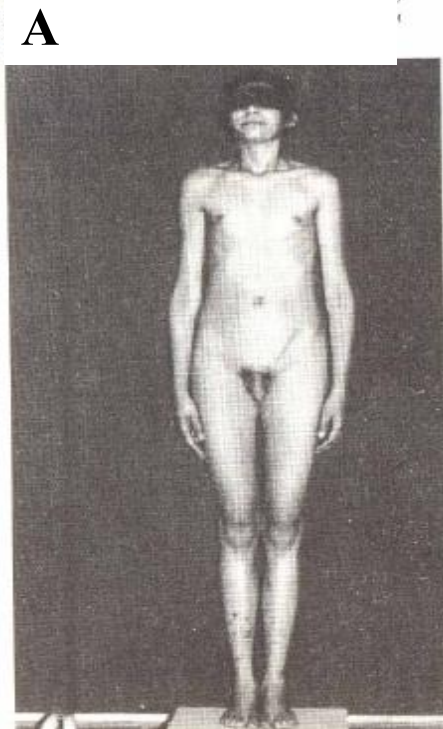
### **Аномалии половых хромосом (гоносом)**

Одной из особенностей аномалий гоносом, обуславливающих клиническую и социальную значимость, является сравнительно легкое течение заболевания при отсутствии у больных множественных врожденных пороков развития и выраженной умственной отсталости. Уровень умственного развития может быть ниже нормы, но выражается не столь отчетливо, как в случаях аномалий аутосом. Как правило, хромосомные синдромы при аномалиях гоносом проявляются в пубертантном возрасте при появлении вторичных половых признаков.

Все аномалии гоносом могут проявляться полными и мозаичными формами. Наиболее распространенными среди численных аномалий половых хромосом являются следующие:

(см. таблицы)

1. 47, XXX – трисомия X (рис. 8.6.). Частота 1:800, 1:1000. Фенотип женский. Недоразвитие яичников в отдельных случаях может приводить к бесплодию, недоразвитию I и II половых признаков. Интеллект страдает редко. Диагностический признак – два тельца Барра в клетках эпителия слизистой щеки.



**Б**



Рис. 8.7. Синдром Клайнфельтера - 47, XXY  
(А- фенотип, Б – кариотип).

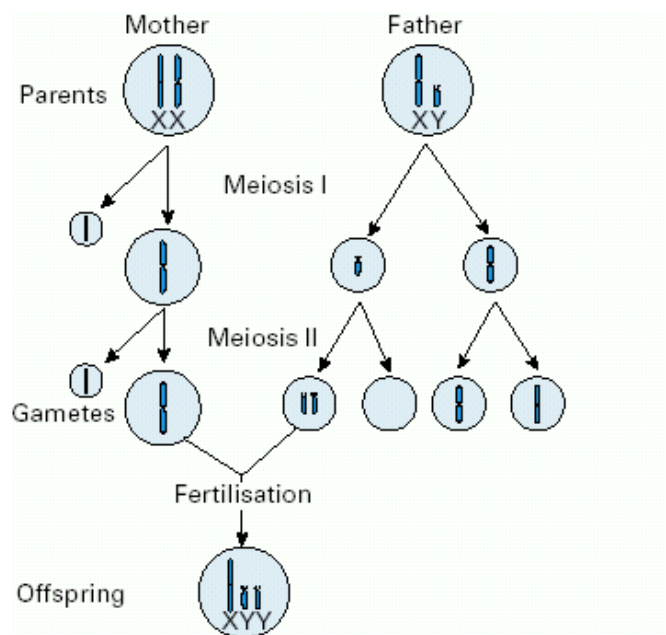


Рис. 8.8. Синдром Джекобса – 47, XYY

2. Синдромы тетра-Х, пента-Х встречаются гораздо реже. Больные имеют низкий рост и множество дизэмбриогенетических стигм: аномалии ушей, прикуса, “готическое” нёбо, короткие искривленные пальцы, неполная синдактилия... Могут наблюдаться пороки внутренних органов. Половое развитие при синдроме ХХХ может быть в пределах нормы, при синдроме ХХХХ и ХХХХХ имеют место ярко выраженные отклонения. Частота нарушений интеллекта среди женщин с трисомией-Х выше, чем в общей популяции; тетра-Х и пента-Х синдромы отягощены умственной отсталостью глубокой и средней степени.

3. 47, ХХУ; 48, ХХХУ и др. – синдром Клайнфельтера (рис. 8.7.). Частота – 1:400, 1:500. Фенотип мужской. Телосложение по женскому типу: узкие плечи, широкие бедра, преимущественное отложение жира на бедрах и ягодицах. Характерен высокий рост. Интеллект снижен. I и II половые признаки недоразвиты.

4. 47, ХУУ – разновидность синдрома Клайнфельтера, синдром Джекобса (рис.8.8). 1:1000 новорожденных мальчиков. Характерен высокий рост. Типичны психологические свойства: агрессивность, жестокость, неадаптивность, склонность к асоциальным действиям. Среди осужденных каждый двадцатый имеет кариотип ХУУ. Распределение IQ сдвинуто к более низким значениям, примерно половина носителей страдает олигофренией.

5. 45, Х0 – синдром Шерешевского-Тернера (рис.8.9). Одна из частых причин (95%) спонтанных аборт и выкидышей. Частота синдрома 1:2000, 1:3000). Фенотип женский. Недоразвитие яичников приводит к бесплодию, недоразвитию I и II половых признаков. Интеллект страдает редко. Больные низкого роста. Характерная особенность – крыловидная кожная складка от затылка к плечу. Диагностический признак – отсутствие телец Барра в клетках эпителия слизистой щеки. Эффективно раннее гормональное лечение (гормональная коррекция).

Чаще всего встречаются мозаичные формы

### **Хромосомные нарушения (аномалии структуры хромосом)**

К *хромосомным мутациям* относятся мутации, связанные с нарушением структуры хромосом (рис. 8.9.). Существуют следующие виды перестроек хромосом: отрыв различных участков хромосомы (делеция), удвоение отдельных фрагментов (дупликация), поворот участка хромосомы на 180° или присоединение отдельного участка хромосомы к другой хромосоме (транслокация). Если подобные

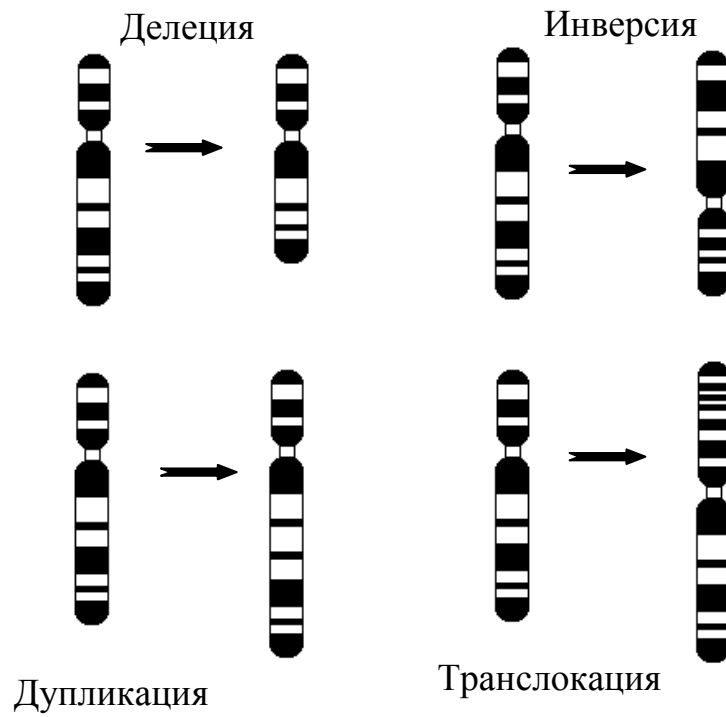


Рис. 8.9. Механизмы образования хромосомных мутаций.

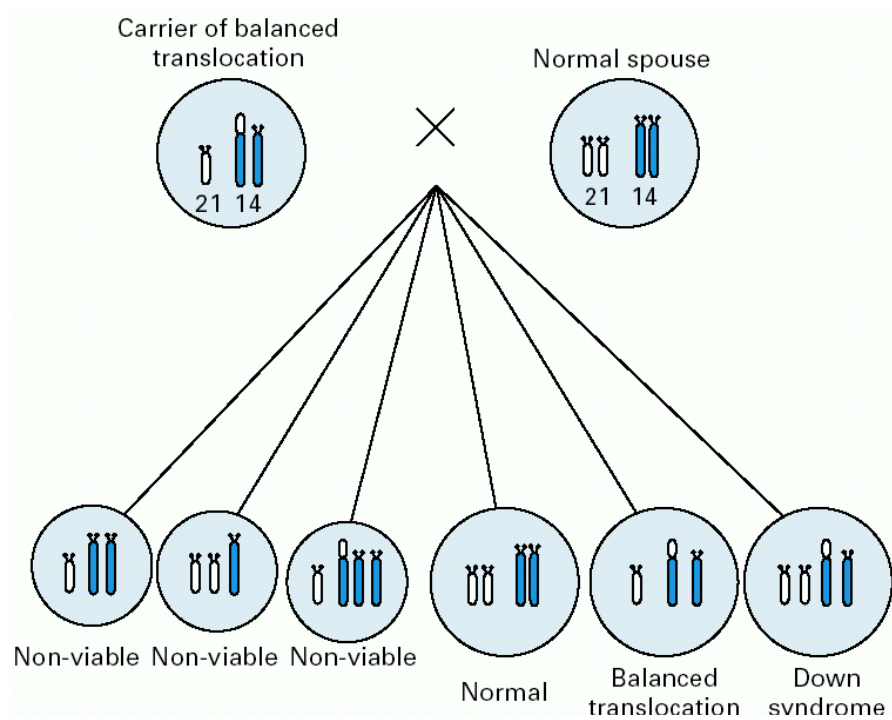


Рис. 8.10. Транслокационная форма болезни Дауна.

изменения влекут за собой нарушение дозы и функции генов в хромосоме, то приводят к нарушению наследственных свойств организма, а иногда вызывают его гибель. Среди хромосомных болезней, обусловленных структурными хромосомными нарушениями, наиболее распространенными являются транслокационные формы болезни Дауна ( $46, D^{+21}$ ) (рис. 8.10.), синдром Патау ( $46, D^{+13}$ ) (рис.8.12), синдром Эдвардса ( $46, tr^{+18}$ ), синдром кошачьего крика ( $46, 5p^{-}$ ).

Помимо изменений в числе хромосом, известны и случаи изменений в структуре хромосом, приводящие к умственной неполноценности. Одним из наиболее ярких примеров является **синдром “кошачьего крика”**, возникающий вследствие делеции короткого плеча хромосомы 5. Типичные случаи характеризуются микроцефалией и своеобразным лицом круглой формы. Глаза у этих больных широко расставленные с эпикантом, антимонголоидным разрезом, уменьшенным подбородком. Эти признаки отмечаются в детском возрасте. Часто встречаются косоглазие, аномалии радужки, атрофия зрительного нерва. Характерны деформированные, низко расположенные уши, короткая шея, деформация кистей. Имеют место пороки сердца, почек и других внутренних органов, низкие показатели роста и веса. Характерный “кошачий крик” наблюдается в течение первых недель жизни, обусловлен сужением гортани и постепенно исчезает. Продолжительность жизни резко не снижена. Умственная отсталость при этом поражении всегда глубокая. Диагноз может быть установлен клинически, но требуется подтверждение исследованием кариотипа.

- **По характеру проявлений:** доминантные и рецессивные.
- **По причинам:** спонтанные и индуцированные.
- **По типам мутировавших клеток:** генеративные и соматические.
- **По исходам для организма:** нейтральные, летальные и положительные.
- **По изменениям генетического материала:**
  - 4.1. *Геномные* (изменения числа хромосом – полиплоидия, гаплоидия, анеуплоидия).
  - 4.2. *Хромосомные* (изменения структуры хромосом – хромосомные aberrации).
  - 4.3. *Генные* (изменения структуры генов – молекулы ДНК)

Рис. 9.1. Классификация мутаций.



## Глава10

### ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ (НАСЛЕДСТВЕННАЯ) ИЗМЕНЧИВОСТЬ. КОМБИНАТИВНАЯ И МУТАЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ. СВОЙСТВА МУТАЦИЙ. КЛАССИФИКАЦИЯ МУТАЦИЙ. ГЕНОМНЫЕ, ХРОМОСОМНЫЕ, ГЕННЫЕ МУТАЦИИ. ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ

Генетика изучает не только наследственность, но и изменчивость организмов. Изменчивостью называют способность живых организмов приобретать новые признаки и свойства. Благодаря изменчивости, организмы могут приспосабливаться к изменяющимся условиям среды обитания. Различают два типа изменчивости: *ненаследственную*, или модификационную, т.е. изменчивость, при которой изменений генотипа не происходит, и *наследственную*, или генотипическую. Генотипическая (наследственная) изменчивость подразделяется на *комбинативную и мутационную*.

#### Комбинативная изменчивость

Комбинативная наследственная изменчивость обусловлена появлением новых комбинаций генов в генотипе дочернего организма. Разнообразные сочетания генов приводят к появлению у потомства новых фенотипов по сравнению с фенотипами обоих родителей. Источники комбинативной изменчивости:

- 1.Рекомбинация генов при кроссинговере.
- 2.Независимое расхождение хромосом и хроматид при мейозе.
- 3.Случайное сочетание хромосом при оплодотворении.

С комбинативной изменчивостью связано явление гетерозиса, т.е. повышенной гибридной силы, которое широко используется в сельском хозяйстве. Гетерозис наблюдается в первом поколении при гибридизации между разными сортами растений. У гибридов увеличивается рост, жизнестойкость, урожайность. Ярко выражен гетерозис у кукурузы. Гетерозис можно объяснить тем, что у гибридов увеличивается число доминантных генов, которые в сочетании друг с другом оказывают положительное влияние на проявление признаков (комплементарность, полимерное действие генов). Например, доминантные аллели разных генов А и В влияют на роста растения. При скрещивании родительских форм с генотипами Аавв и ааВВ появляются гибриды АаВв – более высокие и мощные.

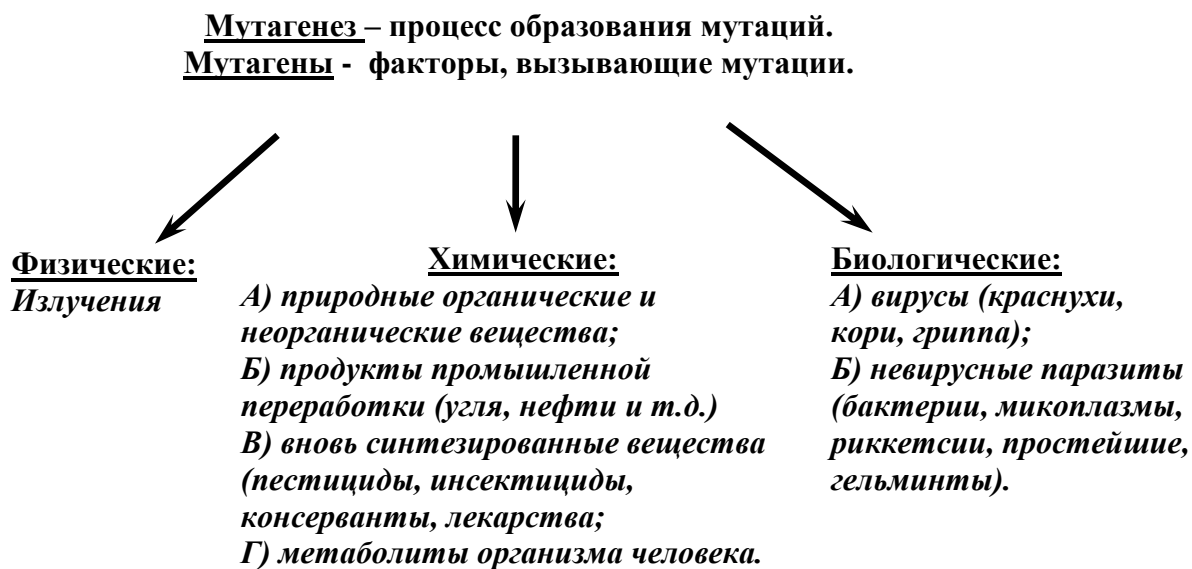


Рис. 9.2.Классификация мутагенных факторов.

### Мутационная изменчивость

*Мутацией* (от лат. *mutatio* – перемена) называют внезапное, скачкообразное изменение генетического материала, возникающее спонтанно или под влиянием внешних воздействий на организм, передающееся по наследству. Термин “мутация” был впервые введен де Фризом. На рис. 9.1. приведена классификация мутаций.

#### Классификация мутаций

Мутации можно объединять, в группы—классифицировать по характеру проявления, по месту или, по уровню их возникновения. Мутации по характеру проявления бывают *доминантными и рецессивными (1)*. Доминантные мутации проявляются в фенотипе в 1-м поколении. Если доминантные мутации неблагоприятные, то организмы могут оказаться нежизнеспособными или бесплодными. Такие мутации элиминируют. Большинство мутаций являются рецессивными, т.е. не проявляются у гетерозигот и способны накапливаться в поколениях, уклоняясь от действия естественного отбора.

Мутации нередко понижают жизнеспособность или плодовитость. Мутации, резко снижающие жизнеспособность, частично или полностью останавливающие развитие, называют *полуметальными* а несовместимые с жизнью — *летальными (2)*. *Нейтральные* мутации формируют полиморфизмы – генетическое разнообразие индивидуумов. Примером нейтральных мутаций у человека могут быть разные группы крови, разный цвет волос или глаз. Многие нейтральные мутации затрагивают некодирующие участки генома и не проявляются фенотипически.

Бывают случаи, когда некоторые вредные рецессивные мутации могут оказаться полезными для организмов и гетерозиготные носители таких мутаций будут иметь преимущество при естественном отборе. Например, серповидно-клеточная анемия сопровождается изменением формы эритроцитов, в результате гетерозиготные носители мутации устойчивы к малярии).

Мутации подразделяют по месту их возникновения или по типу мутировавших клеток. Мутация, возникшая в половых клетках, не влияет на признаки данного организма, а проявляется только в следующем поколении. Такие мутации называют *генеративными*. Если изменяются гены в соматических клетках, такие мутации проявляются у данного организма и не передаются потомству при половом размножении. Такие мутации называют *соматическими*. Соматические мутации возникают очень часто и в большинстве случаев остаются незамеченными для организма. Но в некоторых случаях мутации соматических клеток дают начало злокачественной трансформации и развитию опухоли.

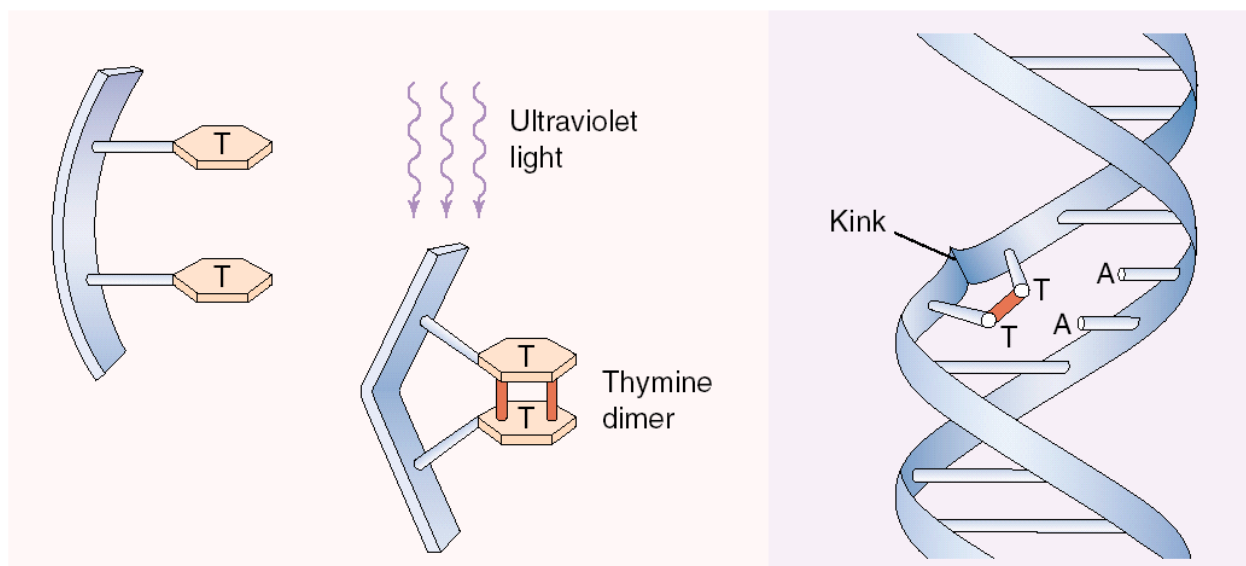


Рис. 9.3. Схема образования тиминовых димеров под влиянием ультрафиолетового освещения.

Процесс возникновения мутаций называют *мутагенезом*. Факторы, которые способны вызывать мутации, называются *мутагенами* (рис.9.2). Организм, который приобрел новый признак в результате мутации, называется *мутантом*.

Мутации характеризуются следующими свойствами:

1. Возникают внезапно, т.е. скачкообразно;
2. Мутации затрагивают гены, следовательно, они наследственны, т.е. передаются из поколения в поколение;
3. Ненаправлены, т.е. мутации могут возникать в любом локусе;
4. Одни и те же мутации могут возникать повторно в «горячих точках».

По причинам возникновения мутации могут быть *спонтанными и индуцированными*. Индуцированные мутации возникают под действием мутагенных факторов, которые можно подразделить на 3 большие группы: физические, химические и биологические.

К физическим мутагенам относятся различные виды излучений, температура, влажность, шум, вибрация и т.д. Основные механизмы их действия:

1. Нарушение структуры генов и хромосом;
2. Образование сшивок – тиминовых димеров (рис. 9.3.).
3. Образование свободных радикалов, которые вступают в химические взаимодействия с ДНК;
4. Разрыв нитей ахроматинового веретена деления;

К химическим мутагенам относятся:

- а) природные органические и неорганические соединения (нитриты, нитраты, гормоны, алколоиды, бензол, фенол и т.д.)
- б) продукты промышленной переработки природных соединений – угля, нефти (ароматические углеводороды, бензпирен ...)
- в) синтетические вещества, ранее не встречавшиеся в природе – ксенобиотики (пестициды, инсектициды, никотин, пищевые добавки, консерванты, лекарственные вещества ...)
- г) некоторые метаболиты организма человека (хлороформ – фосген, парацетамол – яд, повреждающий печень и почки ...)

Механизм действия химических факторов:

- 1) Дезаминирование;
- 2) алкилирование;
- 3) замены азотистых оснований
- 4) угнетение синтеза нуклеиновых кислот.

Биологические мутагенные факторы – вирусы (встраиваются в ДНК хозяина – человека), бактерии (продукты их метаболизма относятся к химическим мутагенам).

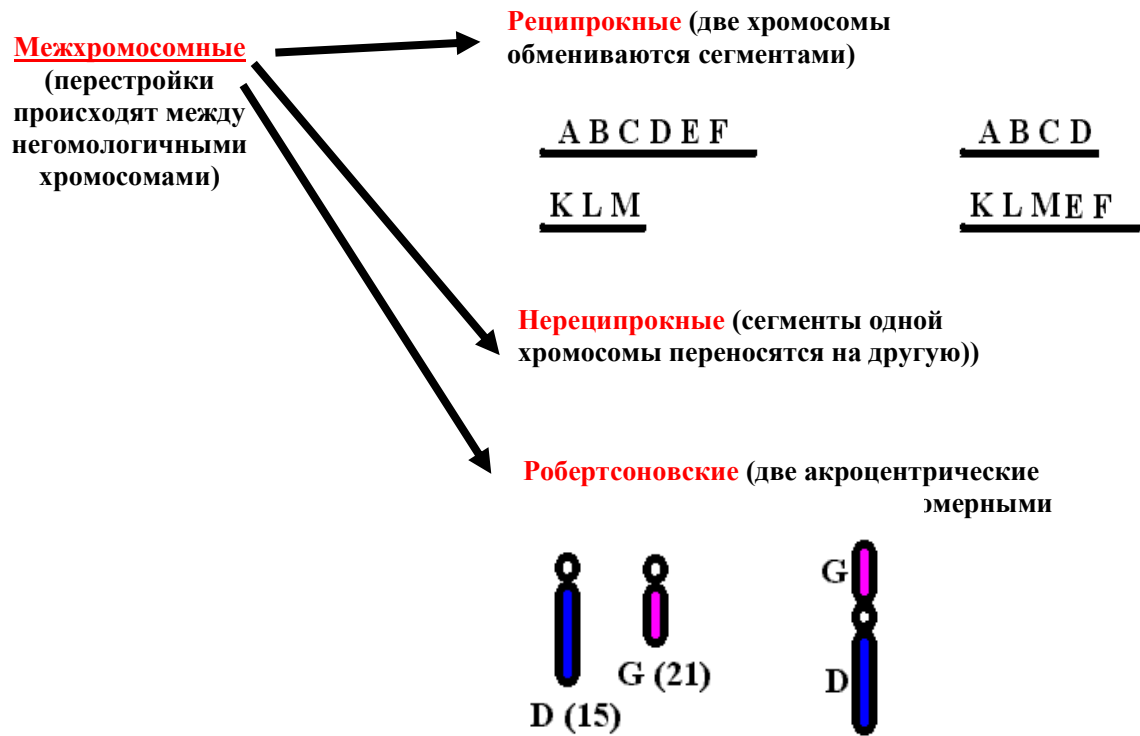


Рис. 9.4. Хромосомные мутации. Механизм возникновения и виды транслокаций.

Мутации классифицируют по уровню их возникновения. В соответствии с уровнями организации наследственного материала различают генные, хромосомные и геномные мутации.

**1. Геномные** (изменения числа хромосом – полиплоидия, гаплоидия, анеуплоидия).

**2. Хромосомные** (изменения структуры хромосом – хромосомные aberrации).

**3. Генные** (изменения структуры генов – молекулы ДНК)

К *геномным мутациям* относятся полиплоидии и гетероплоидии (см. лекцию №8 – хромосомные болезни человека).

Существуют хромосомные и генные мутации. К геномным мутациям относятся также изменения кариотипа (изменение числа хромосом).. *Полиплоидия* — увеличение числа хромосом, кратное гаплоидному набору. В соответствии с этим у растений различают триплоиды ( $3n$ ), тетраплоиды ( $4n$ ) и т. д. В растениеводстве известно более 500 полиплоидов (сахарная свекла, виноград, гречиха, мята, редис, лук и др.). Все они выделяются большой вегетативной массой и имеют большую хозяйственную ценность. Большое многообразие полиплоидов наблюдается в цветоводстве: если одна исходная форма в гаплоидном наборе имела 9 хромосом, то культивируемые растения этого вида могут иметь 18, 36, 54 и до 198 хромосом. Полиплоиды пблучают в результате воздействия на растения температуры, ионизирующей радиации, химических веществ (колхицин), которые разрушают веретено деления клетки. У таких растений гаметы диплоидны, а при слиянии с гаплоидными половыми клетками партнера в зиготе возникает триплоидный набор хромосом ( $2n + n = 3n$ ). Такие триплоиды не образуют семян, они бесплодны, но высокоурожайны. Четные полиплоиды образуют семена. *Гетероплоидия* —изменение числа Хромосом, не кратное гаплоидному набору. При этом набор хромосом в клетке может быть увеличен на одну, две, три хромосомы ( $2n + 1$ ;  $2n + 2$ ;  $2n + 3$ ) или уменьшен на одну хромосому ( $2n-1$ ). Например, у человека с синдромом Дауна оказывается одна лишняя хромосома по 21-й паре и кариотип такого человека составляет 47 хромосом У людей с синдромом Шерешевского —Тернера ( $2n-1$ ) отсутствует одна X-хромосома и в кариотипе остается 45 хромосом. Эти и другие подобные отклонения числовых отношений в кариотипе человека сопровождаются расстройством здоровья, нарушением психики и телосложения, снижением жизнеспособности и др.

К *хромосомным мутациям* относятся мутации, связанные с нарушением структуры хромосом. Существуют следующие виды перестроек хромосом: отрыв различных участков хромосомы, удвоение отдельных фрагментов, поворот

### 1. Замены:

**Транзиции** - замены аденина (A) на гуанин (G) и тимина (T) на цитозин (C)

**Трансверсии** - замены аденина (A) на цитозин (C) и тимина (T) на гуанин (G)

	Норма		
ДНК	CTG	TTG	GTC
мРНК	GAC	AAC	CAG
Белок	лей	фен	вал

	Мутация		
ДНК	CTG	TGG	GTC
мРНК	GAC	ACC	CAG
Белок	лей	трп	вал

### 2. Делеции (выпадения) нуклеотидов

	Норма		
ДНК	CTG	TTG	GTC
мРНК	GAC	AAC	CAG
Белок	лей	фен	вал

	мутация		
ДНК	CTG		GTC
мРНК	GAC		CAG
Белок	лей	-	вал

### 3. Инверсии (перевороты) нуклеотидов

	Норма		
ДНК	CTG	TTG	GTC
мРНК	GAC	AAC	CAG
Белок	лей	фен	вал

	мутация		
ДНК	CTG	GTT	GTC
мРНК	GAC	CAA	CAG
Белок	лей	вал	вал

### 4. Инсерции (вставки) нуклеотидов

	Норма		
ДНК	CTG	TTG	GTC
мРНК	GAC	AAC	CAG
Белок	лей	фен	вал

	мутация		
ДНК	CTG	TTG	A GTC
мРНК	GAC	AAC	TCA
Белок	лей	фен	сер

### 5. Динамические мутации – экспансия (накопление)

**тринуклеотидных повторов** – CTG, CAG, CGG – хоря

**Гентингтона, миотоническая дистрофия, синдром ломкой X-хромосомы и др.**

Рис. 9.5. Классификация генных мутаций.



участка хромосомы на  $180^\circ$  или присоединение отдельного участка хромосомы к другой хромосоме (см. рис. 8.2., рис. 9.4.). Подобное изменение влечет за собой нарушение дозы и функции генов в хромосоме, а также приводят к нарушению наследственных свойств организма, а иногда вызывают его гибель. Различают следующие типы хромосомных нарушений: делеции (утрата части хромосомы), дупликации (удвоение участка хромосомы), транслокации (перестройки), инверсии, инсерции.

К *генным мутациям* (рис.9.5.) относятся изменения структуры гена, воспроизводимые в последовательных циклах репликации ДНК и передающиеся потомству в виде новых вариантов признаков. *Генные мутации* затрагивают структуру самого гена. Поскольку ген является элементарной единицей функции наследственного материала и отвечает за определенный признак, его изменения приводят к новым вариантам признака. Поэтому ген является элементарной единицей изменчивости.

Причина генных мутаций - нарушение последовательности нуклеотидов в молекуле ДНК, которое может быть связано с *заменой* одних нуклеотидов на другие (составляют 20% спонтанно возникающих генных нарушений), включением в состав ДНК новых нуклеотидов (*инсерции*) или выпадением ряда нуклеотидов из ДНК (*делеции*), изменением последовательности нуклеотидов в молекуле ДНК (*инверсии*). Все эти мутации могут приводить к изменению последовательности аминокислот в молекуле синтезируемого белка (либо за счет изменения генетического кода (замены), либо за счет сдвига рамки считывания (делеции и инсерции, не кратные 3).

В результате генных мутаций изменяется синтез соответствующих белков, что может привести либо к повышению активности, либо к ее потере, но может и не наблюдаться изменения признака. Большинство генных мутаций дают отрицательный эффект и обуславливают выпадение какой-либо ферментативной активности. Степень проявления дефекта может быть различной. У диплоидов мутации возникают только в одном из двух аллелей, в результате чего возникают гетерозиготы, фенотип которых определяется взаимодействием аллелей.

В настоящее время известно, что ядерная ДНК передает не всю генетическую информацию. ДНК также содержится в митохондриях и пластидах, в частности в хлоропластах. Эти ДНК подвержены мутациям, которые приводят к изменениям последовательности аминокислот в структурных белках. Изменение признака может происходить и в цитоплазме клетки и передаваться дочерним (к примеру, передача каппа-частиц у туфельки при конъюгации). Передача информации через цитоплазму клетки называется цитоплазматической наследственностью. При помощи отводков и прививок удастся сохранить возникшие

изменения у растений и они оказываются стойкими, наследственными. Большинство мутаций рецессивны.

Частота возникновения отдельных спонтанных мутаций выражается числом гамет одного поколения, несущих определенную мутацию, по отношению к общему числу гамет. В природных условиях мутация каждого отдельного гена происходит очень редко. У организма имеется несколько тысяч генов, так что общее число мутаций оказывается значительным. Частоты, определенные для некоторых видов растений, животных и микроорганизмов, оказываются близкими по величине и составляют в среднем от  $10^{-4}$  до  $10^{-9}$  (т.е. от 1 из 100 тыс. или 1 из 10 млрд гамет несет вновь возникшую мутацию в определенном локусе). Частота мутаций для различных генов неодинакова: например, у отдельных генов растений она достигает  $10^{-2}$ . Общая частота мутаций колеблется у разных видов организмов от нескольких процентов (одноклеточные водоросли, низшие грибы, бактерии) до 25% (дрозофила) всех гамет одного поколения. Такая частота мутаций свойственна спонтанным мутациям. Экспериментально частоту мутаций можно увеличить. В природных условиях мутации происходят при резких изменениях температуры, под влиянием ультрафиолетового излучения и по другим причинам. Однако в большинстве случаев истинные причины мутаций остаются неизвестными. В настоящее время разработаны методы, позволяющие увеличить число мутаций искусственными средствами. Впервые резкое повышение числа возникающих наследственных изменений было получено под влиянием лучей Рентгена. В экспериментальных условиях число мутаций увеличивают за счет изменения температуры в пределах, переносимых организмом; при действии на репродуктивные клетки рядом химических веществ (например, пестицидов) и различных видов облучения (лучи Рентгена, электроны, ультрафиолетовые и  $\gamma$ -лучи, нейтроны).

Генные мутации приводят к появлению моногенных наследственных болезней. У человека около 4,5 тыс. заболеваний связаны с генными мутациями.

Популяции человека характеризуются определенной частотой и спектром различных мутаций. Это характеризует генетический груз популяции – т.е. часть наследственной изменчивости, характеризующуюся появлением менее приспособленных особей (больные наследственными заболеваниями или носители мутантных генов), которая при определенных условиях подвергается избирательному действию естественного отбора. По образному выражению академика Холдейна «Генетический груз – это цена, которую вынуждена платить популяция за право эволюционировать». Естественно, генетический груз включает как уже циркулирующие в популяции мутации, передающиеся из поколения в поколения, так и новые мутации. По оценкам отечественных генетиков (Бочков Н.П., 1995) величина

генетического груза в европейских популяциях и в России составляет 5,5%, из которых 1% - моногенные наследственные болезни, 0,5% - хромосомные болезни, 3-4% - многофакторные болезни с выраженным генетическим компонентом.

Важно отметить, что спектр и частоты различных мутаций, а также нейтральных полиморфизмов, характеризуются выраженной популяционной специфичностью. Т.е. они характерны для населения определенного региона или этноса и существенно отличаются от аналогичных характеристик в других географических регионах.

Методом лечения наследственных моногенных болезней должна стать **генная терапия**, однако лишь в самые последние годы появились реальные предпосылки для ее практического применения. Уже в ближайшем будущем генная терапия займет ведущее место в лечении многих болезней, считавшихся ранее неизлечимыми. Значительно раньше появились эффективные методы традиционной терапии, не изменяющие генотип и направленные на коррекцию метаболических или иммунологических дефектов, возникающих под влиянием мутантных генов. При раннем распознавании болезни с помощью этих методов удастся моделирование нормального фенотипа.

### **Генная терапия**

**Генная терапия** – это метод введения фрагмента ДНК в клетки больного человека с целью замещения функции мутантного гена и лечения наследственных болезней. В конце 60-х годов было показано, что клетки животных и человека способны поглощать экзогенную ДНК и встраивать ее в свой геном, после чего проявляются экспрессия введенных генов, в частности, в виде синтеза отсутствовавших ранее белков и ферментов. Были разработаны методы доставки ДНК в клетки с помощью вирусов и других носителей.

Впервые попытка генной терапии в клинике была предпринята М. Клайном в 1983 году, когда им было осуществлено введение нормального бета-глобинового гена больным бета-талассемией.

Позднее были проведены клинические эксперименты по генотерапии рака. В лейкоциты больных злокачественной меланомой и поздними стадиями рака были введены гены, маркирующие злокачественные клетки (чтобы их могла узнавать иммунная система). У половины больных размеры опухолей уменьшились в два раза и более.

В настоящее время насчитывается более 40 заболеваний, при которых может быть использована генная терапия – от редких форм (недостаточность аденозин -деминиазы) до распространенных, таких как рак, болезни сердечно-сосудистой системы и иммунодефициты. Весьма важно, чтобы

фрагменты ДНК и соответствующие гены были введены в клетки, которые были бы способны к последующему делению (клетки печени, стволовые клетки костного мозга и т.п.). Наиболее сложная проблема – это перенос фрагмента ДНК (гена) в клетку. В большинстве случаев для этих целей используются генетически модифицированные вирусы или вирусные векторы, чаще всего мышинные ретровирусы. Они способны инфицировать любую клетку и вместе с желаемым фрагментом ДНК легко включаются в геном клетки-хозяина ДНК. Из них с помощью генно-инженерных методов удаляются нуклеотиды, ответственные за их размножение, однако введенный с вирусом-вектором ген передается дочерним клеткам при клеточном делении. Однако эти векторы не годятся для введения ДНК-фрагментов в неделящиеся клетки человека, например, в нейроны. Они мало пригодны для переноса генов в клетки, отличающиеся низкой митотической активностью, например, в клетки эпителия дыхательных путей. Эти обстоятельства обусловили поиск других вирусных векторов, среди которых внимание привлекли аденовирусы. Из них также удаляются нуклеотиды, ответственные за репликацию. Аденовирусы могут переносить ДНК в неделящиеся клетки, чем отличаются от ретровирусов. Но в этом случае переносимая аденовирусом ДНК не встраивается в геном клетки хозяина, она остается вне хромосом, хотя и проявляет генную активность. В силу эписомальной локализации она не передается дочерним клеткам. Но с другой стороны, аденовирусные векторы позволяют вводить гены в клетки нервной системы и эпителий дыхательных путей.

В качестве вектора генов используется также вирус простого герпеса - тип 1. Этот вектор легко встраивает экзогенную ДНК в нейроны, клетки печени. Как и другие вирусы-векторы, герпес-вирус подвергается генно-инженерной обработке, ведущей у утрате его способности к размножению (деления части вирусной ДНК).

Наряду с биологическими также применяются физико-химические методы введения экзогенной ДНК в клетки хозяина. Разработана технология микроинъекций ДНК в клетки (миоциты), а также введение генов с помощью липосом.

Методы генной терапии постепенно входят в арсенал современных эффективных методов лечения наследственных заболеваний человека, что особенно важно в тех случаях, когда других возможностей их лечения не существует. Наследственный дефицит гормона роста, проявляющийся выраженной низкорослостью, может быть устранен с помощью генной терапии. Ген гормона роста удалось ввести в миоциты, которые начинали продуцировать этот гормон.

В настоящее время ведутся интенсивные разработки методов генной терапии рака. Одна из возможностей состоит в том, чтобы ввести в опухолевые клетки гены, продуцирующие такие белки, которые позволяют

иммунной системе организма распознавать и уничтожать эти клетки (например, ген интерферона). Другой путь заключается во введении в опухолевые клетки вирусных генов, которые позволяют использовать с лечебными целями противовирусные препараты.

Методы трансплантации тканей, в частности, трансплантация костного мозга, также могут быть отнесены к категории генной терапии. Сочетание возможностей генетики и клинической педиатрии позволит уже в недалеком будущем решать сложнейшие вопросы лечения и профилактики наследственных моногенных болезней. Современная медицинская и клиническая генетика – это пример единения науки и практики. Исследования, еще недавно представляющиеся сугубо теоретическими, в считанные годы получают реальный практический выход на благо здоровья настоящего и будущих поколений.

**РОЛЬ НАСЛЕДСТВЕННЫХ И СРЕДОВЫХ ФАКТОРОВ В  
ФОРМИРОВАНИИ ФЕНОТИПА. МОДИФИКАЦИОННАЯ  
ИЗМЕНЧИВОСТЬ. НОРМА РЕАКЦИИ ПРИЗНАКА.  
ЭКСПРЕССИВНОСТЬ, ПЕНЕТРАНТНОСТЬ. ФЕНОКОПИИ И  
ГЕНОКОПИИ**

Каждый организм развивается и обитает в определенной среде, испытывая на себе действие ее факторов, способных изменять морфологические и физиологические свойства организмов, т.е. их фенотип. Напомним, что *фенотип* – это совокупность всех признаков и свойств организма, реализуемых в определенных условиях среды. Изменчивость организмов, возникающая под влиянием факторов внешней среды и не затрагивающая генотипа, называется модификационной. Фенотипические изменения, вызываемые факторами окружающей среды, называются модификациями.

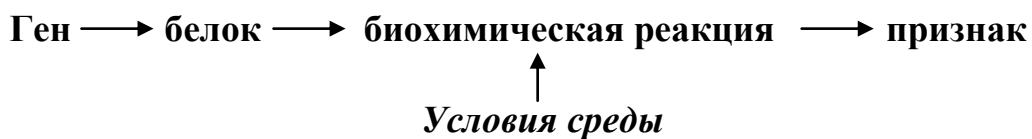
**Модификационная изменчивость отличается следующими особенностями:**

1. Модификационная изменчивость называется фенотипической, так как под влияние внешней среды *происходит изменение фенотипа, генотип остается неизменным, модификации не наследуются* (рис.10.1). Классическим примером изменчивости признаков под действием факторов внешней среды является разнолистность у стрелолиста: погруженные в воду листья имеют лентовидную форму, листья, плавающие на поверхности воды - округлую, а находящиеся в воздушной среде - стреловидные. Если же все растение оказывается полностью погруженным в воду, его листья только лентовидные. Под действием ультрафиолетовых лучей у людей (если они не альбиносы) возникает загар в результате накопления в коже меланина, причем у разных людей интенсивность окраски кожи различна. Если же человек лишен действия ультрафиолетовых лучей, изменение окраски кожи у него не происходит. Даже организмы, имеющие один и тот же генотип, могут существенно отличаться друг от друга в зависимости от условий развития и существования (например, однояйцевые близнецы). Все это заставляет рассматривать развитие организма как следствие взаимодействия двух важнейших факторов – реализации генетической программы и влияния факторов среды. Другими словами, генетическая информация определяет возможность развития свойств и признаков организма, которые реализуются в конкретных условиях среды.
2. Модификационная изменчивость *носит групповой или массовый характер*, то есть все особи одного вида, помещенные в одинаковые

условия, приобретают сходные признаки. Например, если сосуд с эвгленами зелеными поместить в темноту, то все они утратят зеленую окраску, если же вновь выставить на свет - все опять станут зелеными. Загар под влиянием ультрафиолета образуется у всех людей. На холоде сосуды сужаются, на коже появляются «мурашки».

3. Модификационная изменчивость является определенной, т.е. всегда соответствует факторам, которые ее вызывают. Так, ультрафиолетовые лучи изменяют окраску кожи человека (так как усиливается синтез пигмента), но не изменяют пропорций тела, а усиленные физические нагрузки влияют на степень развития мышц, а не на цвет кожи. Т.о. модификационные изменения адекватны воздействиям окружающей среды, т.е. имеют приспособительное значение для адаптации организма к условиям среды.
4. Большинство модификаций являются кратковременными, т.е. исчезают при устранении фактора, вызывающего их. Если фактор, вызвавший данное изменение, перестает действовать, то изменение (например, загар, появляющийся под яркими лучами солнца) может исчезнуть.

Возникновение модификаций связано с воздействием условий среды на ферментативные реакции, протекающие в организме:



Однако не следует забывать, что развитие любого признака определяется, прежде всего, генотипом. Вместе с тем, гены определяют возможность развития признака, а его появление и степень выраженности во многом определяется условиями среды. Так, зеленая окраска растений зависит не только от генов, контролирующих синтез хлорофилла, но и от наличия света. При отсутствии света хлорофилл не синтезируется.

Не все признаки могут меняться под влиянием условий среды. В зависимости от этого признаки бывают *пластичными* (цвет кожи, вес, скорость ферментативных реакций, т.е. количественные признаки) и *непластичными* (качественные признаки: цвет волос, цвет глаз, рост, группа крови и т.д.).

Например, деревья различаются по высоте, размеру кроны и т. д. Это связано с тем, что растения со сходным генотипом развиваются в условиях разной влажности, освещенности, состава почвы. Все листья одного дерева имеют одинаковый генотип, однако они отличаются по фенотипу, например по размерам. Частота встречаемости листьев разного размера неодинакова. Как показали наблюдения, наиболее часто встречаются листья со средним

выражением признака. Объясняется это тем, что листья развиваются в различных условиях. Мелкие листья формируются в неблагоприятных условиях, например при плохой освещенности и недостаточной влажности и т.д. Самые крупные листья развиваются в наиболее благоприятных условиях.

Несмотря на то, что под влиянием условий внешней среды пластичные признаки могут изменяться, эта изменчивость не беспредельна. Даже в случае нормального развития признака степень его выраженности различна. Так, на поле пшеницы можно обнаружить растения с крупными колосьями (20 см и более) и очень мелкими (3-4 см). Это объясняется тем, что генотип определяет определенные границы, в пределах которых может происходить изменение признака. *Степень варьирования признака, или пределы модификационной изменчивости, называют нормой реакции.* Как правило, пластичные (количественные) признаки (урожайность, размер листьев, удои коров, яйценоскость кур) имеют более широкую норму реакции, нежели качественные признаки (цвет шерсти, жирность молока, строение цветка, группа крови). Чем шире норма реакции признака, тем больше у организма возможностей для приспособления к условиям среды обитания.

Учение о норме реакции имеет в виду, что хотя проявления генотипа зависят от условий среды, тем не менее они происходят лишь в определенных пределах, ограниченных возможностями данного генотипа (т.е. норма реакции зависит от генотипа). Примером может служить опыт с чистопородными крольчатами одного помета (генотип у всех одинаковый). Часть крольчат кормят обильно, другие получают минимальный рацион. Выросших животных различают по величине. Но как бы обильно не кормили кроликов I группы, они остаются не больше определенной величины. Напротив, как бы плохо не кормили кроликов II группы, если они выживут, они тоже будут не меньше определенной величины. Крайние величины роста и веса зависят от нормы реакции того генотипа, который получен от родителей. (Это свойство используется, например, при отборе детей в группы волейбола или баскетбола, когда учитывают рост родителей).

Знание нормы реакции имеет большое значение для практики. Модификационная изменчивость многих признаков растений, животных и человека подчиняется общим закономерностям. Эти закономерности выявляются на основании анализа проявления признака у группы из  $n$  особей, из которой называется *выборочной совокупностью*. Каждое конкретное значение изучаемого признака называют *вариантой* и обозначают буквой  $v$ . Частота встречаемости отдельных вариантов обозначается буквой  $p$ . Количественные признаки можно измерить и построить *вариационный ряд*, в котором особи располагаются по возрастанию показателя изучаемого признака. На основании вариационного ряда строится *вариационная кривая* - графическое отображение частоты встречаемости каждой варианты (рис. 10.2.).



Знание закономерностей модификационной изменчивости имеет большое практическое значение, поскольку позволяет предвидеть и заранее планировать степень выраженности многих признаков организмов в зависимости от условий внешней среды.

Итак, необходимо еще раз подчеркнуть:

- норма реакции организма определяется генотипом;
- различные признаки отличаются пределами изменчивости под влиянием внешних условий;
- модификационная изменчивость в естественных условиях носит приспособительный характер.

Знания о закономерностях модификационной изменчивости широко используют на практике. Известно, что фенотип особи - это результат взаимодействия генотипа и факторов внешней среды. Следовательно, изменение условий среды может влиять на фенотип. Например, при соблюдении норм кормления и содержания животных можно увеличить их продуктивность, получить от них больше шерсти, мяса, молока. За счет дополнительного освещения растений в теплицах, улучшения минерального питания, водоснабжения можно повысить урожаи овощей.

Таким образом, любой признак обусловлен генотипом, но его фенотипическое проявление может изменяться под влиянием условий среды в пределах нормы реакции по этому признаку. Степень фенотипического проявления данного генотипа называется *экспрессивностью*. Влияние средовых факторов на экспрессивность признака можно продемонстрировать на примере усиления пигментации кожи у человека при УФ-облучении. Другой пример – тяжесть течения большинства болезней (экспрессивность) во многом зависит от условий ухода за больным человеком. При адекватном лечении, хорошем питании и т.д. любая болезнь протекает более легко. Примером может служить легкое течение фенилкетонурии при своевременной постановке диагноза и применении безфенилаланиновой белковой пищи (экспрессивность признака снижена благодаря созданию определенных условий).

Другим показателем фенотипического проявления является *пенетрантность* – т.е. частота фенотипического проявления генотипа или гена. Пенетрантность – это процент особей, у которых генотип проявился в фенотипе, по отношению к общему числу особей, у которых данный генотип мог бы проявиться. Например, если из 100 человек с какой-то мутацией заболевание проявляется у всех 100, то пенетрантность равна 100% ( $P = (\text{генотип проявился} / \text{генотип имелся}) \cdot 100\%$ ). В остальных случаях говорят о неполной пенетрантности и указывают ее процент (например, пенетрантность подагры для женщин – 0% (женщины не болеют), а для мужчин – 20% (т.е. из всех мужчин с наличием данного генотипа заболеют подагрой только 20%)).

Термины экспрессивность и пенетрантность введены в 1927 г. Советским ученым-генетиком Тимофеевым-Рессовским. Обе закономерности необходимо иметь в виду при изучении наследственности у человека. Следует помнить, что гены, контролирующие патологические признаки, могут иметь различную пенетрантность и экспрессивность, т.е. проявляться не у всех носителей аномального генотипа, а у болеющих степень тяжести болезни может быть различной в зависимости от условий.

Из рассмотренных примеров становится ясно, что экспрессивность и пенетрантность имеют большое значение для медицины, поскольку отягощенная наследственная предрасположенность не обязательно должна проявиться, что особенно характерно для многофакторных заболеваний, которых большинство. Значит, многие болезни можно либо предупредить, либо не допустить тяжелого течения заболевания. Это – первостепенная задача врачей. Т.о. наследственность и среда играют большую роль в патогенезе любого заболевания человека.

Под действием факторов внешней среды признак может меняться и копировать признаки, характерные для другого генотипа, что обозначается термином *фенокопия*. Примером фенокопий являются врожденные пороки развития (ВПР).

В зависимости от причины возникновения все ВПР делят на наследственные (45%) и экзогенные (55%). Наследственными называют пороки, вызванные изменением генов или хромосом в гаметах родителей, в результате чего зигота с самого возникновения несет мутацию. Генетические факторы начинают проявляться на определенных этапах эмбрионального развития путем нарушения биохимических, клеточных, тканевых и органных процессов.

Экзогенными называют пороки развития, возникшие под влиянием тератогенных факторов, которые действовали на плод во время эмбрионального развития и нарушали развитие органов и тканей. Такими факторами могут быть лекарства, пищевые добавки, вирусы, химические соединения, никотин, алкоголь и др. Выраженное тератогенное действие показано для вируса краснухи. Очень страшное событие произошло в 1959-1961 гг. в ряде стран Запада, когда после применения беременными женщинами талидомида (обезболивающий препарат) родилось несколько десятков тысяч детей с тяжелыми ВПР. (другой пример – ртуть в рыбе в японском озере и появление детей с ВПР у жителей деревни, которые питались этой рыбой).

Поскольку средовые экзогенные факторы в конечном итоге оказывают влияние на те же биохимические процессы, что и мутации, механизмы возникновения ВПР при их действии такие же, как и при генетических причинах. В результате появляются дети со сходными фенотипическими проявлениями ВПР – фенокопии. При рождении ребенка с ВПР очень трудно

сразу установить истинную причину патологии без специальных исследований.

*Генокопии* – это одинаковое фенотипическое проявление мутаций разных генов. Примером генокопий могут служить различные виды гемофилии. Клинически заболевание проявляется снижением свертываемости крови, но причиной этого могут быть мутации в разных генах (фактора VIII (гемофилия А) или фактора IX (гемофилия Б)). Другой пример – мышечная дистрофия Дюшенна и Беккера, которые обусловлены мутациями в разных генах, но клиническая картина заболеваний очень сходная.

## Глава 12

### МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА. ЧЕЛОВЕК КАК ОБЪЕКТ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА: ГЕНЕАЛОГИЧЕСКИЙ, БЛИЗНЕЦОВЫЙ, ДЕРМАТОГЛИФИЧЕСКИЙ, БИОХИМИЧЕСКИЙ, МЕТОДЫ ГЕНЕТИКИ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

Одним из разделов генетики является генетика человека или антропогенетика, изучающая закономерности наследственности и изменчивости у человека в норме и при патологии. Термин «антропогенетика» был введен Гальтоном. Разделом антропогенетики является медицинская генетика, изучающая закономерности наследственности и изменчивости при патологии у человека, т.е. причины возникновения заболеваний, характер наследования заболеваний в семье, распространение заболевания в популяции.

Генетика человека – одна из важнейших основ теоретической медицины. Одним из основоположников медицинской генетики является выдающийся советский невропатолог С.Н. Давиденков (1880-1961). Он впервые применил методы генетики в клинической практике для анализа ряда наследственных заболеваний, часть из которых была описана впервые. Важной заслугой С.Н. Давиденкова является разработка методов молекулярно-генетического консультирования и первое применение их в нашей стране.

Выдающимися учеными нашей страны в области генетики человека являются:

1. Н.П.Бочков (Москва)
2. Н.П.Кулешов (Москва)
3. Е.Н.Гинтер (Москва)
4. В.С.Баранов, Шварц (С-Петербург)
5. В.П.Пузырев (Томск)
6. Э.К.Хуснутдинова (Уфа).

Объектом изучения антропогенетики является человек. Важной особенностью человека, как представителя животного мира, является его не только биологическая, но и социальная сущность (биосоциальная). Биологическая сущность человека определяется местом человека в живой природе.

Определим место человека в живой природе.

Империя	Клеточные формы
Надцарство	Эукариоты
Царство	животные
подцарство	многоклеточные
Тип	Хордовые
Класс	Млекопитающие
Отряд	Приматы
Вид	Человек разумный (Homo sapiens)

В соответствии с этой классификацией человек обладает всеми свойствами, которые присущи представителям того или иного уровня организации. Физиологические, морфологические, патологические признаки у человека изучены гораздо детальнее, чем у любого другого организма, даже такого классического объекта генетики, как дрозофила.

Социальная, т.е. общественная сущность, определяется человеческим сознанием, поведением в обществе, культурой, т.е. характеризуется особенностями взаимосвязи людей между собой. Социальную сущность человека изучает самостоятельная наука – социология.

Основные закономерности наследственности, установленные для живых организмов, универсальны и в полной мере справедливы и для человека. Вместе с тем как объект генетических исследований человек имеет свои преимущества и недостатки, связанные с биологической и социальной сущностью.

**1. Связанные с биологическими особенностями:**

- 1) Для людей невозможно планировать искусственные браки. Однако эта трудность преодолима благодаря прицельной выборке из большого числа брачных пар тех, которые соответствуют целям данного генетического исследования.
- 2) Сложный кариотип - большое число хромосом –  $2n=46$  и генов (30-40 тыс.). Но разработка новейших методов работы с ДНК, метода гибридизации соматических клеток и некоторых других методов устраняет эту трудность.
- 3) Низкая плодовитость из-за небольшого числа потомков (в большинстве семей рождается по 2 – 3 ребенка). Но в больших популяциях можно выбрать семьи с интересующими исследователя признаками. Кроме того, в некоторых семьях определенные признаки прослежены на протяжении многих поколений. В таких случаях возможен генетический анализ.
- 4) Еще одна трудность связана с длительностью смены поколений у человека. Одно поколение у человека занимает в среднем 30 лет. И,

следовательно, генетик не может наблюдать более одного-двух поколений.

- 5) *Позднее половое созревание (14-15 лет)*
- 6) *Для человека характерен большой генотипический и фенотипический полиморфизм.* Проявление многих признаков и болезней в сильной степени зависят от условий внешней среды. Понятие «среда» для человека более широкое по сравнению с растениями и животными. Наряду с питанием, климатом и другими абиотическими и биотическими факторами, средой для человека являются и социальные факторы, трудно изменяемые по желанию исследователя. Вместе с тем, человека как генетический объект широко изучают врачи всех специальностей, что нередко помогает установить различные наследственные отклонения.
- 7) *Невозможность создания полностью одинаковых условий для жизни всего потомства.*

### **2. Связанные с социальной сущностью:**

- 1). Невозможно проводить эксперименты.
- 2). По этим причинам невозможно не возможно произвести гибридологический анализ.
- 3). Необходимо считаться с особенностями культуры и традициями народа, их обычаями. (например: кастовые предрассудки богатых жениться на бедной, национальные и т.д.)

Т.о. , человек - относительно неудобный объект для генетических исследований. Но несмотря на все эти трудности генетика человека на сегодня изучена лучше, чем генетика многих других организмов.

### **Основные методы изучения генетики человека**

1. Генеалогический
2. Близнецовый
3. Популяционно-статистический
4. Биохимический
5. Онтогенетический
6. Дерматоглифический
7. Цитогенетический
8. Молекулярно-генетический и биологический
9. Метод математического моделирования
10. Генетики соматических клеток

В настоящее время интерес и внимание к изучению генетики человека активно возрастает. Глобальная международная программа «Геном человека» имеет своей задачей изучение генома человека на молекулярном уровне. Для ее решения используются современные методы генетики и медицины.

Генетика человека изучает явления наследственности и изменчивости в популяциях людей, особенности наследования признаков в норме и их изменения под действием условий окружающей среды. Целью медицинской генетики является разработка методов диагностики, лечения и профилактики наследственной патологии человека.

**Задачами генетики человека являются:**

- 1) определение полной нуклеотидной последовательности ДНК генома человека, локализации генов и создание их банка;
- 2) ранняя диагностика наследственной патологии путем совершенствования методов пренатальной (дородовой) и экспресс-диагностики;
- 3) широкое внедрение медико-генетического консультирования;
- 4) разработка методов генной терапии наследственных заболеваний на основе генной инженерии;
- 5) выявление генетически опасных факторов внешней среды и разработка методов их нейтрализации.

**Генеалогический метод**

Это метод составления родословной. Изучает наследственные признаки в ряду поколений. Генеалогия – это родословная человека.

Генеалогический метод был введен в науку в начале 19 века Гальтоном.

**Возможности генеалогического метода:**

Метод позволяет установить:

1. Является ли данный признак наследственным.
2. Определить тип и характер наследования.
3. Выявить гетерозиготное носительство.
4. Пенетрантность и экспрессивность.
5. Взаимодействие генов. Сцепление генов.
6. Изучение интенсивности мутационного процесса.
7. Возможность прогнозировать потомство.

**Этапы генеалогического анализа:**

1. Сбор данных о всех родственниках обследуемого (анализ)
2. Построение родословной
3. Анализ родословной и выводы.

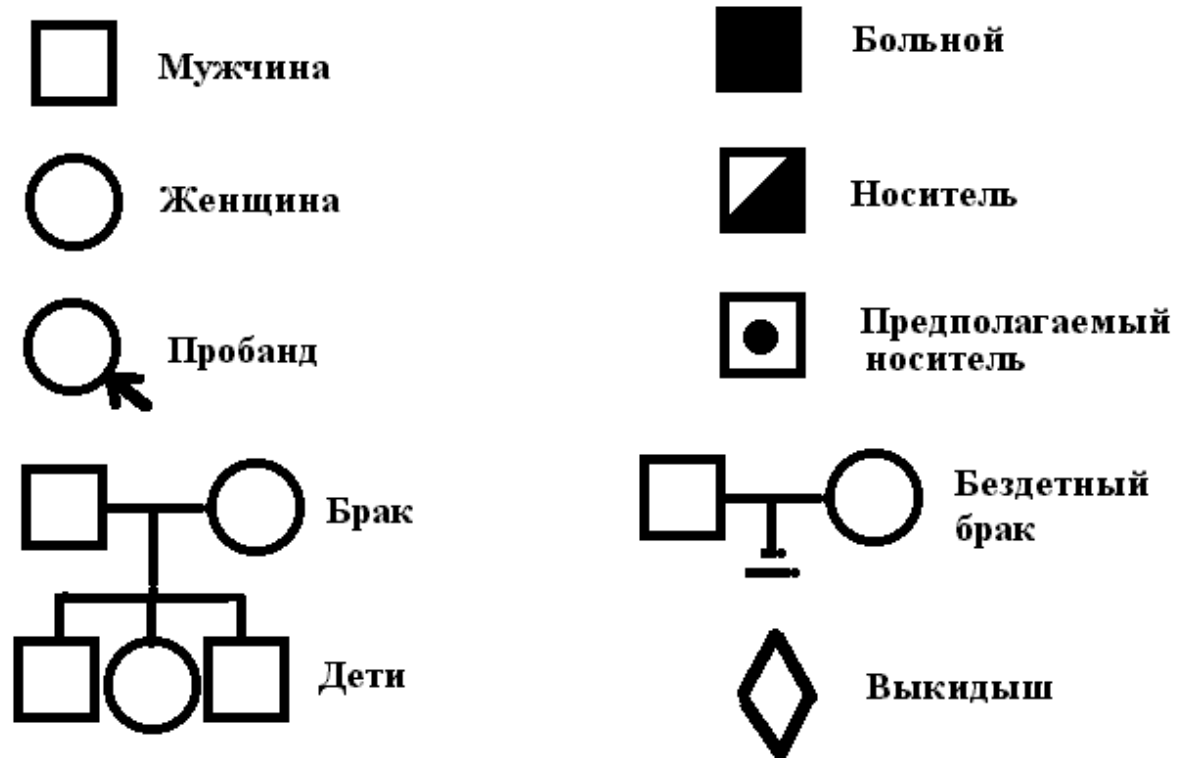


Рис. 11.1. Условные обозначения, используемые при составлении родословных.



При составлении родословной исходным является человек, который обратился в консультацию, для которого изучают родословную – это **пробанд**. Обычно это больной или носитель определенного признака. При составлении родословной используют условные обозначения, предложенные Юстом в 1931 г (рис.11.1).

#### Правила составления родословной:

1. Члены одного поколения должны быть на одной горизонтальной черте. В каждой семье sibсы располагаются слева направо в порядке рождаемости. Члены одного поколения обозначаются арабскими цифрами 1,2,3,...(1,2,3)
2. Для составления родословной необходима информация как минимум о 3-х поколениях. Поколения обозначаются римскими цифрами.

### **Основные типы наследования признаков у человека**

**Аутосомно-доминантный** тип наследования (рис.11.2) характеризуется следующими признаками:

- 1) больные в каждом поколении;
- 2) больной ребенок у больных родителей;
- 3) болеют в равной степени мужчины и женщины;
- 4) наследование идет по вертикали и по горизонтали;
- 5) вероятность наследования 100%, 75% и 50%.

Следует подчеркнуть, что вышеперечисленные признаки аутосомно-доминантного типа наследования будут проявляться только при полном доминировании. Так наследуется у человека полидактилия (шестипалость), веснушки, курчавые волосы, карий цвет глаз и др. При неполном доминировании у гибридов будет проявляться промежуточная форма наследования. При неполной пенетрантности гена больные могут быть не в каждом поколении.

**Аутосомно-рецессивный тип наследования** (рис.11.2) характеризуется следующими признаками:

- 1) больные не в каждом поколении;
- 2) у здоровых родителей больной ребенок;
- 3) болеют в равной степени мужчины и женщины;
- 4) наследование идет преимущественно по горизонтали;
- 5) вероятность наследования 25%, 50% и 100%.

Чаще всего вероятность наследования болезни аутосомно-рецессивного типа составляет 25% , так как вследствие тяжести заболевания такие больные либо не доживают до детородного возраста,

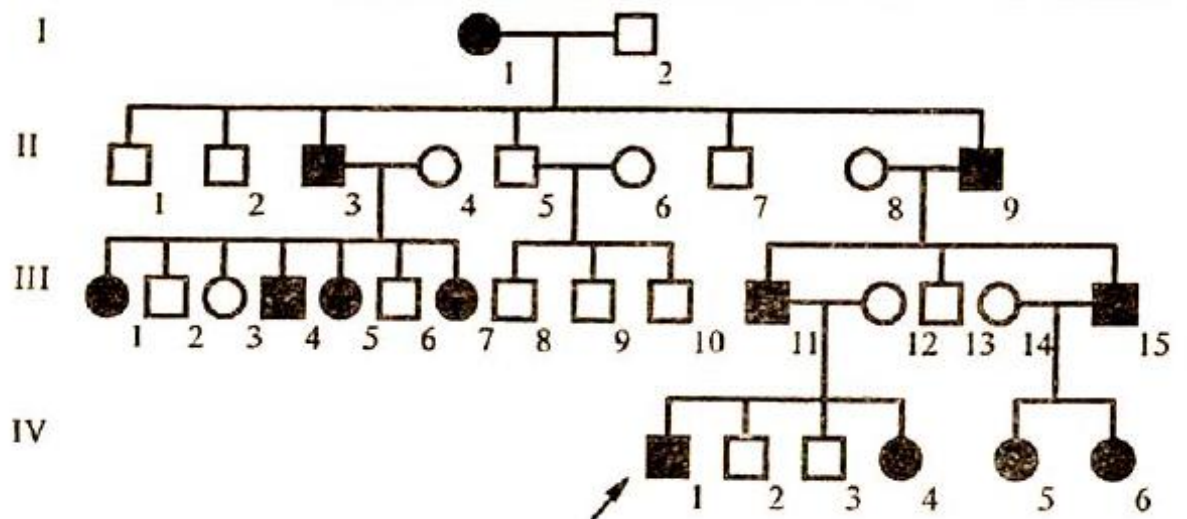


Рис. 11.2. Пример родословной с аутосомно-доминантным типом наследования.

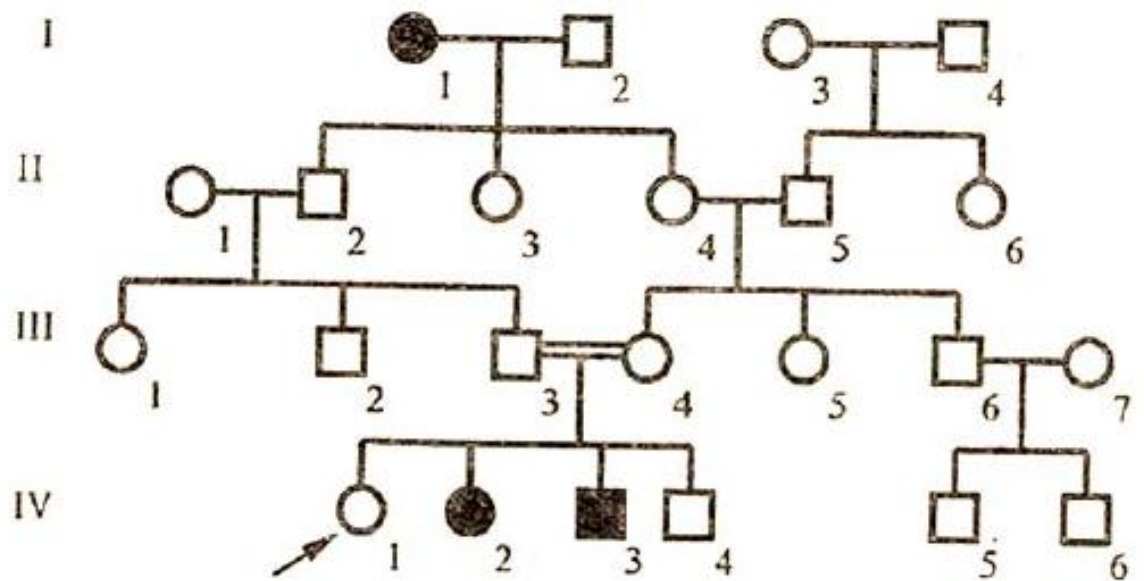


Рис. 11.3. Пример родословной с аутосомно-рецессивным типом наследования.

либо не вступают в брак. Так наследуется у человека фенилкетонурия, серповидно-клеточная анемия, голубой цвет глаз и др.

### ***Сцепленный с полом рецессивный тип наследования*** (рис.11.3)

характеризуется следующими признаками:

- 1) больные не в каждом поколении;
- 2) у здоровых родителей больной ребенок;
- 3) болеют преимущественно мужчины;
- 4) наследование идет в основном по горизонтали;
- 5) вероятность наследования 25% от всех детей и 50% у мальчиков.

Так наследуются у человека гемофилия, дальтонизм, наследственная анемия, мышечная дистрофия и др.

### ***Сцепленный с полом доминантный тип наследования*** (рис.11.4)

сходен с аутосомно-доминантным, за исключением того, что мужчина передает этот признак всем дочерям (сыновья получают от отца Y-хромосому, они здоровы). Примером такого заболевания является особая форма рахита, устойчивая к лечению витамином В.

### ***Голандрический тип наследования*** (рис.11.5) характеризуется следующими признаками:

- 1) больные во всех поколениях;
- 2) болеют только мужчины;
- 3) у больного отца больны все его сыновья;
- 4) вероятность наследования 100% у мальчиков.

Голандрические признаки не имеют существенного значения в наследственной патологии человека. По голандрическому типу у мужчин наследуются ихтиоз (шелушение кожи) кожи, гипертрихоз (избыточный рост волос на ушных раковинах и наружных слуховых проходах), перепонки между пальцами на ногах и др.

## **Близнецовый метод изучения генетики человека**

Метод введен в медицинскую практику Ф. Гальтоном в 1876 г. Он позволяет определить роль генотипа и среды в проявлении признаков. Суть метода заключается в сравнении проявления признаков в разных группах близнецов при учете сходства и различия их генотипов.

Различают моно- и дизиготных близнецов. Монозиготные (однойяцевые) близнецы развиваются из одной оплодотворенной яйцеклетки. Монозиготные близнецы имеют совершенно одинаковый генотип и, если они отличаются фенотипически, то это обусловлено воздействием факторов внешней среды.

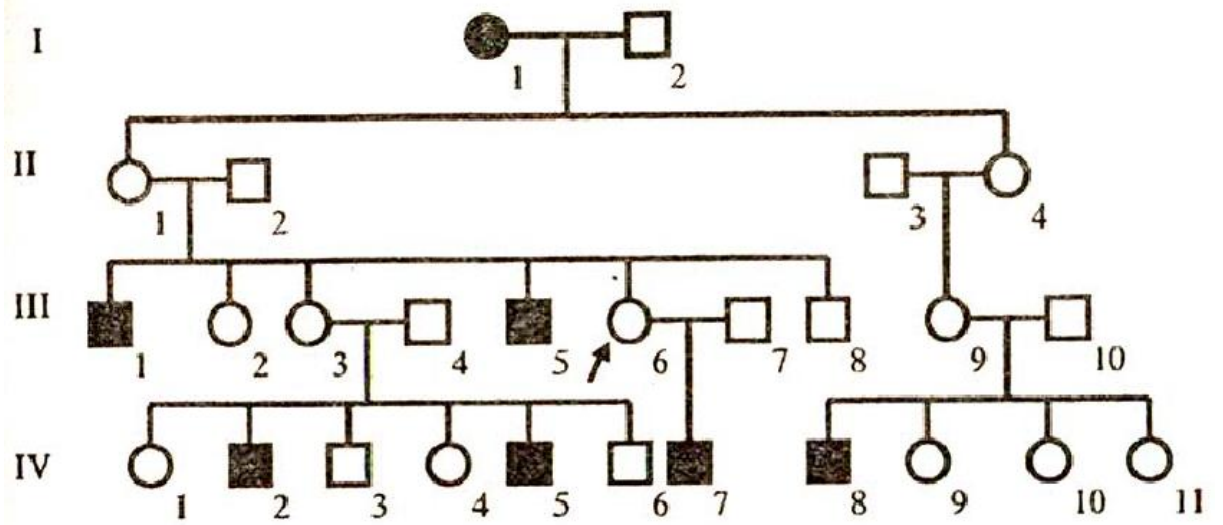


Рис. 11.4. Пример родословной сцепленного с X-хромосомой рецессивного типа наследования.

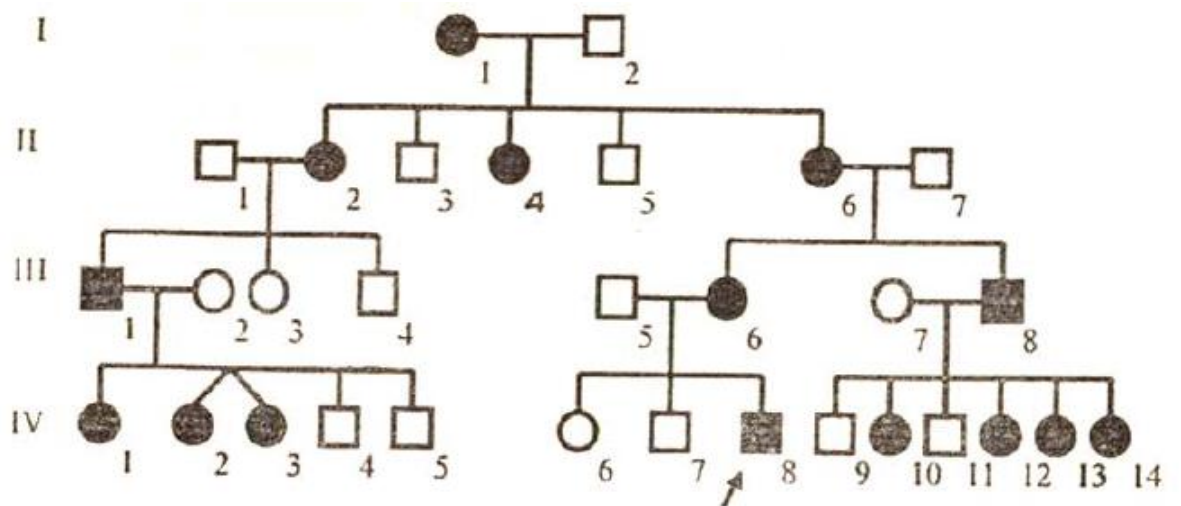


Рис. 11.5. Родословная сцепленного с X-хромосомой доминантного типа наследования.

Дизиготные (двуяйцевые) близнецы развиваются после оплодотворения сперматозоидами нескольких одновременно созревших яйцеклеток. Близнецы будут иметь разный генотип и их фенотипические различия обусловлены как генотипом, так и факторами внешней среды.

Монозиготные близнецы имеют большую степень сходства по признакам, которые определяются в основном генотипом. Например, монозиготные близнецы всегда однополы, у них одинаковые группы крови по разным системам (ABO, RH, MN и др.)» одинаковый цвет глаз, однотипны дерматоглифические показатели на пальцах и ладонях и др. Эти фенотипические признаки и используются в качестве критериев диагностики зиготности близнецов.

Процент сходства группы близнецов по изучаемому признаку называется конкордантностью, а процент различия – дискордантностью (рис.11.6). Так как монозиготные близнецы имеют одинаковый генотип, то конкордантность их выше, чем у дизиготных.

Генетическая предрасположенность к наследственным и многофакторным заболеваниям определяется с помощью близнецового метода следующим образом:

1. Если заболевание обусловлено только наследственными факторами, то КМБ=100%, КДБ=25-50%.
2. При МФЗ – низкий уровень конкордантности для МЗБ и ДЗБ.
3. КМБ=КДБ – ведущая роль среды.

Для оценки роли наследственности и среды в развитии того или иного признака используют формулу Хольцингера (рис.11.7):

где  $H$  – доля наследственности,

$C_{MZ}$  – конкордантность монозиготных близнецов,

$C_{DZ}$  – конкордантность дизиготных близнецов.

При  $H=100\%$  признак полностью определяется наследственным компонентом. При  $H=0$  – средовым. При  $H=50\%$  – одинакова роль наследственности и среды (МФЗ).

### **Биохимический метод**

Основан на изучении активности ферментных систем (либо по активности самого фермента, либо по количеству конечных продуктов реакции, катализируемой данным ферментом). Они позволяют выявлять генные мутации – причины болезней обмена веществ (например, фенилкетонурия, серповидно-клеточная анемия).

**Конкордантность** – процент сходства группы близнецов по изучаемому признаку.

**Дискордантность** – процент различия группы близнецов по изучаемому признаку

$$K = \frac{\text{число пар с 2 признаками}}{\text{число пар с 2 и 1 признаками}} \cdot 100\%;$$

Где К – конкордантность.

Рис. 11.6.Определение конкордантности близнецов.

$$H = \frac{KM\% - KD\%}{100\% - KD\%}$$

Где Н – доля наследственности; КМБ% - конкордантность монозиготных близнецов; КДБ% - конкордантность дизиготных близнецов.

Рис. 11.7.Формула Хольцингера.

С помощью биохимических нагрузочных тестов можно выявлять гетерозиготных носителей патологических генов, например, фенилкетонурии. Исследуемому человеку вводят внутривенно определенное количество аминокислоты фенилаланина и через равные промежутки времени определяют его концентрацию в крови. Если человек гомозиготен по доминантному гену (АА), то концентрация фенилаланина в крови довольно быстро возвращается к контрольному уровню (определяется до введения фенилаланина), а если он гетерозиготен (Аа), то снижение концентрации фенилаланина идет вдвое медленнее.

Аналогично проводятся тесты, выявляющие предрасположенность к сахарному диабету, гипертонии и др. болезням.

### Методы рекомбинантной ДНК

Эти методы позволяют анализировать фрагменты ДНК, находить и изолировать отдельные гены и сегменты генов и устанавливать в них последовательность нуклеотидов.

**Метод клонирования ДНК** позволяет изолировать отдельные гены или их части, транскрибировать (создавать их копии) и транслировать изолированные гены.

Это стало возможным благодаря открытию ферментов-рестриктаз. Эти ферменты опознают специфическую олигонуклеотидную последовательность в двухнитевой ДНК и разрезают ее в данном сайте (месте) (см. лекцию 8). Разные рестриктазы распознают различные последовательности нуклеотидов и разрезают ДНК в разных сайтах.

**Гибридизация нуклеиновых кислот.** При этом методе линейные отрезки двухцепочечной ДНК подвергают тепловой обработке и получают одноцепочечные фрагменты (денатурирование). Денатурированную ДНК инкубируют при таких условиях ( $t - 37^{\circ}\text{C}$ ), когда происходит гибридизация, т.е. взаимное распознавание двух комплементарных нитей посредством спаривания азотистых оснований. Часто для идентификации порядка нуклеотидов используют в качестве «зонда» одну радиоактивную нить ДНК. Можно идентифицировать как полностью, так и частично гомологичные последовательности. Специфичность гибридизации нуклеиновых кислот позволяет обнаружить единственный ген среди десятков тысяч. Различные модификации этого метода позволяют в клинике анализировать очень малые количества ДНК, взятые у больного.

Для широкого применения в практическом здравоохранении методов рекомбинантной ДНК необходимо создание библиотек радиоактивных зондов всех последовательностей ДНК генома человека, что теперь успешно выполняют.

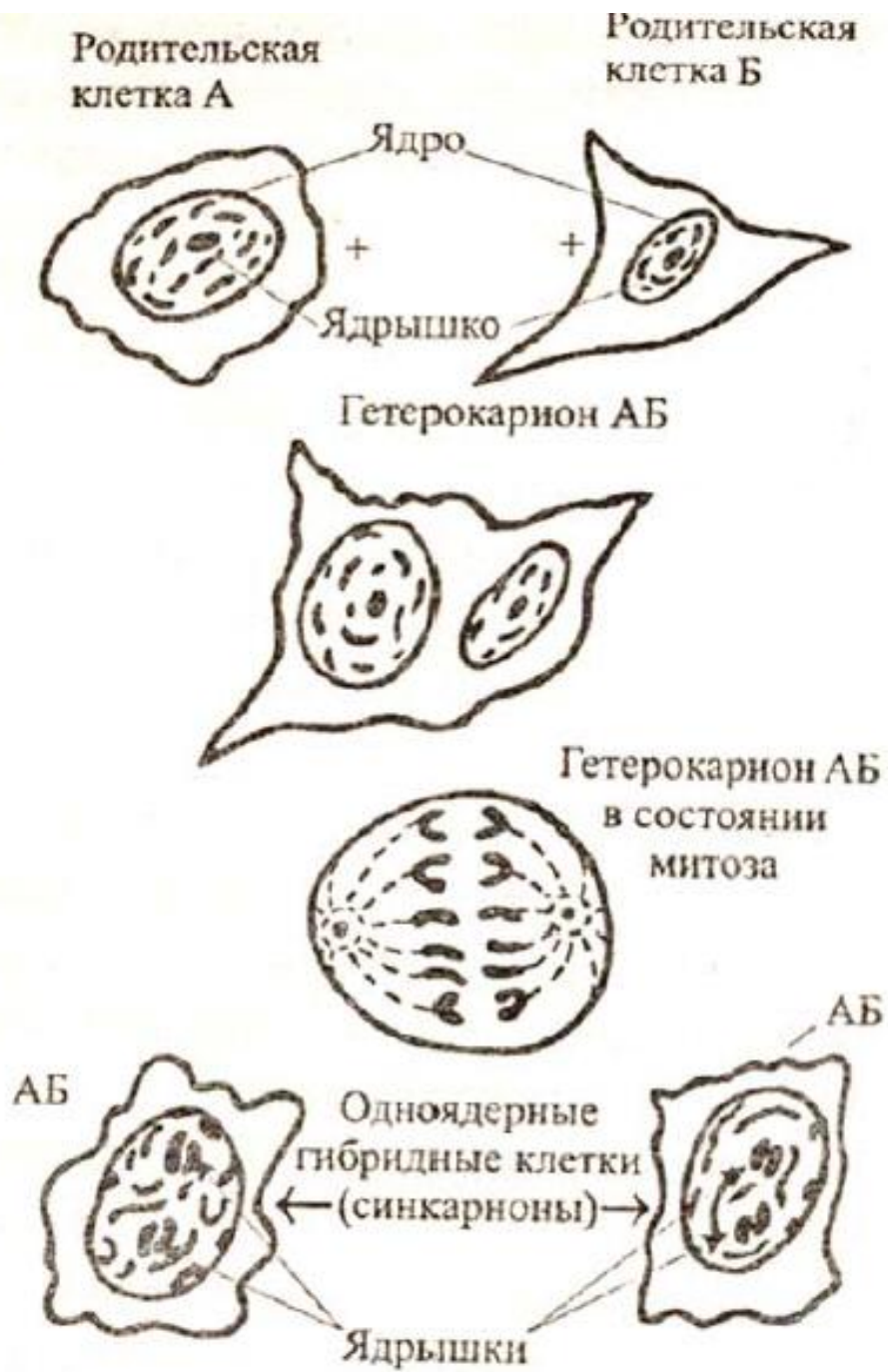


Рис. 11.8. Гибридизация соматических клеток с образованием синкарионов.



## Методы генетики соматических клеток

(Культивирование, клонирование, селекция, метод гибридизации соматических клеток).

Дают возможность изучать многие вопросы генетики человека в эксперименте. Для культивирования чаще используют клетки соединительной ткани (фибробласты) и лимфоциты крови. На искусственных питательных средах их можно клонировать, т.е. получать потомков одной клетки. Все они будут иметь одинаковый генотип (как монозиготные близнецы) и, следовательно, на клеточном уровне можно изучать роль генотипа и среды в проявлении признаков.

Можно проводить селекцию клеток – отбор клеток с заранее заданными свойствами. Для этого используют селективные питательные среды. Например, если в питательную среду добавить не лактозу, а другие сахара, то из большого числа клеток найдется несколько, которые смогут существовать без лактозы, и в дальнейшем можно получить клон таких клеток.

Наибольший интерес для генетики человека представляет метод гибридизации соматических клеток (рис.11.8). В 1960 г. французский ученый Ж. Барский, выращивая в культуре клетки две линии мышей, обнаружил, что некоторые из них по своим морфологическим и биохимическим свойствам оказались промежуточными между исходными родительскими клетками. Это были гибридные клетки.

Такое спонтанное слияние соматических клеток в культуре ткани происходит довольно редко. В дальнейшем было установлено, что при введении в культуру клеток РНК-содержащего вируса парагриппа Сендай, инактивированного при облучении ультрафиолетом, частота гибридизации клеток значительно повышается, и в смешанной культуре разных типов клеток образуются гетерокарионы – клетки, содержащие два ядра разных клеток в одной цитоплазме. Часть таких клеток способна размножаться митозом. После митоза из двуядерного гетерокариона образуются две одноядерные клетки, каждая из которых представляет собой синкарион – настоящую гибридную клетку, содержащую хромосомы обеих исходных клеток.

Гибридизация возможна не только между клетками организмов разных видов, но и типов: человек – мышь, человек – комар и др. Синкарионы обычно удается получать при гибридизации клеток разных видов, относящихся к одному классу. В таких синкарионах происходит объединение геномов двух видов. Например, гибридные клетки человека и мыши имеют 43 пары хромосом: 23 – от человека и 20 – от мыши. В дальнейшем происходит постепенное удаление хромосом того организма, клетки

которого имеют более медленный темп размножения. У гибридных клеток человек – мышь удаляются хромосомы человека.

В гибридных клетках функционируют хромосомы как человека, так и мыши, гены которых детерминируют синтез соответствующих белков. Морфологически можно отличить каждую из хромосом (дифференциальное окрашивание).

Если в гибридной клетке отсутствует какая-либо хромосома и не происходит синтез каких-то белков, то можно предположить, что гены, детерминирующие синтез этих белков, локализованы в данной хромосоме. Таким образом, метод позволяет устанавливать группы сцепления у человека, а используя нехватки и транслокации выяснять и последовательность расположения генов, т.е. строить генетические карты хромосом человека.

### **Биологическое моделирование**

Биологическое моделирование определенных наследственных аномалий человека можно проводить на мутантных линиях животных, имеющих сходные нарушения. Например, у собак встречается гемофилия, обусловленная рецессивным сцепленным с X-хромосомой (с полом) геном. Происхождение расщелины губы и неба у мышей сходно с аналогичными аномалиями человека, у хомяков и крыс встречаются сахарный диабет, ахондроплазия, мышечная дистрофия и др. Хотя мутантные линии животных не дают точную картину наследственных болезней человека, даже частичное воспроизведение их фрагментов в ряде случаев позволяет изучить механизмы первичного отклонения от нормы. Закон гомологичных рядов Н. И. Вавилова (виды и роды генетически близкие обладают сходными рядами наследственной изменчивости) позволяет с определенными ограничениями экстраполировать экспериментальные данные на человека.

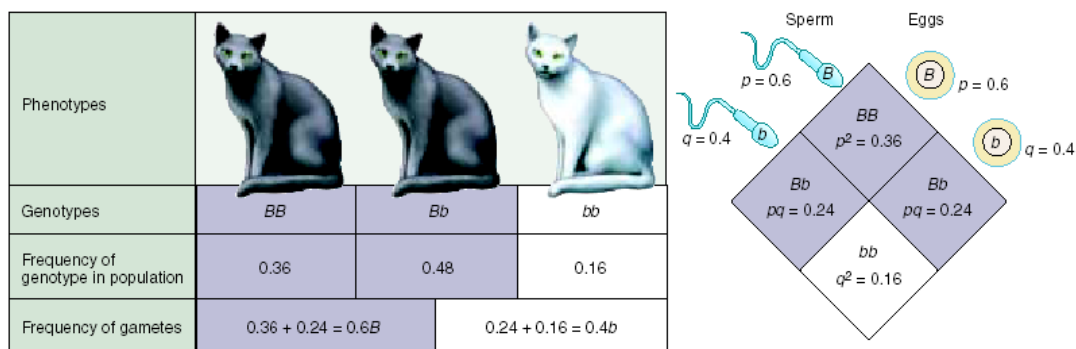
Закон Харди-Вайнберга:

*в идеальной популяции частоты генов и генотипов находятся в равновесии и не изменяются в ряду поколений.*

$$p(A)+q(a)=1 \text{ (100\%)}$$

$$p^2+2pq+q^2=1(100\%)$$

$$AA : 2Aa : aa$$



**Рис. 12.1. Иллюстрация закона Харди-Вайнберга.**

## МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА. ПОПУЛЯЦИОННО-СТАТИСТИЧЕСКИЙ, ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ. ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ СИНТЕЗА ДНК

### Популяционно-статистический метод

это метод изучения генетической структуры популяций.

#### Возможности метода:

1. Метод позволяет оценить распространенность наследственных заболеваний в популяции, рассчитать частоты аллелей и генотипов, определить частоту гетерозиготных носителей мутаций.
2. Дает возможность охарактеризовать мутационный процесс, оценить роль наследственности и среды в формировании генетической структуры популяции, в возникновении болезней.
3. Позволяет охарактеризовать демографические процессы в популяциях человека, выявить источники происхождения мутаций (по градиенту частот), определить основные направления миграций населения по спектру мутаций.
4. На основе изучения распространения генов среди населения различных географических регионов (геногеография) дает возможность установить центры происхождения различных этнических групп и их миграции, определить степень риска появления той или иной наследственной патологии в конкретном регионе.

**Популяция** – это совокупность особей одного вида, длительно населяющих одну территорию, относительно изолированных других групп особей данного вида, свободно скрещивающихся между собой и дающих плодовитое потомство.

Совокупность всех аллельных вариантов генов популяции называется генофондом.

По численности особей популяции могут быть большие и малые. Большие человеческие популяции включают более 4 тыс. чел. Малые подразделяются на демы и изоляты. Демы – имеют численность от 1,5 до 4 тыс. чел. Изоляты – наименьшие популяции людей численностью до 1,5 тыс. чел. В них часто встречаются кровно-родственные браки, на долю внутригрупповых браков приходится более 90%. Приток генов из вне – менее 1%.

Существенным моментом при использовании популяционно-статистического метода является генетический анализ популяций. Он

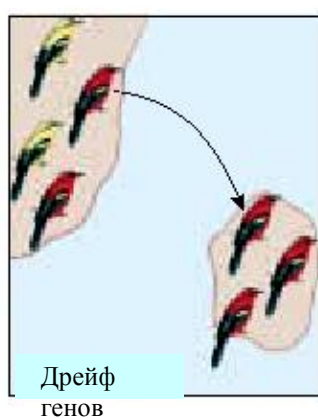
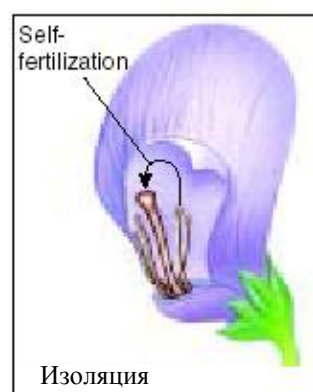
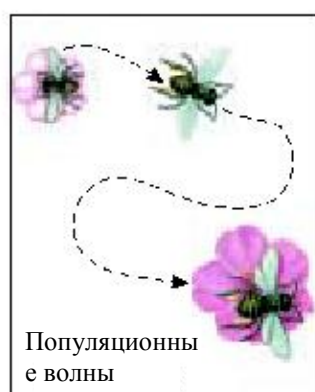
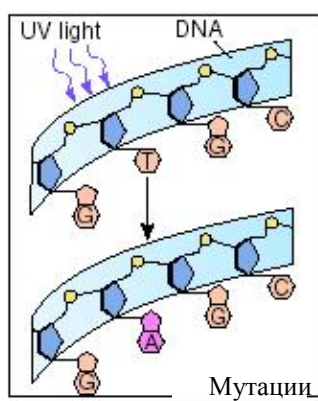


Рис. 12.2. Движущие силы эволюции.

начинается с изучения распространенности в популяции того или иного признака (наследственного заболевания, фенотипа, генотипа, аллеля и т.д.). Частота признака, т.е. количество особей, обладающих данным признаком, по отношению к общему числу особей, выражается в долях единицы или в %. Н-р: ФКУ выявлено у 7 из 7000 новорожденных. Следовательно, частота заболевания составляет  $7:7000$  или  $0,0001$ , или 1 случай на 10 тыс. н/р.

Основой для выяснения генетической структуры популяций является закон Харди-Вайнберга (1908) или закон поддержания генетического равновесия в популяции. Харди (Английский математик), Вайнберг (немецкий врач). Они сформулировали закон поддержания генетического равновесия в популяции.

### **Закон Харди-Вайнберга:**

*в идеальной популяции частоты генов и генотипов находятся в равновесии и не изменяются в ряду поколений.*

#### **Основные положения закона Харди-Вайнберга (рис.12.1):**

1. частота аллелей в популяции – величина постоянная.  $p+q=1$  (100%)
2. Частота генотипов также величина постоянная и может быть выражена формулой:  $(p+q)^2 = p^2+2pq+q^2=1$ , или  $AA+2Aa+aa=1$ . Эта формула дает возможность рассчитать частоту встречаемости в конкретной популяции гетерозиготных носителей рецессивных аллелей.

Н-р: частота ФКУ  $1:10000$  нр (частота генотипа  $aa$ ). Следовательно,  $q^2 = 1/10000$ ,  $q=1/100$ . Т.к.  $p+q=1$ , то  $p=1-q = 99/100$ . Частота гетерозиготных носителей  $= 2pq = 2 \times 1/100 \times 99/100 = 1/50$ . В данной популяции каждый 50 – носитель мутации гена.

Закон Харди-Вайнберга выполняется в следующих условиях:

1. Популяция должна быть большой (т.е. близкой к идеальной).
2. Имеются условия для случайной встречи гамет, т.е. полная панмиксия – отсутствие ограничений в выборе партнера.
3. Отсутствует мутационный процесс.
4. Нет притока генов (иммиграции).
5. Нет отбора.

В реальных популяциях происходят различные генетические процессы, изменяющие частоты доминантных и рецессивных генов. Это 5 основных факторов: 1 – мутации, 2 – случайные колебания частот генов (миграции), 3 – изоляция, 4 - дрейф генов, 5 – естественный отбор (рис.12.2). Эти 5 факторов – основные движущие силы эволюции. Поскольку в больших

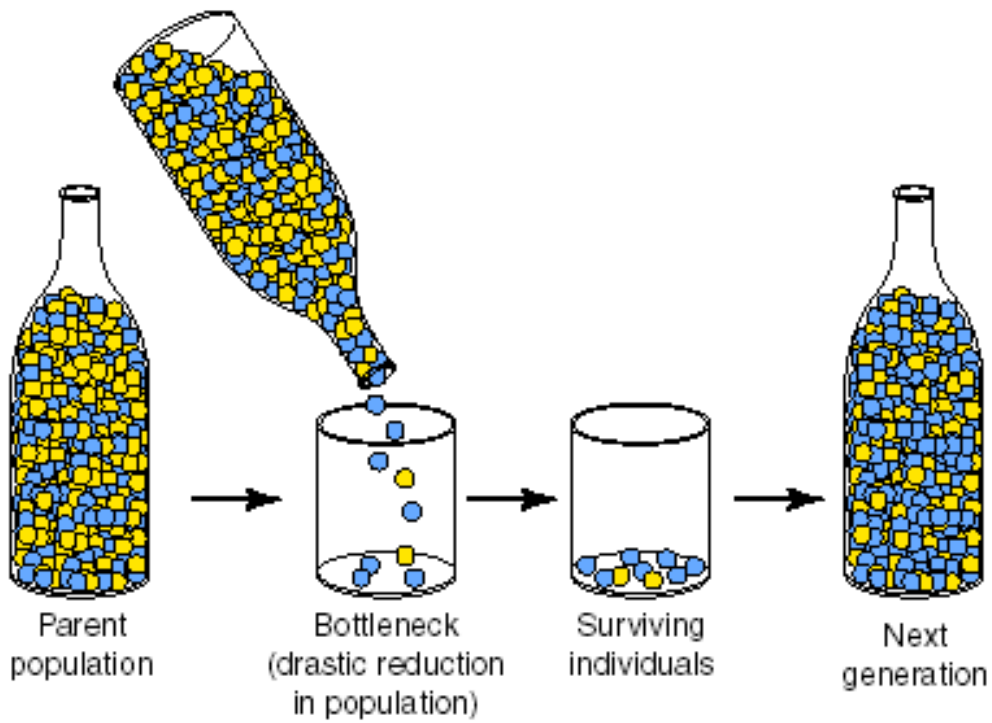


Рис. 12.3. Дрейф генов – эффект «горлышка бутылки».

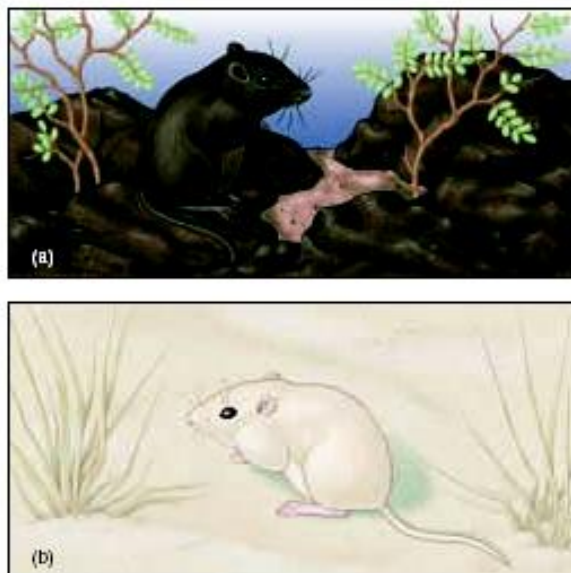


Рис. 12.4. Результат действия естественного отбора.

популяциях эти факторы незначительно меняют частоты генов, в них сохраняется закон Х-В.

**Мутации** – изменяют частоту генов в популяции. Доминантные мутации проявляются уже в первом поколении и сразу же подвергаются действию естественного отбора. Рecessивные мутации сначала накапливаются в популяции (т.к. не проявляются в гетерозиготном состоянии) и только с появлением рецессивных гомозигот подвергаются действию естественного отбора. Насыщенность популяций мутациями называется **генетическим грузом**.

**Случайные колебания частот генов** в малых популяциях. Пример. Теоретически рождение мальчика или девочки равновероятно, но в малых выборках (семья) в силу случайных причин это равновесие может нарушаться. Случайным колебаниям частот генов способствует **миграция** населения. Иммиграция поставляет новые аллели и комбинации генотипов, эмиграция – изменяет соотношение различных генотипов в популяции. Повышение уровня гетерозиготности является одной из причин акселерации.

**Изоляция** – это ограничение свободы скрещивания. Различают несколько типов изоляции: географическая (горы, реки, проливы, большие расстояния), генетическая (неполноценность гибридов), экологическая (обитание в различных экологических нишах при разных температурах), морфофизиологические (различия в строении половых органов), социальная (принадлежность к определенному слою общества, национальные традиции), этнологическая (религиозные мотивы ограничения браков) и т.д. В малых популяциях часто наблюдается **инбридинг** – кровно-родственные браки между родственниками 2 и 3 степени (1 – 50%, 2 – 25%, 3 – 12,5%, 4 – 6,3%). Эти браки нежелательны, т.к. они приводят к инбредной депрессии, поскольку у родственников высокая степень вероятности гетерозиготности по одному и тому же рецессивному патологическому гену.

**Дрейф генов** – генетико-автоматический процесс, характеризующийся случайным резким увеличением частот каких-либо генов. Этот эффект наблюдается при резком увеличении численности какой-либо небольшой группы особей, частоты генов в которой существенно отличаются от исходной популяции. Примером дрейфа генов является эффект «горлышка бутылки» (рис.12.3).

**Естественный отбор.** Элиминирует из популяции менее удачные комбинации генов и генотипов и избирательно сохраняет наиболее выгодные для существования комбинации, тем самым изменяя частоту генов (рис.12.4). Интенсивность естественного отбора даже в современных человеческих популяциях довольно высокая. Почему? Спонтанные аборты



- 1. Культивирование клеток крови человека (чаще лимфоцитов венозной крови) на питательных средах.**
- 2. Стимуляция митозов фитогемагглютинином (ФГА).**
- 3. Добавление колхицина (разрушает нити веретена деления) для остановки митоза на стадии метафазы.**
- 4. Обработка клеток гипотоническим раствором (хромосомы расходятся и лежат отдельно друг от друга).**
- 5. Приготовление препаратов на предметных стеклах.**
- 6. Окрашивание хромосом.**
- 7. Цитогенетический анализ хромосомных препаратов.**

Рис. 12.5. Этапы цитогенетического анализа хромосом.

составляют около 50% всех зачатий, мертворождения – 3%, ранняя детская смертность – 2%, не вступает в брак около 20% людей, бесплодны – 10% браков. Т.о. около 75% людей не вносят вклад в генофонд будущих поколений!

### **Цитогенетический метод (рис. 12.5)**

Главная задача цитогенетического метода – кариотипирование, т.е. точная идентификация хромосом. В медицинской цитогенетике главная задача – ответить на вопросы: нормален ли хромосомный набор и в чем состоит найденное отклонение. Специфичность кариотипа определяется общим числом, размером и формой хромосом.

Основные цитогенетические методы включают изучение метафазных хромосом или интерфазных ядер.

#### **1. Изучение метафазных хромосом**

Отправным моментом в изучении хромосом человека служит получение клеточной популяции с высокой митотической активностью (*культивирование*). Существуют прямые и непрямые методы культивирования. При прямом методе для исследования берут клетки, активно делящиеся в организме. Источником таких клеток является на практике костный мозг. Этот метод имеет сравнительно узкое применение, преимущественно в цитогенетических исследованиях новообразований кроветворной системы. Непрямые методы связаны с предварительным культивированием выделенных из организма клеток в питательной среде *in vitro*. Чаще всего их источником служит периферическая кровь. В присутствии *стимулятора митозов фитогемагглютинина* в культуре активно размножению подвергаются лимфоциты. Другой тканью для получения размножающихся клеток служит кожа. Для культивирования берут небольшой кусочек ее поверхностного слоя, при этом размножению подвергаются фибробласты подкожной соединительной ткани. Широко используются также разные ткани абортированных эмбрионов человека, клетки амниотической жидкости. Для получения достаточного количества делящихся клеток культуры выдерживают в термостате (инкубаторе) при 37<sup>0</sup> С в течение 48-72 часов.

Первой манипуляцией с размножающимися клетками при приготовлении препаратов хромосом является воздействие на клетки *колхицином*. Примененные в конечной концентрации 0,05-0,5мкг/мл эти агенты останавливают митотическое деление на стадии метафазы, обеспечивая тем самым накопление метафазных пластинок и способствуя последующему разбросу хромосом на предметном стекле благодаря дезорганизации митотического веретена деления и укорочению хромосом.

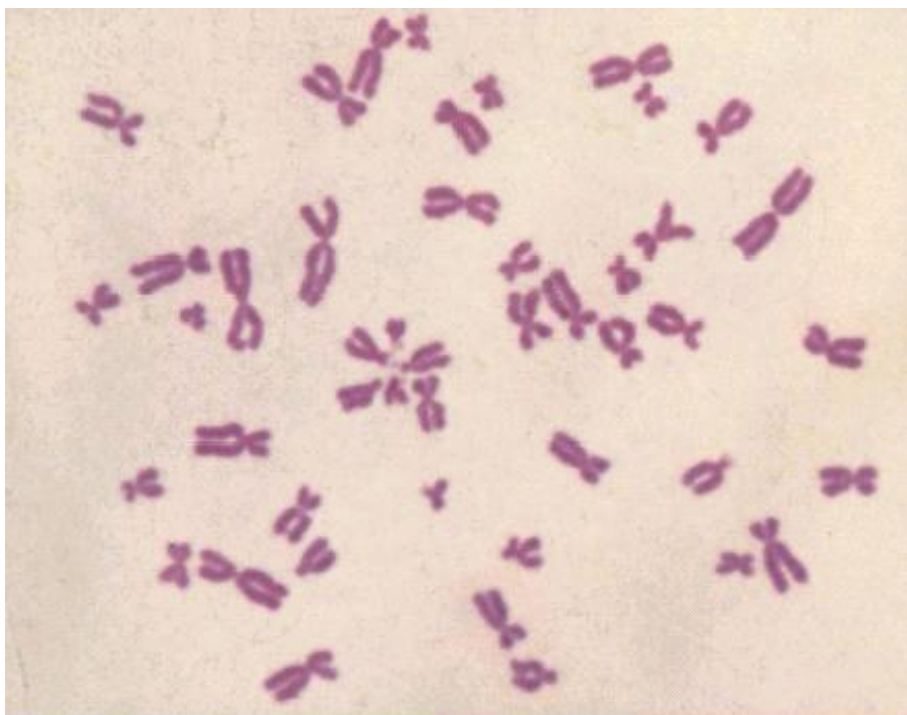
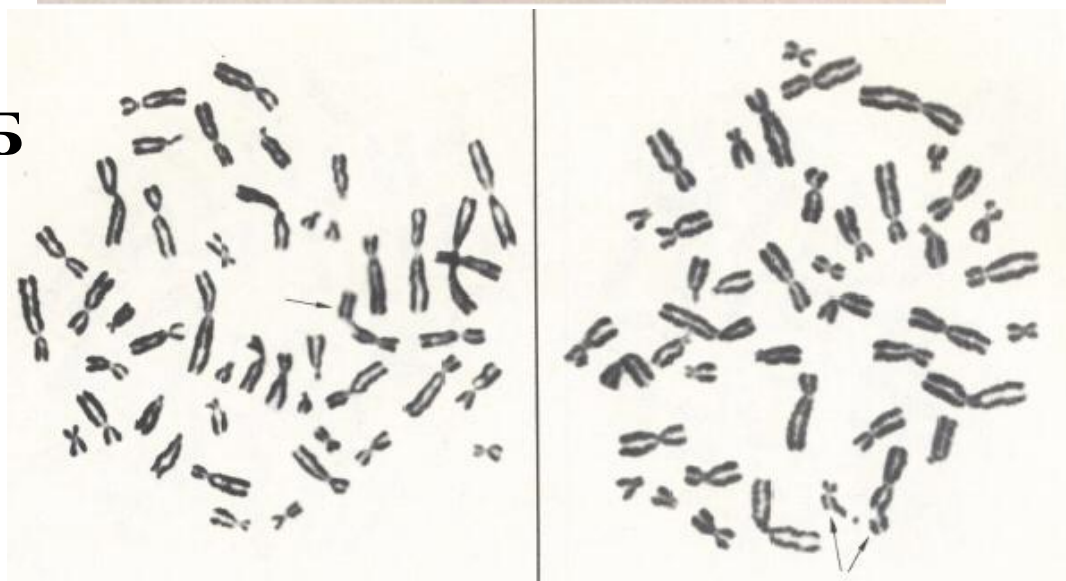
**А****Б**

Рис. 12.6. Метафазные хромосомы:  
А - Рутинная окраска метафазных хромосом,  
Б - Анализ хромосомных aberrаций.

Оптимальная продолжительность действия колхицина составляет 1,5-2 ч. для культур лимфоцитов и 5-6 ч. для культур фибробластов. При более продолжительном действии метафаз накапливается больше, однако, они становятся менее пригодными для анализа из-за чрезмерной конденсации хромосом.

Вторая обязательная манипуляция при приготовлении препаратов хромосом – воздействие на клетки *гипотоническим раствором* с целью разобщения хромосом набора. Для этого используются разные по составу и концентрации солей растворы, обработку ими культур проводят при комнатной температуре или при +37°C. Чаще всего применяют 0,55% (0,07M) раствор хлорида калия, в котором лимфоциты инкубируют в течение 5-10 мин. Используя также инкубацию в течение 15-30 мин. в 0,95-1% растворе цитрата натрия.

Следующей процедурой является *фиксация*. Обязательным компонентом применяющихся фиксаторов служит ледяная уксусная кислота, которую смешивают с метиловым или этиловым (абсолютным) спиртом в соотношении 1:3. Саму процедуру фиксации проводят в разных вариантах, при этом важно проведение клеток через несколько смен фиксатора. Ответственной манипуляцией, от которой зависит качество препарата, является нанесение взвеси фиксированных клеток на предметное стекло. Ее основное назначение – получить на предметном стекле хороший разброс, так чтобы все хромосомы метафазной пластинки лежали отдельно. В настоящее время стандартной стала методика получения высушенных на воздухе препаратов.

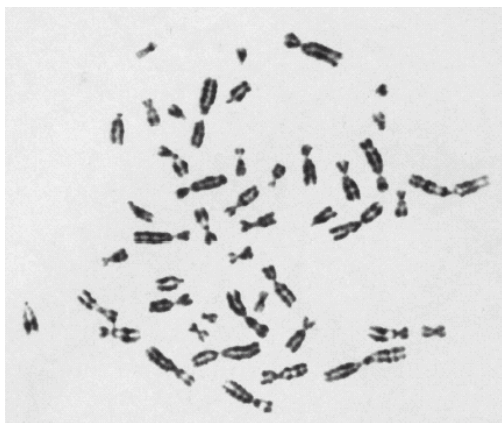
### **Методы окраски хромосом**

#### ***Рутинная окраска хромосом*** (рис. 12.6)..

Для равномерной окраски хромосом по длине используют основные красители: азуры, основной фуксин, орсеин и др. До окраски высушенные препараты можно хранить неограниченно долгое время. Чаще всего применяют краситель Романовского-Гимзы, который разводят водопроводной водой, или азур-эозин. Эти красители дают интенсивное окрашивание хромосом. Сравнительно часто практикуется окраска карболовым фуксином. Рутинная окраска позволяет охарактеризовать число и морфологию хромосом, выявить некоторые структурные нарушения, в частности, поломки, межхромосомные обмены с образованием дицентрических хромосом, крупные транслокации.

#### ***Дифференциальная окраска хромосом*** (рис. 12.7).

Около четверти века назад в практику хромосомного анализа стали широко входить методы дифференциального окрашивания хромосом.

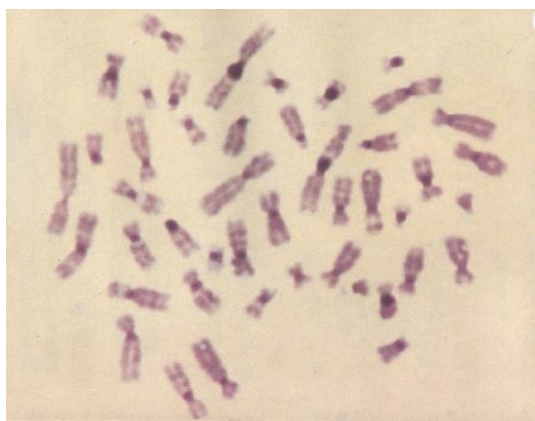


166

**G-окраска**



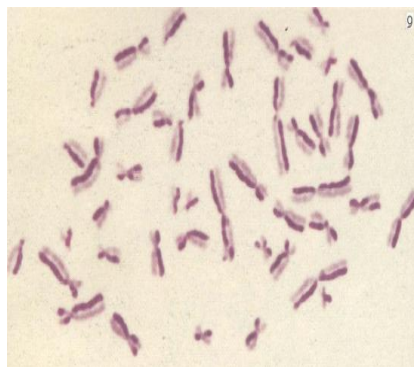
**R-окраска**



**С-окраска околоцентромерного  
гетерохроматина**



**Ag-окраска ЯОР  
акроцентрических  
хромосом (II перетяжка)**



**СХО-окраска (сестринские  
хроматидные обмены)**

Рис. 12.7. Способы дифференциальной окраски метафазных хромосом.

Впервые метод был предложен Касперссоном, который показал, что при обработке препаратов митотических хромосом с помощью флуорохрома акрихиниприта во флуоресцентном микроскопе видны поперечные светящиеся полосы (бэнды), расположение которых характерно для каждой хромосомы. Этот прием цитологического анализа в сочетании с генетическими наблюдениями уже в настоящее время позволил начать составление хромосомных карт человека, то есть находить места расположения генов на определенных участках хромосом. Молекулярные механизмы такой специфической окраски до сих пор еще не ясны, многие исследователи способность отдельных участков хромосом к окрашиванию связывают с их химическими различиями и неравномерной конденсацией разных участков по длине хромосомы.

### ***Основные способы дифференциальной окраски хромосом.***

**Q-окраска** (флуоресцентная с использованием флюорохромов. Большинство флюорохромов имитирует зеленое, а иногда оранжевое и даже красное свечение. Для исследования хромосом в этих случаях применяют мощные рутинно-кварцевые лампы. Из флюорохромов чаще всего используют производные акридина (акрихин и акрихин-иприт). акрихина иприта). Рисунок каждой хромосомы, окрашенной Q-методом, специфичен по числу, размерам и положению по-разному светящихся сегментов, что и обеспечивает идентификацию всех хромосом. Q-окраска является индикатором хроматина с повышенным содержанием АТ-пар оснований, поскольку они интенсивнее флуоресцирует в соответствующих участках хромосомы.

**G-окраска** Методики, с помощью которых получают G-окраску хромосом, разнообразны. Общим для всех них является:

Во-первых, определенная предварительная обработка препаратов хромосом перед окрашиванием; чаще всего применяется предварительная обработка трипсином.

Во-вторых, использование для окрашивания нефлуоресцирующих основных красителей (азуры, метиленовый синий);

По числу, величине и расположению выявляющихся сегментов рисунок G-окраски аналогичен рисунку при Q-окраске. На G-окрашенных хромосомах наблюдаются изменения рисунка линейной дифференцированности хромосом, связанные со степенью митотической конденсации хромосомы.

**R-окраска.** Рисунок при R-окраске противоположен рисунку при G-окраске. Ключевым моментом выполнения R-окраски является нагревание препаратов хромосом при высокой температуре (78-90С). Окрашивание

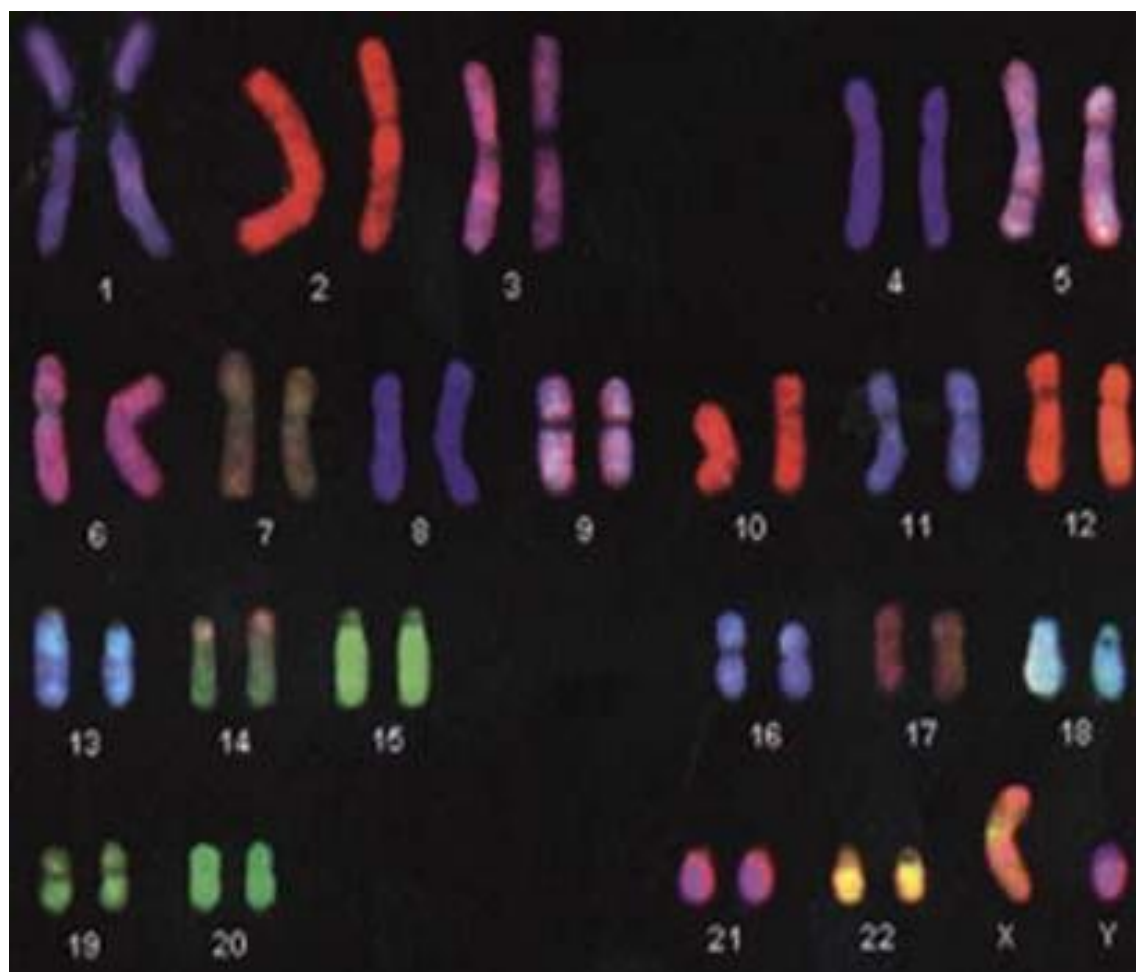


Рис. 12.8. FISH-окраска хромосом (флуоресцентная гибридизация *in situ*) – надежный способ диагностики любых хромосомных транслокаций.

препаратов можно проводить как смесью красителей Романовского-Гимзы, так и акридиновым оранжевым.

**С-окраска.** Метод основан на кратковременном воздействии на препараты хромосом щелочью. В отличие от предыдущих трех типов дифференциальной окраски при С-окраске в каждой хромосоме человека краситель воспринимает лишь центромерный и околоцентромерный районы во всех хромосомах и длинное плечо Y-хромосомы. По локализации выделяют 4 типа С-гетерохроматина: собственно центромерный, присущий всем хромосомам, гетерохроматин вторичных околоцентромерных перетяжек аутосом 1, 9 и 16, гетерохроматин коротких плеч акроцентрических аутосом, гетерохроматин длинного плеча Y хромосомы. Позволяет лучше, чем какой-либо другой метод, оценивать хромосомный полиморфизм. Используется для уточнения характера хромосомных перестроек, особенно помогая в идентификации перичентромерных инверсий.

Помимо дифференциальной окраски в цитогенетике используют избирательную окраску хромосом. **Избирательная окраска** – окраска отдельных районов индивидуальных хромосом. Чаще всего метод используется для выявления ядрышкообразующих районов, которые расположены в коротких плечах всех десяти акроцентрических хромосом. В настоящее время применяют метод, основанный на использовании нитрата серебра и проведении процедуры серебрения при нагревании. Называют эту пробу **Ag-окраской**, что отражает использование соединений серебра. На удачных препаратах хромосомы окрашены в желтый цвет. В коротких плечах акроцентрических хромосом четко выявляются темно-коричневые или черные точечные образования – гранулы серебра. Хотя тонкие механизмы окраски ядрышкообразующих районов хромосом пока не известны, однако установлено, что красящимся субстратом при Ag-окраске являются не ДНК рибосомных генов и не рРНК, а кислые белки, по-видимому, входящие в структуру ядрышка и связанные с рРНК (рибонуклеопротеиды, являющиеся продуктом активности хромосомы). Поэтому метод серебрения позволяет выявить не всякий ЯО, а лишь функционирующий в предшествующей митозу интерфазе, а интенсивность их окрашивания соответствует интенсивности функционирования.

**FISH-окраска** (рис.12.8).. В цитогенетике млекопитающих последние годы ознаменованы стремительным развитием новых методов исследований, в основе которых лежит флуоресцентная *in situ* гибридизация нуклеиновых кислот. Десять-пятнадцать лет назад



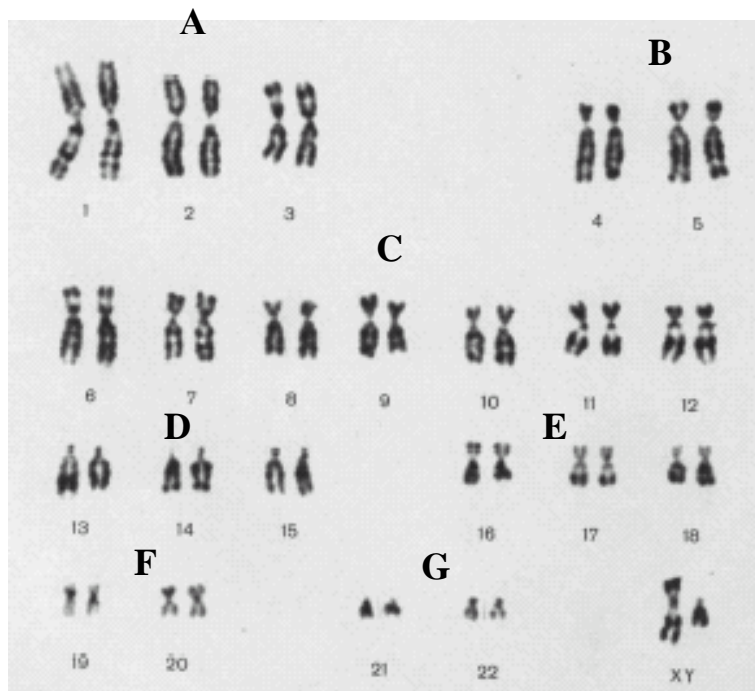


Рис. 12.9. Денверская классификация хромосом человека (1960).

Группа А (1-3) – три пары самых крупных хромосом: две метацентрические и 1 субметацентрическая.

Группа В – (4-5) – две пары длинных субметацентрических хромосом.

Группа С (6-12) – 7 пар субметацентрических аутосом среднего размера и X-хромосома.

Группа D (13-15) – три пары средних акроцентрических хромосом.

Группа Е (16-18) – три пары метацентрическая и субметацентрические хромосомы.

Группа F (19-20) – две пары маленьких метацентрических хромосом.

Группа G (21-22 и Y) – две пары мелких акроцентрических хромосом и Y-хромосома.

*При рутинной окраске достоверно можно идентифицировать только 5 хромосом: 1, 2, 3, 16 и Y-хромосому, при дифференциальной – все хромосомы.*

возможности исследователя были практически сведены к изучению морфологии и дифференциальной окрашиваемости хромосом и их отдельных районов. Развитие методов, способных на цитологических препаратах визуализировать интересующие последовательности ДНК, резко изменило ситуацию. Метод флуоресцентной *in situ* гибридизации (**FISH**) оказался крайне эффективным инструментом изучения генома человека и других видов млекопитающих, реорганизации хромосом в ходе эволюции, анализа хромосомных перестроек как при малигнизации клеток, так и при врожденных патологиях. Гибридизация *in situ* дала начало огромному числу методических разработок, которые уже нашли широкое применение в практической медицине, а современная хромосомная диагностика продвинулась значительно дальше самых смелых фантазий цитологов 80-х годов. Значительную роль в развитии новых вариантов FISH сыграл приход новых методов регистрации микроскопических изображений. Замена фотонасадок CCD-камерами (CCD-камерами с высоким уровнем разрешения, охлаждаемыми CCD-камерами с длительным временем накопления сигнала и т.д.) с соответствующим компьютерным обеспечением не просто упростила и ускорила процесс регистрации микроскопических изображений, но и предоставила экспериментатору принципиально новые возможности обработки изображений, записанных в цифровом формате. Такой метод хромосомного анализа позволяет выявлять и идентифицировать любые транслокации материала негомологичных хромосом. Окраска хромосомы более чем одним цветом свидетельствует о наличии транслокации. Цвет хромосомных районов позволяет однозначно определить хромосомы, которые были вовлечены в данные хромосомные перестройки. Имеются в наличии коммерчески доступные наборы меченых ДНК проб и необходимых систем детекции. Метод позволяет проводить быструю идентификацию значительной части внутри- и межхромосомных перестроек.

#### **Классификации хромосом (рис. 12.9)**

Для того, чтобы было легче разобраться в сложном комплексе хромосом человека, предлагалось множество способов их классификации (по форме, по размерам и т.д.). В 1960 г. в г. Денвере (Англия) была принята единая классификация хромосом человека, которой до сих пор пользуются все цитогенетики. Согласно **Денверской классификации** для анализа хромосомы группируются попарно (гомологи) в порядке уменьшения размера и делятся на 7 групп, которые обозначают буквами латинского алфавита от А до G. Как видно на кариограмме, половые X-хромосомы относятся к группе С. Y-хромосома – к группе G. Для точной идентификации дифференциально окрашенных хромосом используется, так называемая, **Парижская номенклатура**, принятая в Париже в 1979 году.

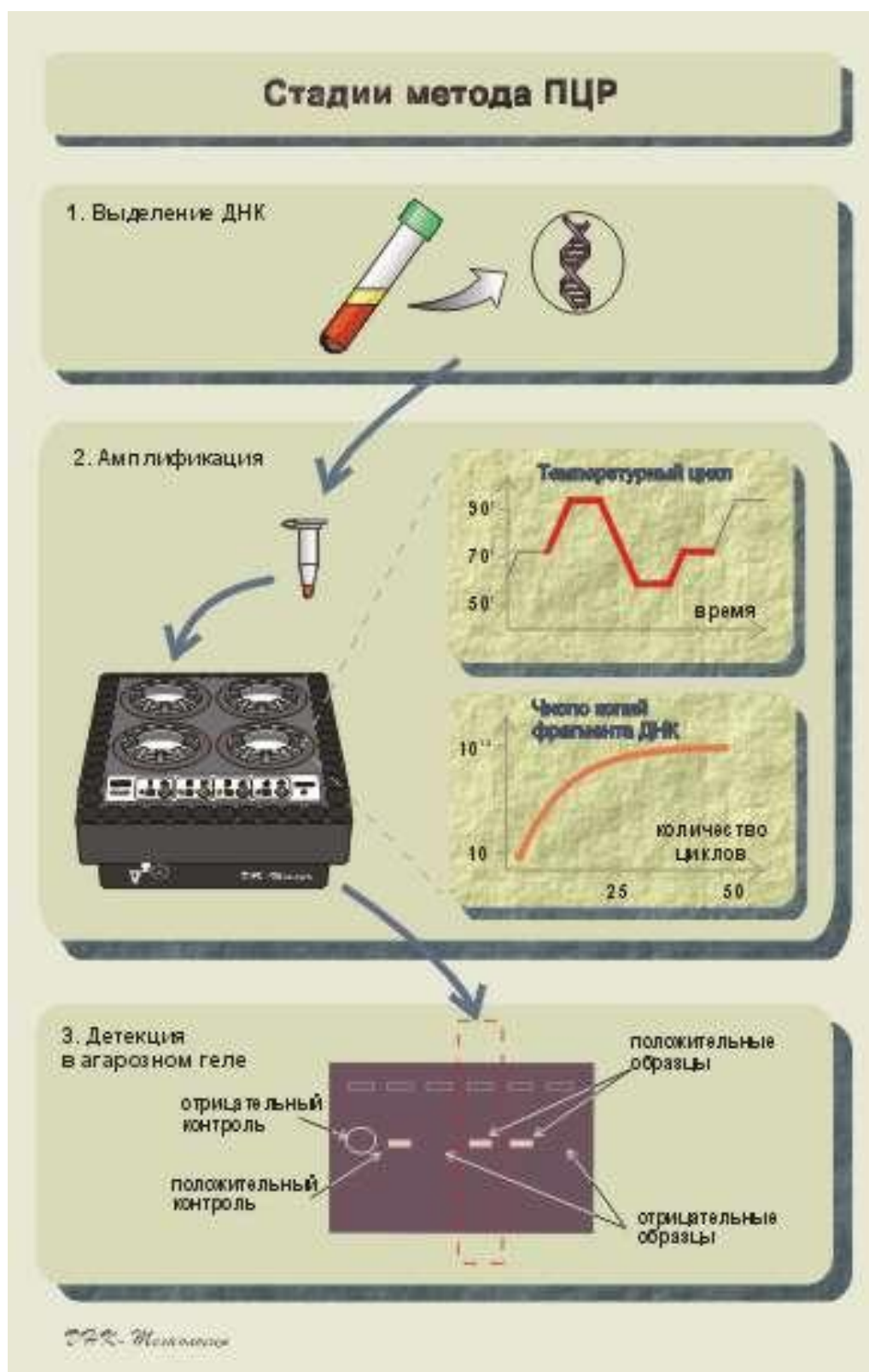


Рис. 12.10. Стадии метода ПЦР.

## **2. Изучение интерфазных ядер.**

Это экспресс-метод определения Х-полового хроматина в интерфазных ядрах клеток слизистой оболочки полости рта (обнаружение телец Барра) или в сегментоядерных лейкоцитах (барабанные палочки)). Для выявления полового хроматина клетки окрашиваются с применением основных красителей (орсеин, краситель Романовского-Гимзы и др.).

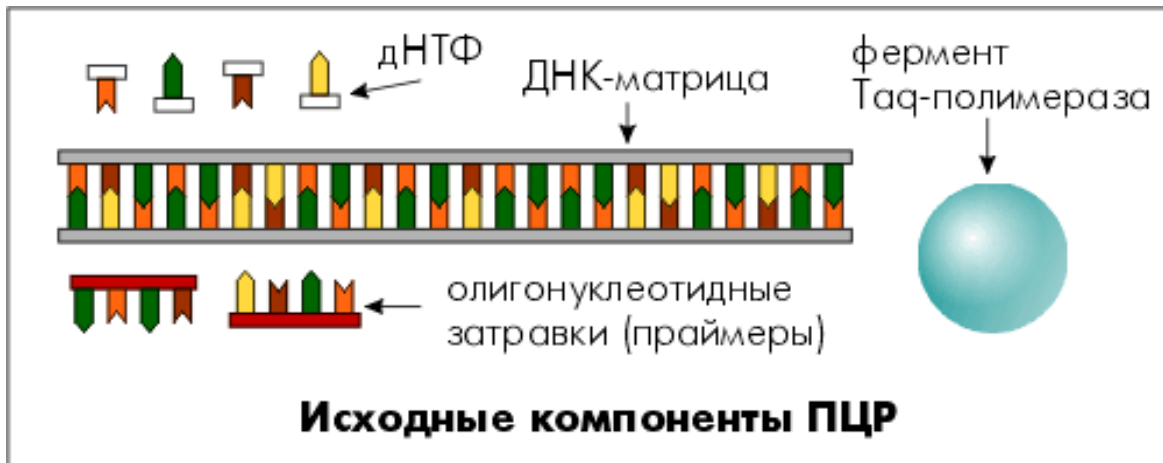
### **Молекулярно-генетические методы**

Нарушения активности ферментов при наследственных заболеваниях выявляются при помощи биохимических методов. Локализация соответствующих повреждений в самом наследственном материале, т.е. в структуре ДНК, может быть выявлена молекулярно-генетическими методами. Это исследование проводится на образцах ДНК. Ранее для молекулярно-генетического анализа использовался метод гибридизации нуклеиновых кислот (комплементарное соединение с мечеными фрагментами ДНК - «зондами». ДНК-зондом может быть одна радиоактивная нить ДНК, несущая мутацию). Специфичность гибридизации нуклеиновых кислот позволяет обнаружить единственный ген среди десятков тысяч. Для широкого применения методов рекомбинантной ДНК необходимо создание библиотек радиоактивных зондов всех последовательностей ДНК генома человека.

Наиболее широкое применение нашел метод полимеразной цепной реакции синтеза ДНК (ПЦР).

### **Полимеразная цепная реакция синтеза ДНК**

История открытия метода ПЦР. Принцип метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) был разработан Кэрри Мюллісом в 1983 году. Открытие ПЦР стало одним из наиболее выдающихся событий в области молекулярной биологии за последние 20 лет. За разработку ПЦР-анализа К.Мюлліс в 1993 году был удостоен Нобелевской премии в области химии. Изящность, простота исполнения, непревзойденные показатели чувствительности и специфичности принесли новому методу небывалую популярность. За короткое время ПЦР-анализ распространился по всему миру.



**\* Размер праймеров – 20-25 пн. Праймеры строго комплементарны правой и левой границам специфического участка ДНК и достраивание цепи протекает только между ними.**

Рис. 12.11. Компоненты ПЦР.

ПЦР – исследование включает 3 стадии (рис. 12.10):

- 1.Выделение ДНК. Образцы ДНК можно получить из периферической венозной крови (лимфоциты), тканей (ворсины хориона, опухоли, костный мозг), спермы, волос, костей и любых других биологических сред и клеток, содержащих ядра. Такой анализ возможен и на живых организмах, и на трупном материале любой давности, даже на самых древних ископаемых останках.
- 2.Проведение полимеразной цепной реакции;
3. Регистрация результатов (методом электрофореза в агарозном или полиакриламидном геле и др.)

### **Принцип метода полимеразной цепной реакции**

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) - метод амплификации ДНК *in vitro*, с помощью которого в течение нескольких часов можно выделить и размножить определённую последовательность ДНК в миллиарды раз. Возможность получения огромного количества копий одного строго определённого участка генома значительно упрощает исследование имеющегося образца ДНК.

В основе метода ПЦР лежит природный процесс - комплементарное достраивание ДНК матрицы, осуществляемое с помощью фермента ДНК-полимеразы.

Для проведения амплификации необходимы следующие компоненты рис. 12.11):

\* ДНК-матрица (ДНК или ее часть, содержащая искомый специфический фрагмент);

- Праймеры (синтетические олигонуклеотиды (20-30 нуклеотидных пар), комплементарные последовательностям ДНК на границах определяемого специфического фрагмента). Выбор специфического фрагмента и подбор праймеров играет важнейшую роль в специфичности проведения амплификации, что сказывается на качестве проведения анализа;
- Смесь дезоксинуклеотидтрифосфатов (дНТФ) (смесь четырех дНТФ, являющихся материалом для синтеза новых комплементарных цепей ДНК);
- Фермент Таq-полимераза (термостабильная ДНК-полимераза, катализирующая удлинение цепей праймеров путем последовательного присоединения нуклеотидных оснований к растущей цепи синтезируемой ДНК);
- Буферный раствор (реакционная среда, содержащая ионы  $Mg^{2+}$ , необходимые для поддержания активности фермента).

Для получения достаточного количества копий искомого фрагмента ДНК амплификация включает 30-35 циклов.

Каждый цикл амплификации включает 3 этапа, протекающие в разных температурных режимах

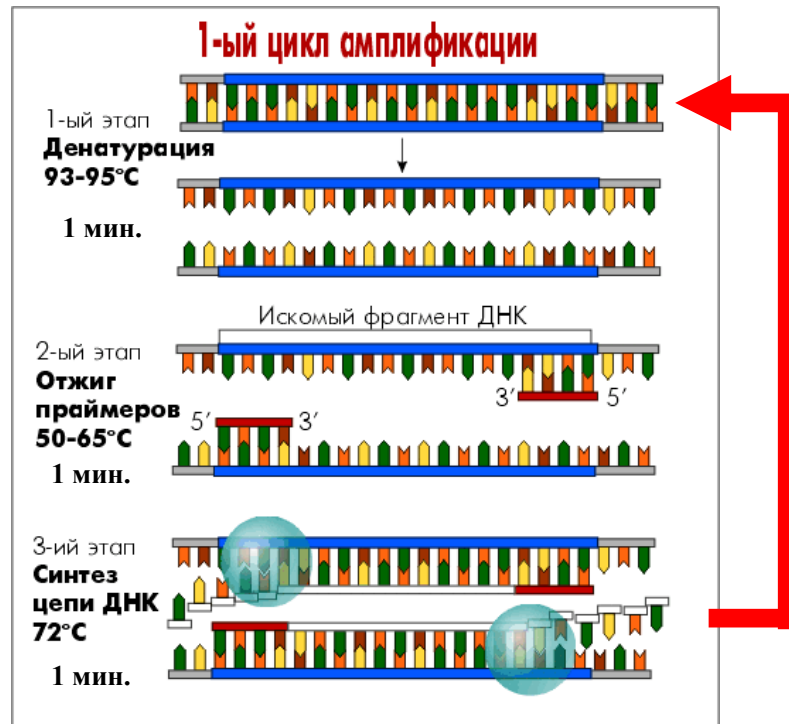


Рис. 12.12. Этапы полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Каждый цикл амплификации включает 3 этапа, протекающих в различных температурных режимах (рис. 12.12).:

1 этап: Денатурация ДНК (расплетение двойной спирали). Протекает при 93-95 градусах в течение 30-40 сек.

2 этап: Присоединение праймеров (отжиг). Присоединение праймеров происходит комплементарно к соответствующим последовательностям на противоположных цепях ДНК на границах специфического участка. Для каждой пары праймеров существует своя температура отжига, значения которой располагаются в интервале 50-65 градусов. Время отжига - 20-60 сек.

3 этап: Достаивание цепей ДНК. Комплементарное достаивание цепей ДНК происходит от 5'-конца к 3'-концу цепи в противоположных направлениях, начиная с участков присоединения праймеров. Материалом для синтеза новых цепей ДНК служат добавляемые в раствор дезоксирибонуклеотидтрифосфаты (дНТФ). Процесс синтеза катализируется ферментом термостабильной ДНК-полимеразой (Taq-полимеразой) и проходит при температуре 70-72 градусов. Время протекания синтеза - 20-40 сек.

Образовавшиеся в первом цикле амплификации новые цепи ДНК служат матрицами для второго цикла амплификации, в котором происходит образование искомого специфического фрагмента ДНК (ампликона). При многократном повторении циклов синтеза происходит экспоненциальное увеличение числа копий специфического фрагмента ДНК, что позволяет из небольшого количества анализируемого материала, который может содержать единичные клетки микроорганизмов получить достаточное количество ДНК копий для идентификации их методом электрофореза.

Комплементарное достаивание цепи начинается не в любой точке последовательности ДНК, а только в определенных стартовых блоках - коротких двунитевых участках. При присоединении таких блоков к специфическим участкам ДНК можно направить процесс синтеза новой цепи только в этом участке, а не по всей длине ДНК цепи. Для создания стартовых блоков в заданных участках ДНК используют две олигонуклеотидные затравки (20 нуклеотидных пар), называемые праймерами.

Праймеры комплементарны последовательностям ДНК на левой и правой границах специфического фрагмента и ориентированы таким образом, что достаивание новой цепи ДНК протекает только между ними. Для получения достаточного количества копий искомого



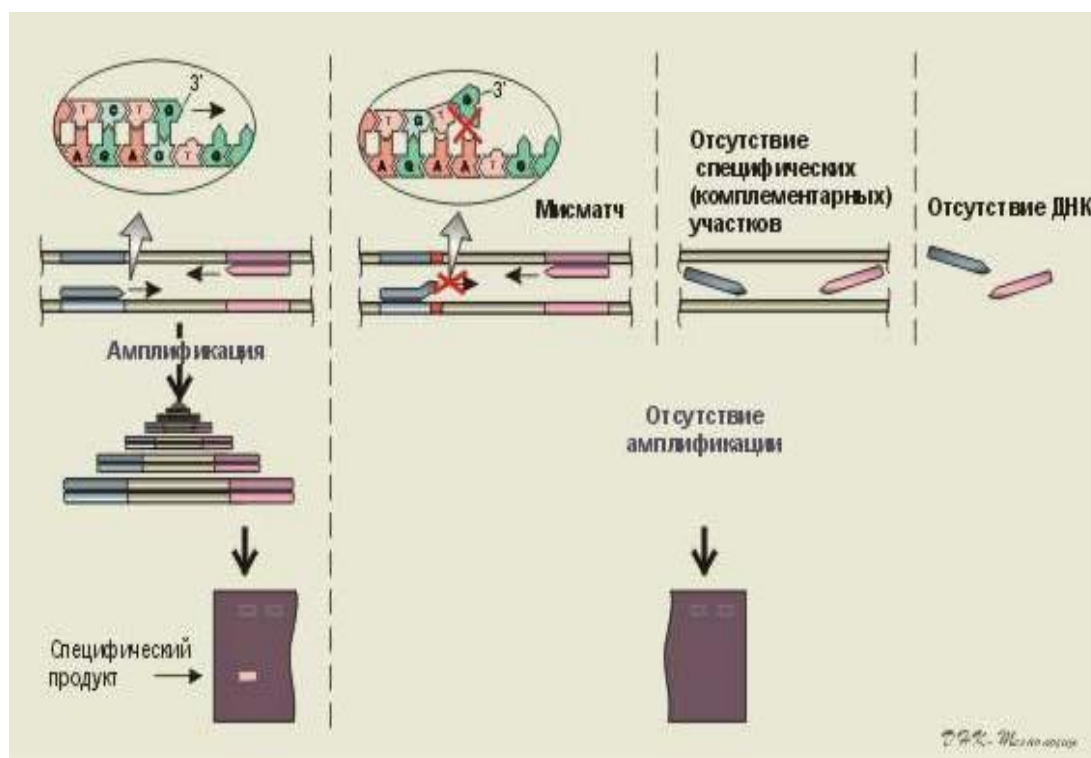


Рис. 12.13. Специфичность метода ПЦР.

характеристического фрагмента ДНК амплификация включает несколько (20-40) циклов.

Таким образом, ПЦР представляет собой многократное увеличение числа копий (амплификация) специфического участка ДНК катализируемое ферментом ДНК-полимеразой.

Таким образом, происходит накопление ампликонов в растворе по формуле  $2^n$ , где  $n$ -число циклов амплификации. Поэтому, даже если в исходном растворе первоначально находилась только одна двухцепочечная молекула ДНК, то за 30-40 циклов в растворе накапливается около 108 молекул ампликона. Этого количества достаточно для достоверной визуальной детекции этого фрагмента методом электрофореза в агарозном геле.

### **Преимущества метода ПЦР как метода диагностики инфекционных заболеваний**

#### 1.Прямое определение дефекта ДНК или наличия возбудителей.

Многие традиционные методы диагностики, например иммуноферментный анализ, выявляют белки-маркеры, являющиеся продуктами жизнедеятельности инфекционных агентов, что дает лишь опосредованное свидетельство наличия инфекции. Выявление специфического участка ДНК возбудителя методом ПЦР дает прямое указание на присутствие возбудителя инфекции.

#### 2.Высокая специфичность (рис. 12.13).

Высокая специфичность метода ПЦР обусловлена тем, что в исследуемом материале выявляется уникальный, характерный только для данного возбудителя фрагмент ДНК. Специфичность задается нуклеотидной последовательностью праймеров, что исключает возможность получения ложных результатов, в отличие от метода иммуноферментного анализа, где нередки ошибки в связи с перекрестно-реагирующими антигенами.

#### 3.Высокая чувствительность.

Метод ПЦР позволяет выявлять даже единичные клетки бактерий или вирусов. ПЦР-диагностика обнаруживает наличие возбудителей инфекционных заболеваний в тех случаях, когда другими методами (иммунологическими, бактериологическими, микроскопическими) это сделать невозможно. В течение нескольких часов с помощью ПЦР из одного фрагмента молекулы ДНК можно получить более 50 млрд. идентичных молекул. Таким образом, можно изучить генетический материал, присутствующий в крошечных количествах. Чувствительность ПЦР-анализа составляет 10-100 клеток в пробе (чувствительность иммунологических и микроскопических тестов -1000-100000 клеток).

#### 4.Универсальность процедуры выявления различных возбудителей

Материалом для исследования методом ПЦР служит ДНК возбудителя.

Метод основан на выявлении фрагмента ДНК или РНК, являющегося специфичным для конкретного организма. Сходство химического состава всех нуклеиновых кислот позволяет применять унифицированные методы проведения лабораторных исследований. Это дает возможность диагностировать несколько возбудителей из одной биопробы. В качестве исследуемого материала могут использоваться различные биологические выделения (слизь, моча, мокрота), соскобы эпителиальных клеток, кровь, сыворотка.

## МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ. ПРЕНАТАЛЬНАЯ (ДОРОДОВАЯ) ДИАГНОСТИКА

*Медико-генетическое консультирование* - это специализированный вид медицинской помощи. Смысл его – **профессиональная** оценка риска рождения в конкретной семье ребенка с наследственной болезнью или врожденным уродством. Оценить такой риск иногда достаточно сложно, но всегда - очень важно, потому что многие из наследственных и врожденных болезней приводят к инвалидности или даже к смерти.

По данным Всемирной организации здравоохранения, около 2,5% новорожденных появляются на свет с различными пороками развития. При этом 1,5-2% из них обусловлены преимущественно неблагоприятными экзогенными факторами (так называемыми тератогенами), а остальные имеют преимущественно генетическую природу. Среди экзогенных причин пороков развития следует упомянуть биологические (инфекционные заболевания: краснуха, герпес, токсоплазмоз, хламидийная инфекция, цитомегаловирусная инфекция), физические (все виды ионизирующего излучения, радионуклиды), химические (все противоопухолевые препараты, гормональные препараты, наркотические вещества).

Генетические факторы пороков развития отражают так называемый общий генетический груз популяции, который проявляется более чем у 5% населения планеты. Примерно 1% генетического груза приходится на генные мутации, 0,5% - на хромосомные мутации, около 3-3,5% соответствует болезням с выраженным наследственным компонентом (диабет, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, некоторые опухоли и т.д.). Если к этому добавить, что около 40-50% ранней младенческой (перинатальной) смертности и инвалидности с детства обусловлены наследственными факторами и примерно 30% коек в детских стационарах заняты детьми с наследственной патологией, становится понятной безусловная необходимость правильной и рационально организованной ранней диагностики врожденных и наследственных болезней. Решающая роль в этом принадлежит институтам медико-генетической службы, и в первую очередь тем ее подразделениям, которые обеспечивают пренатальную диагностику, позволяющую не только установить диагноз еще до рождения, но и предотвратить появление на свет детей с тяжелыми пороками развития, с социально значимыми смертельными генными и хромосомными болезнями.

## Где можно получить консультацию врача-генетика?

Такие специалисты ведут прием в медико-генетических консультациях – межрегиональных, областных, городских. Кроме того, существуют также Федеральные центры (Москва, С.Петербург, Томск, Новосибирск), где оказывается этот вид медицинской помощи. В ряде городов имеются консультативные медико-генетические кабинеты (в составе поликлиник, женских консультаций, диагностических центров).

## Кому показано медико-генетическое консультирование?

В идеале – этот вид медицинской помощи показан всем супругам, планирующим деторождение.

## Когда лучше обратиться к врачу-генетику?

Лучшее время для обращения за медико-генетической консультацией - когда семья еще только планирует рождение первенца. Такое консультирование называется **проспективным**.

Медико-генетическое консультирование семей, где ранее уже отмечалось рождение ребенка с наследственной либо врожденной патологией, называется **ретроспективным**. В идеале такое консультирование также надо проводить в промежуток времени между беременностями.

Обратиться за консультацией можно и во время беременности, но этот вариант несколько хуже, особенно – если семья обращается не в первом, а во втором триместре текущей беременности.

И наконец, при некоторых ситуациях полезным оказывается **добрачное** медико-генетическое консультирование – например, при наличии в семье наследственных болезней, или болезней с семейным накоплением.

Консультирование всех семей можно признать оптимальным подходом, поскольку в ряде стран такая практика позволила значительно снизить количество инвалидизирующих болезней, а значит – предупредила множество человеческих трагедий. Но "тотальное" медико-генетическое консультирование – чрезвычайная редкость. В абсолютном большинстве стран семьи обращаются к врачу генетику только при наличии факторов риска – особенностей семейной истории, образа жизни супругов, состояния их здоровья. Статистика свидетельствует: таких "семей риска" – около 10%. Такие широкие показания обусловлены фактом: риск рождения ребенка с наследственной болезнью или врожденным пороком развития есть у **любой** супружеской пары при **каждой** беременности. Этот риск складывается из многих составляющих:

- наследственного груза, доставшегося нам от многих поколений предков
- свежих мутаций, происходящих в ДНК наших яйцеклеток и сперматозоидов
- неблагоприятных физических, химических и пр. влияний внешней среды на организм развивающегося эмбриона
- аналогичных влияний на эмбрион со стороны материнского организма (инфекционные, эндокринные и др. болезни матери).

Простейшая оценка "навскидку" покажет – любой из нас имеет вышеперечисленные факторы риска. Поэтому и нужна количественная оценка их опасности для потомства конкретной семьи. К счастью, **в большинстве случаев** риск рождения ребенка с наследственной болезнью низок – **не превышает 5%**. Но убедиться в этом позволяет только медико-генетическое консультирование.

В ряде же случаев такой риск исчисляется в более высоких цифрах – в семьях, имеющих отягощенную наследственность, при высоковероятном действии на организм супругов вредных факторов окружающей среды, наличии у женщины некоторых заболеваний. При таких ситуациях медико-генетическое консультирование еще актуальнее, поскольку позволяет избежать многих трагических для семьи последствий.

### **Как оценивается риск наследственной и врожденной патологии у потомства?**

На приеме у врача-генетика "взвешиваются" все основные составляющие вышеуказанного риска. Наиболее трудоемкий процесс – оценка сегрегационного генетического груза, т.е. той неблагоприятной наследственности, которая досталась нам от сотен поколений предков. Такой груз имеется у каждого человека – ведь было бы наивным полагать, что вездесущий мутационный процесс совершенно не затронул гены ваших прародителей. Это можно расценить как претензию на статус "Человека Идеального". На самом деле, каждый человек является носителем в среднем 3-4 генов наследственных болезней. Это крайне приблизительный подсчет, по факту же количество патологических мутаций в геноме любого человека существенно больше.

Оценка сегрегационного груза в семье начинается с составления родословной семьи. Родословная позволяет оценить, с каким количеством родственников предстоит "работать" врачу-генетику, определить тип наследования болезней в этой семье (если таковые имеются) и дать еще много полезной информации. В основу родословной ложится история болезней всех известных родственников и предков. Врача интересуют все

случаи тяжелых болезней, повторяющихся из поколения в поколение, а также близкородственные браки в семье.

Обязательно уточняются, было ли бесплодие, выкидыши, рождение детей с пороками развития, или умственной отсталостью. Поэтому, отправляясь на прием, необходимо поговорить с родственниками и уточнить все неясности.

Если в семье выявляется наследственное заболевание, то по составленной родословной специалист определит, каким образом оно передается и каков процент риска его передачи потомству. Если есть риск наследования ребенком генетической патологии, то врач расскажет о возможных методах обследования до зачатия и во время беременности.

### **Основные вопросы, поднимаемые в процессе консультирования:**

- Имеются ли у Вас и Ваших кровных родственников наследственные болезни?
- Являетесь ли Вы и Ваши родственники здоровыми носителями генов таких болезней?
- Какова вероятность того, что у Вашего будущего ребенка может проявиться наследственное заболевание?
- Каковы тяжесть течения, возможности лечения и реабилитации при этой болезни?
- Существует ли возможность дородовой диагностики такого заболевания?

При повышенном риске какой-либо конкретной патологии у плода при беременности зачастую возможно провести дородовую диагностику, результаты которой покажут, болен плод или нет.

В процессе консультирования учитываются и разные факторы, способные повлиять на внутриутробное развитие плода - медикаменты и другие химикаты, профессиональная вредность, заболевания беременной женщины и т.д. При необходимости вырабатывается план наблюдения и профилактики возможных нежелательных последствий.

Эффективность медико-генетического консультирования значительно возрастает благодаря использованию современных методов **пренатальной (дородовой) диагностики**. Она позволяет задолго до рождения определить заболевание и, если необходимо, прервать беременность.

### **Пренатальная диагностика**

**Объектом** научного изучения является зародыш человека на разных этапах внутриутробного развития. Человеческий зародыш сегодня доступен

для самых разнообразных исследований и диагностики практически на любой стадии развития.

**Основные показания** для направления беременной на пренатальную диагностику во всем мире примерно одинаковы. Они включают: 1) возраст женщины старше 35 лет (в России по приказу Минздрава 1993 года - старше 39 лет); 2) наличие не менее двух самопроизвольных выкидышей (абортов) на ранних сроках беременности; 3) наличие в семье ребенка или плода от предыдущей беременности с болезнью Дауна, другими хромосомными болезнями, с множественными врожденными пороками, семейное носительство хромосомных перестроек; 4) многие моногенные заболевания, ранее диагностированные в семье или у ближайших родственников; 5) применение перед и на ранних сроках беременности ряда фармакологических препаратов; 6) перенесенные вирусные инфекции (гепатит, краснуха, токсоплазмоз и др.); 7) облучение кого-нибудь из супругов до зачатия.

В последние годы помимо перечисленных констатирующих показаний, которые, как уже указывалось, являются стандартными и полезны для сведения не только врачам, но и всем женщинам детородного возраста, особенно важная роль принадлежит исследованию маркерных эмбриональных белков в сыворотке крови матери, таких, как альфа-фетопротеин (АФП), хориальный гонадотропин (ХГЧ), свободный эстрадиол и некоторые другие. Все эти белки являются эмбрионспецифичными, то есть продуцируются клетками самого плода или плаценты и поступают в кровоток матери, причем их концентрация в сыворотке крови беременных меняется в зависимости от срока беременности и состояния плода. В частности, содержание АФП возрастает при открытых дефектах нервной трубки (экзенцефалия, мозговые грыжи), незаращении передней брюшной стенки, аномалиях почек. В мировой литературе накоплен обширный фактический материал об изменении этих сывороточных белков в норме и при различной патологии, и практически во всех развитых странах проводится скринирование всех беременных женщин на содержание этих белков с целью выявления женщин с высоким риском рождения детей с врожденными и наследственными пороками. Проведенное в оптимальные сроки (15-16-недельной беременности) с использованием трех тест-систем исследование позволяет выявить до 80% плодов с дефектами развития внутренних органов и до 65% - с хромосомными болезнями (например, с болезнью Дауна, популяционная частота которой составляет 1 на 600-650 новорожденных). Естественно, что столь высокая эффективность и соответственно экономическая рентабельность (стоимость содержания одного ребенка с болезнью Дауна в течение года в американском спец. интернате оценивается в 40-50 тыс. долл. США) скринирующих программ могут быть достигнуты только при условии массового скрининга всех беременных с использованием



**К непрямому методу относится исследование маркерных эмбриональных белков (МЭБ) в**

**сыворотке крови матери:**

- альфа-фетопротеина (АФП);**
- хориального гонадотропина (ХГЧ);**
- свободного эстрадиола и т.д.**

**Это эмбрионспецифичные белки, которые продуцируются клетками самого плода или плаценты и поступают в кровоток матери. Их концентрация меняется в зависимости от срока беременности и состояния плода.**

Рис. 13.1. Непрямые методы пренатальной диагностики.

компьютерных программ подсчета риска. Скринирование АФП и ХГЧ во время беременности ведется и во многих медико-генетических центрах России.

К сожалению, сравнительно высокая стоимость иммуноферментного анализа, отсутствие отечественных наборов необходимого качества приводят к тому, что даже в таких городах, как Москва и Санкт-Петербург, менее половины беременных подвергаются скринингу. Причем в большинстве случаев он ограничен только АФП, что резко снижает его диагностические возможности по сравнению со стандартными программами, основанными на тестировании сразу нескольких маркерных белков.

**Предметом (объектом) ПД** является зародыш человека на разных этапах внутриутробного развития. Человеческий зародыш сегодня доступен для самых разнообразных исследований и диагностики практически на любой стадии развития. Методы, применяемые в ПД, целесообразно разделить на не прямые, когда объектом исследования является беременная женщина, и прямые, когда исследуется сам плод. Прямые методы ПД могут быть инвазивными (оперативными) и неинвазивными.

### **Непрямые методы пренатальной диагностики (рис. 13.1)**

Следует отметить, что основное назначение не прямых методов - отбор женщин групп высокого риска для дальнейшего углубленного наблюдения. Наряду с бактериологическими исследованиями на скрытые инфекции и акушерско-гинекологическим осмотром важная роль принадлежит медико-генетическому консультированию. При этом уже на уровне женских консультаций женщина может получить информацию о том, относится она или нет к группам высокого риска рождения больного ребенка.

### **Ультразвуковое сканирование (рис. 13.2.)**

Наиболее распространенным и самым эффективным прямым неинвазивным методом исследования плода является ультразвуковое обследование (сканирование) - ультразвуковая диагностика (УЗД). Приятно отметить, что практически все медико-генетические центры России укомплектованы импортными УЗ-аппаратами высокой разрешающей способности и до 90% всех беременных Москвы и Санкт-Петербурга подвергаются УЗ-обследованию во время беременности. По данным городского МГЦ Санкт-Петербурга УЗ-диагностика позволяет выявить до 80% плодов с анатомическими пороками, то есть данный метод сегодня является самым простым и эффективным способом диагностики анатомических пороков.



Рис. 13..2. Метод ультразвукового исследования плода.

Важно подчеркнуть, что метод апробирован уже на десятках, если не сотнях миллионов беременных и его абсолютная безвредность для матери и плода твердо доказана. К сожалению, он малоинформативен при хромосомных и особенно моногенных заболеваниях, для диагностики которых необходимо использовать клетки самого плода или его провизорных органов (плаценты, оболочек), получаемых под контролем УЗИ оперативными методами.

### **Инвазивные (оперативные) методы пренатальной диагностики (рис. 13.3)**

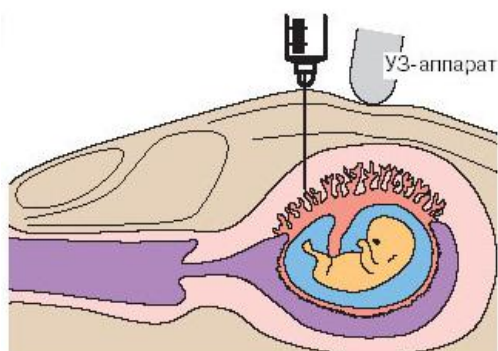
Некоторым беременным необходимо проведение специальных методов пренатальной диагностики. Показаниями для генетического исследования клеток плода являются возраст беременной старше 35 лет, наличие в семье ребенка с пороками развития или хромосомной патологией, носительство хромосомных перестроек одним из супругов, а также ультразвуковые отклонения и изменение уровня биохимических маркеров.

Достаточно полная информация о кариотипе зародыша, биохимических и генотипических особенностях его клеток может быть получена только на основании соответствующих исследований непосредственно тканей самого плода или его провизорных органов (плаценты, хориона). Разработаны и широко применяются различные инвазивные методы, позволяющие получать эмбриональный материал на любом сроке беременности. Так, в настоящее время реально доступны исследованию зародыши человека **доимплантационных** стадий развития, то есть в течение первых 7 дней после оплодотворения. Анализируя молекулярными или цитогенетическими методами полярные тельца или изолированные клетки (бластомеры) дробящихся зародышей, полученных в результате искусственного оплодотворения вне организма матери, можно с достаточной уверенностью определить пол плода (что важно при наличии в семье заболеваний, сцепленных с X-хромосомой), а также провести молекулярную диагностику некоторых распространенных наследственных заболеваний (муковисцидоз, гемофилия, синдром фрагильной X-хромосомы). В передовых западных центрах такая доимплантационная диагностика уже проводится и зарегистрированы случаи рождения здоровых детей после такой процедуры [5]. Однако и в этих центрах доимплантационная диагностика находится пока в стадии научных разработок. В России и странах СНГ доимплантационная диагностика наследственных болезней пока отсутствует. Вместе с тем во многих медико-генетических центрах страны широко применяются инвазивные методы получения плодного материала как в первом, так и во втором триместре беременности.

Все инвазивные манипуляции проводятся под ультразвуковым контролем в стационаре одного дня опытным врачом. После процедуры

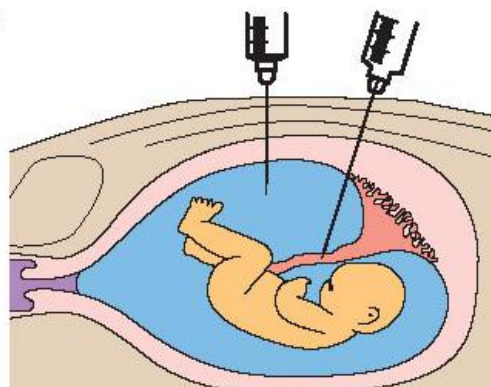


Дробление (1–7-й день беременности)  
Бластуляция (7–20-й день беременности)



Органогенез (20–60-й день беременности)  
Начало плодного периода (первый триместр беременности)

В



Плодный период (второй триместр беременности)

Стадии внутриутробного развития человека и основные методы получения плодного материала: а – доимплантационный период, получение отдельных бластомеров методом микрохирургии дробящейся яйцеклетки; б – первый триместр беременности, получение ворсинок хориона путем биопсии ворсинчатой оболочки, забор материала контролируется при помощи УЗ-аппарата; в – второй триместр беременности, получение ворсинок плаценты (плацентоцентез), образцов амниотической жидкости (амниоцентез), лимфоцитов плода из пуповины (кордоцентез)

Рис. 13.3. Методы пренатальной диагностики врожденных аномалий

беременная в течение четырех – пяти часов находится под наблюдением специалистов. Чтобы избежать возможных осложнений пациентке профилактически назначаются препараты до и после процедуры.

### **Биопсия хориона**

Биопсия хориона – это получение клеток из будущей плаценты, проводится в 8-12 недель беременности. Риск осложнений (самопроизвольное прерывание беременности) после биопсии хориона составляет 2-3 %. Преимуществами этого метода является срок проведения - до 12 недель и скорость получения ответа - 2-3 дня.

### **Амниоцентез**

Амниоцентез – аспирация амниотической жидкости в 16-24 недели беременности. Для получения цитогенетического анализа клетки амниотической жидкости должны пройти длительное культивирование (2-3 недели). Амниоцентез является самым безопасным методом пренатальной диагностики, так как процент осложнений после его применения не превышает 1%.

### **Кордоцентез**

Высокоинформативным инвазивным методом является кордоцентез - пункция пуповины плода. Оптимальный срок выполнения кордоцентеза – 22-25 недель беременности.