

Б. Р. Мандель

ОСНОВЫ СОВРЕМЕННОЙ ГЕНЕТИКИ

*Учебное пособие
для учащихся высших учебных заведений
(бакалавриат)*



Москва
Берлин
2016

УДК 575
ББК 28.04
М23

Мандель, Б. Р.

М23 Основы современной генетики : учебное пособие для учащихся высших учебных заведений / Б. Р. Мандель. — М. ; Берлин : Директ-Медиа, 2016. — 334 с.

ISBN 978-5-4475-8332-3

Учебное пособие создано для студентов и преподавателей высших учебных заведений, готовящих психологов, педагогов, медицинских работников. Пособие представляет собой курс с тематическим расположением учебного материала и включает в себя методические рекомендации по изучению данной научной дисциплины.

Учебное пособие создано на основе разработанных и апробированных программ в соответствии с Федеральным Государственным образовательным стандартом высшего профессионального образования (ФГОС-3, ФГОС-3+).

Пособие представляет собой курс с инновационным расположением учебного материала в соответствии с модульным распределением тематики и включает в себя методические рекомендации по изучению данной научной дисциплины — основ современной генетики с обращением к целому ряду смежных дисциплин: общей психологии, специальной психологии, клинической психологии, психологии личности, возрастной психологии, общей биологии, психогенетики и т. д.

Каждая тема завершается вопросами и заданиями по изученному материалу, а после модулей идут списки тематики семинаров, практические задания, литература к ним, интернет-источники.

Учебное пособие содержит значительное число ссылок и пояснений, содержащих сведения об упоминаемых авторах и толкования терминов.

Учебное пособие содержит общий список литературы по дисциплине, примерный список вопросов для самоподготовки к зачетам/экзаменам, примерную тематику рефератов, образцы тестов. В конце книги приводится глоссарий.

Книга будет полезна и интересна не только будущим бакалаврам, но и магистрантам, психологам и педагогам, медицинским работникам, всем, интересующимся основами современной генетики как динамичной, активно и постоянно развивающейся теоретической и практической отраслью науки не только в нашей стране, но и за рубежом.

Текст печатается в авторской редакции.

УДК 575
ББК 28.04

ISBN 978-5-4475-8332-3 © Мандель Б. Р., текст, 2016
© Издательство «Директ-Медиа», оформление, 2016

Введение

Генéтика (от *греч.* γενητης — происходящий от кого-то) — наука о закономерностях наследственности и изменчивости. В зависимости от объекта исследования в науке классифицируют генетику растений, животных, микроорганизмов, человека и т. д., а в зависимости от используемых методов [общих для ряда дисциплин] — молекулярную генетику, экологическую генетику и другие. Идеи и методы генетики играют важную роль в медицине, биологии, сельском хозяйстве, микробиологической промышленности, в генетической инженерии. Мы будем изучать основы науки и в ходе этой работы познакомимся с рядом ее важнейших положений, принципов, законов, установлений, необходимых для будущего специалиста гуманитарной сферы.

Первоначально сама генетика изучала только общие закономерности наследственности и изменчивости на основании фенотипических данных, а вот понимание механизмов наследственности, то есть роли генов как элементарных носителей наследственной информации, создание и апробирование хромосомной теории наследственности и еще целый ряд вопросов стали возможными как в плане постановки их, так и решения с применением к проблеме наследственности методов цитологии, молекулярной биологии и других смежных дисциплин. Сегодня известно, что гены реально существуют и являются специальным образом отмеченными участками ДНК или РНК (см. ниже) — молекулами, в которой закодирована вся генетическая информация. Мы познакомимся с этими вопросами, узнаем об истории науки, ее развитии в мире и России, законах Менделя, хромосомной теории и началах молекулярной генетики, об открытии и расшифровке структуры ДНК и многом другом, определенном нам

Федеральным государственным образовательным стандартом и нашим интересом и любовью к науке.

Программа курса «Основы современной генетики» предназначена для целого ряда направлений в бакалавриате, однако мы будем равняться на направление «Психология», ибо оно позволит наиболее полно и точно рассмотреть нашу научную дисциплину в ее теоретической красе и практической значимости, познакомить студентов с основами генетического наследования признаков, основами репродукции человека, проявлении генетических изменений, подготовить к дальнейшему изучению механизмов наследования психических свойств и появлению психических нарушений на генетическом уровне и т. д.

Целью изучения данной научной дисциплины является освоение базовых знаний по основам генетики для использования их при последующем изучении специальных дисциплин: психогенетики, психофизиологии, клинической психологии и др.

Задачи курса:

- овладение знаниями о природе наследственности, изменчивости;
- изучение основных механизмов передачи наследственной информации;
- изучение вопросов о наследовании психических болезней;
- приобретение навыков практического применения знаний: диагностика, описание фенотипа, составление генеалогического древа, прогнозирование здоровья потомства;
- овладение навыков просветительской и разъяснительной работы о значении медико-генетического консультирования среди населения.

В результате освоения данной дисциплины мы надеемся, что студенты будут:

— иметь достаточно знаний о цитологической основе наследственности и изменчивости, строении гена, закономерностях наследования, видах и причинах изменчивости;

— свободно владеть генетической терминологией;

— знать и уметь объяснять фундаментальные законы генетики;

— уметь составлять генеалогическое древо;

— владеть навыками прогнозирования проявлений наследственных болезней в потомстве;

— уметь фенотипически диагностировать генетические патологии;

— уметь решать генетические задачи.

Наша дисциплина — «Основы современной генетики» — относится к базовому циклу в его вариативной части.

Для освоения основ генетики необходимы знания и умения обучающихся, приобретенные в результате изучения таких «Анатомия ЦНС», «Физиология ВНД», «Современные концепции естествознания».

Данная дисциплина является базовой для дисциплин профессионального цикла: «Общей психологии», «Зоопсихологии и сравнительной психологии»; для дисциплин вариативной части профессионального цикла по профилю «Антропология», «Биология человека», «Основы психогенетики».

Процесс изучения «Основ современной генетики» направлен на формирование следующих *общекультурных* компетенций:

способность и готовность к:

— пониманию современных концепций картин мира на основании сформированного мировоззрения, овладения достижениями естественных и общественных наук, культурологии **(ОК-2)**;

— использованию системы категорий и методов, необходимых для решения типовых задач в различных областях профессиональной практики **(ОК-4)**;

— применению методов теоретического и экспериментального исследования, основных методов математического анализа и моделирования, стандартных статистических пакетов для обработки данных, полученных при решении различных профессиональных задач **(ОК-5)**;

— восприятию личности другого, эмпатии, установлению доверительного контакта и диалога, убеждению и поддержке людей **(ОК-7)**;

— проведению библиографической и информационно-поисковой работы с последующим использованием данных при решении профессиональных задач и оформлении научных статей, отчетов, заключений и пр. **(ОК-9)**;

— профессионально профилированному использованию современных информационных технологий и системы Интернет **(ОК-12)**.

Процесс изучения дисциплины направлен и на формирование следующих *профессиональных* компетенций:

способность и готовность к:

— реализации стандартных программ, направленных на предупреждение отклонений в социальном и личностном статусе и развития, а также профессиональных рисков в различных видах деятельности **(ПК-1)**;

— отбору и применению психодиагностических методик, адекватных целям, ситуации и контингенту респондентов с последующей математико-статистической обработкой данных и их интерпретации **(ПК-2)**;

— осуществлению стандартных базовых процедур оказания индивиду, группе; организации психологиче-

ской помощи с использованием традиционных методов и технологий **(ПК-4)**;

— выявлению специфики психического функционирования человека с учетом особенностей возрастных этапов, кризисов развития и факторов риска, его принадлежности к гендерной, этнической, профессиональной и другим социальным группам **(ПК-5)**;

— прогнозированию изменений и динамики уровня развития и функционирования познавательной и мотивационно-волевой сферы, самосознания, психомоторики, способностей характера, темперамента, функциональных состояний, личностных черт и акцентуаций в норме и при психических отклонениях **(ПК-7)**;

— ассистированию деятельности магистра или специалиста-психолога при осуществлении психологического вмешательства и воздействия с целью оптимизации психического функционирования индивида, группы, сообщества в различных сферах жизнедеятельности **(ПК-8)**;

— применению знаний по психологии как науки о психологических феноменах, категориях и методах изучения и описания закономерностей функционирования и развития психики **(ПК-9)**;

— пониманию и постановке профессиональных задач в области научно-исследовательской и практической деятельности **(ПК-10)**;

— участию в проведении психологических исследований на основе применения общепрофессиональных знаний и умений в различных научных и научно-практических областях психологии **(ПК-11)**;

— проведению стандартного прикладного исследования в определенной области психологии **(ПК-12)**;

— просветительской деятельности среди населения с целью повышения уровня психологической культуры общества **(ПК-20)**;

— проведению работ с кадровым составом с целью отбора кадров и создания психологического климата, способствующего оптимизации производственного процесса **(ПК-22)**.

В результате освоения дисциплины «Основы генетики» обучающийся должен:

— иметь полное представление о биологии человека, его связи с окружающей средой, сформировать естественнонаучное представление о человеке, подготовиться к дальнейшему изучению анатомо-физиологических и психологических дисциплин;

— знать терминологию предмета, основные законы общей биологии, основные функции органов и систем, их взаимосвязь;

— освоить разделы курса, умение выделять функциональные системы и практические навыки измерения отдельных параметров функционирования организма человека;

— уметь использовать полученные знания для самостоятельной работы с литературой, применять их в смежных и специальных дисциплинах;

— владеть целостным представлением о работе организма человека и его отдельных систем.

Модуль I.

Уникальность генетики как науки: предмет, задачи, структура, междисциплинарная основа

Тема 1. Генетика и основы генетики: историко-проблемный экскурс

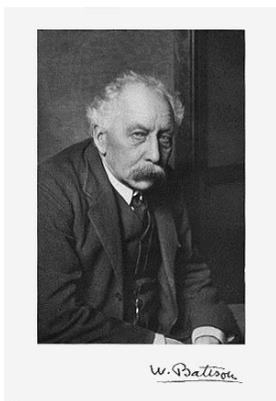
Предмет генетики. Задачи генетики и генетического анализа.

Основные методы.

Место генетики в системе наук.

Работу над каждой научной дисциплиной мы всегда начинаем с истории. Истории ее становления и развития, часто — с истории ее борьбы за свое, особое, место в общем круге наук, борьбы за само право ее существования, борьбы за место в академическом списке

университетских знаний, а в нашей стране далеких и, к счастью, ушедших лет тоталитаризма, еще и за право на «гражданство»...



Уильям Бэтсон — один из очень редких снимков

Термин «генетика» был введен У. Бэтсоном в 1906 (1907) г.¹ Ученый, кстати, отстаивал идею о невозможности наследования приобретенных признаков, говорил о прерывистой изменчивости организмов, предложил теорию «присутствия — отсутствия», объясняя возникновение

¹ **Уильям Бэтсон, Бейтсон** (Bateson) (1861–1926), английский биолог, ученый, писатель, журналист.

новых признаков у живых организмов *выпадением* тормозящих факторов.

А само наше слово «генетика» происходит от греческого слова «*genesis*», что означает «происхождение»!

Итак, теперь генетика (и наша ее часть) изучает два неразрывных свойства живых организмов: **наследственность** и **изменчивость**, и методы **управления ими**. Поэтому именно **наследственность и изменчивость являются предметом генетики**. Законы генетики применимы ко всем без исключения организмам, а методы ее широко используются различными биологическими науками: биохимией, зоологией, ботаникой, микробиологией, вирусологией, иммунологией, физиологией, экологией и, возможно, еще целым рядом новых научных дисциплин, практик и т. д.

Сразу уточним, ибо термины для нас имеют огромное значение — **наследственность** — **свойство живых организмов передавать свои признаки и особенности развития в неизменном виде следующему поколению**. Каждый/любой вид растения и животного сохраняет в процессе размножения характерные для него черты: лошадь рождает жеребенка, медведица рождает поросят, ячмень дает ячмень... И, удивительно: некоторые виды сохраняются в течение сотен миллионов лет в *относительно постоянном, скажем так, формате*. Например, современный броненосец практически ничем не отличается от броненосца раннего мелового периода. **Наличие семейств, родов, видов и прочих таксономических единиц обусловлено конкретно и именно явлением наследственности**. *Наследственность неразрывно связана с процессом размножения, а размножение с делением клетки и воспроизведением ее структур и функций. Наследственность обеспечивает не только передачу признаков потомству, но и точное сохранение характерного для данного организма типа развития, то есть проявление [в ходе онтогене-*

за] запрограммированных признаков и особенностей организма, сохранение постоянного типа обмена веществ.

Образование потомства при половом размножении происходит в результате слияния мужской и женской гамет² — этот процесс является «мостиком», который обеспечивает материальную непрерывность между поколениями. Каждый организм получает от своих родителей наследственные задатки — гены, поэтому дети и похожи на своих родителей.

Важно помнить: термин *наследственность* отличается по смыслу от термина *наследование*. «Наследование» обозначает процесс передачи какого-то конкретного признака от родителей потомству. Например, наследование цвета глаз, формы ушей, цвета кожи и т. д.

Теперь: наряду с явлением наследственности в предмет исследования генетики входит изучение изменчивости.

Изменчивость — разнообразие в проявлении признаков. Изменчивость заключается в изменении наследственных задатков в процессе их передачи потомству и последующего развития организма. Самым ярким примером изменчивости, например, является разнообразие признаков у человека. В потомстве может варьироваться все — морфологические физиологические признаки, обмен веществ, психика, иммунитет и пр. Вместе с тем, каждый из нас хорошо знает/понимает/видит, какие признаки он взял от матери и отца, чем похож на бабушку и дедушку, братьев

² **Гаметы** — репродуктивные клетки, имеющие гаплоидный (одинарный) набор хромосом и участвующие в гаметном, в частности, половом размножении. При слиянии двух гамет в половом процессе образуется зигота, развивающаяся в особь (или группу особей) с наследственными признаками обоих родительских организмов, продуцировавших гаметы.

и сестер... Существует несколько типов изменчивости: *наследственная, ненаследственная и онтогенетическая.*

Наследственная изменчивость (или **генотипическая**) обусловлена наследственно закрепленным изменением одного или нескольких генов. В основе наследственной изменчивости лежит либо возникновение мутаций (мутационная изменчивость), либо рекомбинация генетического материала в процессе *мейоза* (комбинативная изменчивость). В результате мутации может изменяться структура конкретного гена (генная мутация), строение хромосом (хромосомные мутации или перестройки), а также целых геномов (геномные мутации), что выражается в появлении в потомстве нового признака или признаков. Помимо мутаций в основе наследственной изменчивости лежит явление рекомбинации генов (*кроссинговер*) или хромосом (в ходе метафазы — анафазы мейоза³), что приводит к новому сочетанию генов (или хромосом) в гаметах и, следовательно, иной их генетической конституции. После слияния гамет в результате оплодотворения в потомстве появляются новые сочетания (комбинации) признаков. Такой тип изменчивости называется *комбинативным*.

Ненаследственная изменчивость (или модификационная) отражает изменение признака под влиянием определенных факторов внешней среды — гены при этом остаются в неизменном виде, и поэтому модифицированный признак потомству не передается (от хорошо загоревшего человека не родится коричневокожий ребенок...).

Онтогенетическая изменчивость отражает появление новых признаков в ходе индивидуального развития организма. Причиной онтогенетической изменчивости является функционирование различных наборов генов в ходе онтогенеза. Гены начинают «работать» и «выключаются» в определенном порядке, согласно именно той программе развития, которая характерна для данного вида. Результатом этого процесса является появление/исчезновение определенных признаков, в том числе, морфологических. Например, у младенца и взрослого человека внешний

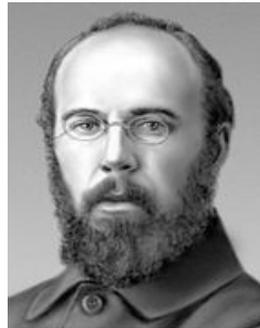
³ **Мейоз** — уменьшение или редукционное деление клетки — деление ядра эукариотической клетки с уменьшением числа хромосом в два раза. Происходит в два этапа (редукционный и эквационный этапы мейоза). Мейоз не следует смешивать с гаметогебезом — образованием специализированных половых клеток, или гамет, из недифференцированных стволовых.

вид, организация психики имеют значительные различия. Типичными примерами онтогенетической изменчивости являются морфологические изменения у земноводных, насекомых и др.

Наследственность и изменчивость — противоположные явления, но они неразрывно связаны между собой и обеспечивают как преемственность признаков в поколениях, так и их разнообразие.

Итак, узнав о нескольких основных понятиях нашей науки, мы можем теперь точно установить ее объект: все живые организмы — человек, животные, растения, грибы, дрожжи, бактерии, вирусы. В зависимости от объекта различают генетику человека, генетику животных и растений, генетику микроорганизмов, генетику вирусов и пр.

Сразу и о методах: основным здесь является **генетический анализ**, основателем которого является наш известный отечественный ученый А. С. Серебровский⁴, автор книги «Генетический анализ» (издана только в 1970 г.), не потерявшей актуальности и сегодня.



Генетический анализ — комплекс методов исследования генотипа и фенотипа.

*Александр Сергеевич
Серебровский*

Генотип — совокупность генов, а *фенотип* — совокупность признаков конкретного организма. Особенностью генетического анализа является то, что изучение генов осуществляется через контролируемые ими признаки — в связи с этим предметом генетического анализа является фенотип организма и его отдельные признаки.

⁴ Александр Сергеевич Серебровский (1892–1948) — русский и советский генетик, академик ВАСХНИЛ.

Признаком в генетике называют любое свойство или особенность, по которым организмы могут отличаться друг от друга. Это могут быть морфологические, биохимические, физиологические, анатомические и другие отличия. Подобно тому, как генотип можно разложить на элементарные наследственные единицы — гены, фенотип особи можно представить, как совокупность элементарных единиц — **фенов**. Каждый фен контролируется одним конкретным геном. Фен — есть простой элементарный признак. **Сложный признак контролируется несколькими генами, представляя собой сочетание фенов или фенотип**. Изучение элементарных признаков (фенов) позволяет выявить связь между геном и контролируемым им признаком, то есть изучить функцию гена.

Задачами генетического анализа являются:

— *изучение характера наследования отдельных признаков (ядерное или неядерное наследование):*

— *идентификация гена (установление его функции);*

— *изучение его взаимодействия с другими генами;*

— *определение его локализации на конкретной хромосоме, а также местоположения в пределах группы сцепления;*

— *изучение генотипа данного организма;*

— *выяснение структуры и функции гена, его молекулярной организации.*

Среди **методов генетического анализа (генетический анализ** — комплексный генетический метод, включающий следующие частные методы: гибридологический, мутационный, цитологический и т. д. В последнее время генетический анализ пополнился рядом новых современных методов: *гибридизацией соматических клеток, молекулярно-генетическими методами*, а также *методами смежных наук*: биохимии, иммунологии, зоологии, ботаники, микробиологии, вирусологии, физиологии, а также химии и физики) выделим:

— *гибридологический метод* заключается в создании системы скрещивания двух организмов с последующим учетом характера наследования признаков в потомстве.

Такой анализ может производиться только при наличии определенных различий между родителями. Для того чтобы увеличить разнообразие признаков у родительских форм получают дополнительные мутации. Характер наследования признаков анализируется с помощью математических приемов. Основоположником гибридологического метода является Грегор Иоганн Мендель⁵, который сформулировал основные его положения (принципы, законы):



Грегор Иоганн Мендель

- скрещиваемые организмы должны принадлежать к одному виду;
- организмы должны четко различаться по отдельным признакам;
- анализируемые признаки должны быть наследственно закрепленными;
- необходим количественный учет всех типов расщеплений в потомстве;
- *мутационный метод* используется для направленной индукции мутаций с целью создания различий между родителями при гибридологическом анализе и в биохимической генетике для выяснения функции гена;
- *цитологический метод* используется для изучения строения генетического аппарата клетки, поведения хромосом в процессе деления (митоза и мейоза),

⁵ **Грегор Иоганн Мендель** (1822–1884) — австрийский биолог и ботаник, сыгравший огромную роль в развитии представления о наследственности. Открытие им закономерностей наследования моногенных признаков (эти закономерности известны теперь как Законы Менделя) стало первым шагом на пути к современной генетике.

при слиянии гамет, а также для идентификации хромосомных и геномных мутаций;

— *математический метод* позволяет проводить математический и статистический анализ результатов скрещивания;

— *популяционный метод* позволяет изучать генетические процессы, происходящие на уровне популяций;

— *метод гибридизации соматических клеток in vitro* позволил начать эффективное картирование генов человека, устранил барьер нескрещиваемости некоторых организмов, сократил время проведения анализа.

Современный генетический анализ вышел на новый уровень, благодаря развитию таких методов, как *молекулярная гибридизация (dot-, блот-, слот-гибридизация, гибридизация in situ)*, *рестрикционный анализ, фингерпринт и футпринт, клонирование генов* (включая *позиционное и функциональное*), *метод «прогулки по хромосоме», секвенирование* и др. Использование этих методов в генетическом анализе значительно увеличило его разрешающую способность, позволило выйти на молекулярный уровень изучения организации генов и геномов у различных организмов, разработать новые ДНК-технологии для решения ряда теоретических и прикладных задач современной генетики.

Теперь можно уточнить задачи генетики: — **познание закономерностей наследственности и изменчивости и поиск путей практического использования этих закономерностей.** Решить эти задачи можно на разных уровнях организации живой материи: молекулярном, хромосомном молекулярно-генетическом, клеточном, организменном, популяционном.

Итак, генетика представляет собой одну из наиболее увлекательных и вместе с тем сложных дисциплин современного общего естествознания. Место ее среди

биологических наук и особый интерес к ней определяются тем, что она изучает *основные свойства организмов*, то есть названные выше наследственность и изменчивость.

Генетика наряду с морфологией, физиологией и биохимией служит теоретическим фундаментом всей современной медицины. Наследственность лежит в основе всех жизненных проявлений. Без наследственности и изменчивости была бы невозможна эволюция жизни на Земле. Поскольку человек — продукт длительной эволюции живой природы, все общебиологические закономерности отражены в его формировании как биологического вида *человек разумный* (*Homo sapiens*).

Генетика человека изучает явления наследственности и изменчивости на всех уровнях его организации и существования: молекулярном, клеточном, организменном, популяционном, биогеохимическом и пр. С периода зарождения (начало XX века) и особенно в период интенсивного подъема (50-е годы XX века) генетика человека развивалась не только как теоретическая, но и как клиническая дисциплина, постоянно подпитываясь как общебиологическими концепциями (эволюционное учение, онтогенез), так и генетическими открытиями (законы наследования признаков, хромосомная теория наследственности, информационная роль ДНК). В свою очередь развитие генетики человека ускоряло развитие теоретических дисциплин (например, молекулярной биологии) и клинической медицины (например, новой области в медицине — учения о хромосомных болезнях).

Медицинская генетика изучает роль наследственности в патологии человека, закономерности передачи от поколения к поколению наследственных болезней, разрабатывает методы диагностики, лечения

и профилактики наследственной патологии, включая болезни с наследственной предрасположенностью. Это направление синтезирует медицинские и генетические открытия и достижения, направляя их на борьбу с болезнями и улучшение здоровья людей.

Клиническая генетика — прикладной раздел медицинской генетики, то есть применение ее достижений к клиническим проблемам у пациентов или в их семьях: какая болезнь у пациента (диагноз), как ему помочь (лечение), как предупредить рождение больного потомства (прогноз и профилактика). В настоящее время клиническая генетика основывается на геномике, цитогенетике, биохимической генетике, иммуногенетике, формальной генетике, включая популяционную и эпидемиологическую, генетике соматических клеток и молекулярной генетике.

На данный момент, генетика, как наука, занимает основное место в **биологии**. Задачей ее, как мы знаем, является изучение наследственности и всевозможных изменений, которые определяют все основные свойства жизнедеятельности живого организма. Генетический материал, как и генетический код, являются достаточно универсальными элементами и лежат в основе всего живого. А многообразие форм жизни — результат его самореализации в продвижении индивидуального и исторического хода развития организмов. Достижения генетики являются определенной частью всех современных биологических отраслей науки. К примеру, *синтетическая теория эволюции* достаточно тесно граничит с *дарвинизмом*, так же, как и современная *биохимия*, основные положения которой основаны на достижениях молекулярной генетики. Наука *цитология*, основной задачей которой является изучение строения, репродукции, функционирование хромосом, пластид и митохондрий, другими словами, те же элементы, в ко-

торых записана генетическая информация. *Систематика животных, растений и микроорганизмов* все чаще прибегает к использованию сравнения генов. Сегодня наука все чаще исследует различные физиологические процессы растений и животных на генетических моделях — при исследовании мозга и нервной системы используются определенные генетические методы. И здесь еще и *иммунология*, которая изучает синтез антител, наука, практически полностью построенная на генетических данных. Вот и вывод: генетика действительно занимает ведущее место среди всех биологических дисциплин. Смотрите: благодаря многочисленным (и, к счастью, для науки удачным) экспериментам, например, в области молекулярной генетики, современная биология обогатилась фундаментальными открытиями, которые уже нашли широкое отражение/применение в генетике человека — *возможность работать с изолированными генами*. Она получена благодаря выделению гена в чистом виде и его синтезу. Далее: *доказательство включения чужеродной информации в геном, а также функционирования его в клетках высших животных и человека*. Можно смело утверждать, что генетика относится к наиболее прогрессирующим разделам современной науки в целом.

Вопросы и задания по материалам Темы 1

1. Что обозначает слово *генетика*?
2. Кто впервые употребил этот термин в научном исследовании?
3. Какие свойства живого организма изучает генетика?
4. Что такое наследственность?
5. Дайте общее представление об изменчивости, видах изменчивости.
6. Подготовьте сообщения о генетическом анализе.

7. Расскажите конкретно об известных методах генетического анализа.
8. Подготовьте сообщения о жизни и судьбе А. С. Серебровского.
9. Какие разделы (направления) генетики вам известны?
10. Расскажите о взаимосвязи генетики с биологическими науками и медициной.

Тема 2. Краткая история генетики: люди и факты, идеи и проблемы

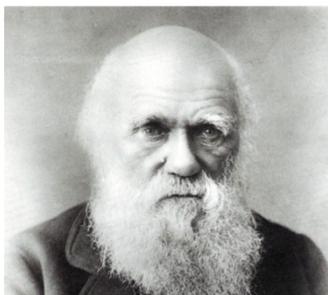
Зарождение и становление генетики как науки.

Поиски предмета и объекта новой науки.

Борьба идей.

Судьба российской генетики.

Еще в далекие древние времена люди, по сути, уже занимались *прикладной генетикой* — *селекцией*, приручая диких животных, отбирая среди собак самых разумных и преданных, среди коров — самых удойных, среди коней — самых выносливых, резвых и послушных, среди культурных растений — те, что отличались крупными и вкусными плодами. Именно от животных или растений, наделенных желательными для человека свойствами, получали потомство или плоды, которые наследовали, улучшая и изменяя, признаки родителей. Результатом многовековой работы стало одомашнивание диких животных и возникновение культурных растений. Со временем были выведены разные породы домашних животных и бесчисленные сорта растений. Но ученые, исследователи всегда понимали, что существует некая материальная субстанция, способная пере-

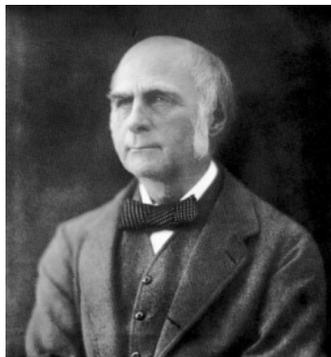


*Чарльз Дарвин. Снимок
сделан незадолго до смерти*

давать признаки от родителей потомкам. Еще не так давно считалось, что такой субстанцией является, скажем, кровь, вернее, какое-то вещество, содержащееся в крови — смешиваясь, эти *«преемственные факторы крови»* передаются потомкам. Эта ошибочная гипотеза наследования признаков была названа

пангенезисом (от греч. *пан* — все и *генезис*). Согласно этой концепции, каждая клетка организма с кровью передает половой клетке мелкий зародыш — *гемму*, из которой у будущего организма разовьется такая же клетка.

Теорию пангенезиса выдвинул в 1868 г. Ч. Дарвин⁶: ему просто необходимо было подвести какую-то основу под явление наследования признаков.



*Сэр Френсис Гальтон.
Снимок сделан в 1897 году*

⁶ **Чарлз Роберт Дарвин** (1809–1882) — английский натуралист и путешественник, одним из первых осознал и наглядно продемонстрировал, что все виды живых организмов эволюционируют во времени от общих предков. В своей теории, первое развернутое изложение которой было опубликовано в 1859 году в книге «Происхождение видов», основной движущей силой эволюции Дарвин назвал естественный отбор и неопределенную изменчивость. Роль силы, формировавшей понимание Дарвином изменяющихся природных условий в качестве движущей силы естественного отбора, сыграл искусственный отбор, достигший к тому времени значительного развития в английском сельском хозяйстве и сделавший привычным взгляд на одомашненных животных и одомашненные растения как на результат такого отбора. Существование эволюции было признано большинством ученых еще при жизни Дарвина, в то время как его теория естественного отбора как основное объяснение эволюции стала общепризнанной только в 30-х годах XX столетия с появлением синтетической теории эволюции. Идеи и открытия Дарвина в переработанном виде формируют фундамент современной синтетической теории эволюции и составляют основу биологии, как обеспечивающие логическое объяснение биоразнообразия. Ортодоксальные последователи учения Дарвина развивают направление эволюционной мысли, носящее его имя (дарвинизм).

Его двоюродный брат Френсис Гальтон⁷ проводил опыты по проверке правильности гипотезы пангенезиса. Для этого он переливал кровь от темных кроликов светлым, ожидая, что имеющиеся в крови гемулы темноокрашенных клеток разовьются в темные пятна на шерсти светлых кроликов. Однако гипотеза не подтвердилась. Переливание крови не оказало никакого влияния на окрас шерсти потомства. Гипотеза пангенезиса была, действительно, искусственной — ведь и сам Дарвин ее считал «временной», а позднее и признал ошибочной.

Гипотеза пангенезиса напоминала гипотезу наследования признаков, предложенную еще античным врачом Гиппократом. По мнению великого элина, «семена» мужчины и «семена» женщины создаются всеми частями человеческого тела, поэтому и несут информацию о всех этих частях. При слиянии «семян» матери и отца признаки вступают в борьбу, и у ребенка проявляется признак-победитель.

Но современная генетика? Как же происходило ее рождение?

В 1865 году в моравском городе Брюнне (сейчас Брно) на заседании общества натуралистов с докладом выступил монах-августинец Грегор Мендель (см. выше). Какое скучное выступление: о том, какие странные количественные соотношения желтых и зеленых, морщинистых и гладких горошин он получил, скрещивая растения гороха. Никакого впечатления на слушателей! Никто из присутствующих на заседании даже не подозревал, что является участником/свидетелем зарождения новой науки, которой предназначено стать *царицей биологии*, и слушает человека, чьи портреты будут помещены во все

⁷ Сэр Френсис Гальтон (1822–1911) — английский исследователь, географ, статистик, антрополог и психолог; основатель дифференциальной психологии и психометрики.

учебники биологии, чье имя будет известно во всем мире как имя **основоположника генетики!**

Результаты опытов Менделя опровергали представление о том, что наследственные факторы смешиваются, подобно двум растворам, и доказывали, что признаки родителей наследуются отдельно как дискретные (прерывающийся) признаки.

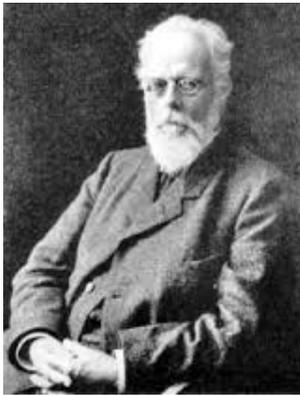
Кстати, Мендель с детства увлекался садоводством, интересовался растениями и даже мечтал преподавать естественные науки. Однако сдавая экзамены на звание преподавателя, получил *неудовлетворительные оценки по биологии и геологии*. Не удивительно ли? Еще дважды он пытался пересдать биологию и каждый раз проваливался на экзаменах. Однако Мендель не разочаровался в науке и с увлечением занялся *гибридизацией растений, изучая математические закономерности распределения признаков у гибридов*.

Особенно интересными оказались опыты с растениями гороха, которые отличались такими качественными признаками: семена гладкие или морщинистые, желтые или зеленые, выпуклые или с перетяжками. Потомство, полученное от скрещивания разных форм растений, Мендель аккуратно подсчитывал. До него такого математического анализа никто никогда не делал: оказалось, что количественные соотношения у потомков разных поколений всегда одинаковые. Он опубликовал результаты своих исследований и разослал их 40 известным ботаникам того времени, однако никто из них не нашел ничего интересного в работе чешского монаха. Мендель попробовал повторить свои опыты с другим растением — ястребинкой и с животными — пчелами. К сожалению, эти опыты ничего не дали — он случайно он выбрал объекты, наследование признаков которых, как стало понятным позже, в принципе не может быть таким, как у гороха, поскольку размножение их происходит при помощи *партогенеза*.

за⁸. В результате и сам Мендель перестал верить в свое открытие.

Через три года после исторического брюнского доклада Г. Менделя избрали настоятелем монастыря, и он прекратил биологические исследования, так никогда и не узнав, что его результаты, опубликованные в материалах заседания Брюнского общества натуралистов и врачей, через 35 лет будут подтверждены, и его имя станет именем основоположника генетики.

Несогласие с Дарвином (пангенезис) высказал, и



Август Вейсман

выдающийся биолог Август Вейсман⁹. К сожалению, у него было плохо со зрением — он был вынужден прекратить любимые микробиологические исследования и посвятил себя теоретическим аспектам биологии, сделав дерзкие предположения, которые со временем оказались предтечей будущих открытий: он выдвинул гипотезу о том, что *количество хромосом в половых клетках должно быть вдвое меньше, чем в*

⁸ **Партеногенез** (от др.-греч. παρθένος — дева, девушка, девушка и γένεσις — возникновение, зарождение, у растений — *атомикси*) — так называемое «девственное размножение», одна из форм полового размножения организмов, при которой женские половые клетки (яйцеклетки) развиваются во взрослом организме без оплодотворения. Хотя партеногенетическое размножение не предусматривает слияния мужских и женских гамет, партеногенез считается половым размножением, так как организм развивается из половой клетки. Считается, что партеногенез возник в процессе эволюции раздельнополых форм.

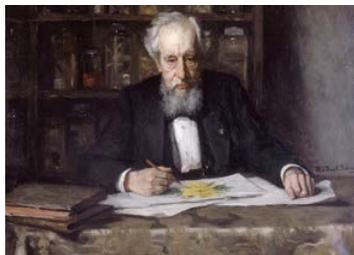
⁹ **Август Вейсман** (1834–1914) — немецкий зоолог и теоретик эволюционного учения.

соматических. В противоположность теории пангенезиса, Вейсман предположил, что зачаточные клетки и клетки тела — принципиально разные. Он выдвинул идею, что неизвестный тогда еще наследственный фактор должен иметь *дискретную природу*. Это со временем подтвердило открытие носителей наследственной информации — генов. Вейсман предложил гипотезу «*бессмертной зачаточной плазмы*». Согласно ей существует «бессмертная частица жизни», которая, в отличие от смертных соматических клеток, никогда не умирает и передается от родителей потомству в ряду поколений. Вейсман внес значительный вклад в генетику, но... В Советском Союзе в 40–50 годах XX в., когда генетика была запрещена (вместе с еще целым рядом наук, которые откровенно и грубо назывались «продажными девками капитализма»), ей дали название «вейсманизм — менделизм — морганизм». И не дай Бог было стать обвиненным в положительном отзыве о генетике (вспоминается роман В. Дудинцева «Белые одежды», кстати, до перестройки запрещенный к публикации...). Вейсман внес вклад и в эволюционное учение — доказал *ненаследственный* характер приобретенных при жизни механических повреждений. Ученый выступал и против принципа развития под влиянием только внутренних причин, он признавал главным фактором эволюции *естественный отбор*, на помощь которому приходит *смешение родительских «зачаточных плазм»*.



Карл Корренс

В начале XX в. немецкий ученый Карл Эрхн Корренс¹⁰, австрийский — Эрхн Чермак,¹¹ голландский — Хуго Де Фриз¹² провели серию опытов по гибридизации растений, подтвердивших основные выводы Г. Менделя о независимом наследовании родительских признаков и о численных соотношениях этих признаков в потомстве.



Хуго де Фриз

В 1901 г. Хуго Де Фриз ввел в биологическую терминологию понятие мутация (от лат. *мутацио* — изменение). Сам термин был не новый: в XIX веке это слово использовали в геологии для обозначения резких изменений ископаемых остатков животных. Однако Фриз применил его уже в современном для нас значении: **мутация — внезапное скачкообразное изменение наследственного признака.**



Уолтер Саттон

Дальнейшее развитие генетики стало просто непредсказуемым: каждый год появляются новые понятия, ставшие сейчас ключевыми в современной биологии. В 1902–1903 гг. У. Саттон¹³ предположил, что **наследственные факторы находятся в хромосомах.** В 1906 г., как мы

¹⁰ Карл Эрхн Корренс (1864–1933) — немецкий биолог и миколог.

¹¹ Эрхн Чермак-Зейзенегг (1871–1962) — австрийский генетик, биолог.

¹² Хуго Де Фриз (1848–1935) — голландский биолог, генетик.

¹³ Уолтер Саттон (1877–1916) — американский генетик, заявивший, что хромосомы содержат единицы наследственности и составляют отдельные пары.

писали выше, появляется и название нашей науки! В 1909 г. датский ботаник В. Йоханнсен¹⁴ предложил термин ген, который стал ключевым понятием этой науки. **Ген (от греч. *генос* — род) — структурная и функциональная единица наследственности.** Сначала считалось, что



Вильгельм Йоханнсен

один ген определяет наследование одного признака. Однако дальнейшие исследования показали, что признаки кодируются группами генов. Но, независимо от того, какое количество генов определяет один признак, **всегда один ген определяет развитие одной полипептидной цепи. Поэтому сейчас принята концепция «один ген — одна полипептидная цепь».**

И еще один выдающийся ученый, чьи труды резко отвергались официальной советской наукой — Томас Хант Морган¹⁵. Как ни удивительно, но очень много научных открытий основывается не только



Томас Морган

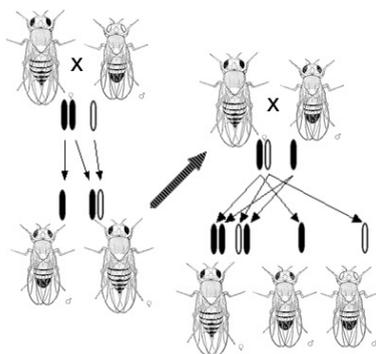
¹⁴ **Вильгельм Людвиг Йоханнсен** (1857–1927) — датский биолог. Опытами над ячменем и фасолью доказывал неэффективность отбора у самоопыляющихся растений, создал на этой основе закон «о чистых линиях» и опровергал законы Ф.Гальтона о частичном наследовании приобретенных признаков. В 1903 году в работе «О наследовании в популяциях и чистых линиях» ввел термин «популяция». В 1909 году в работе «Элементы точного учения наследственности» ввел термины: «ген», «генотип» и «фенотип»

¹⁵ **Томас Хант Морган** (1866–1945) — американский биолог, один из основоположников генетики.

на крепких знаниях, таланте и упорстве. Часто просто необходимы интуиция и удача: Морган для своих исследований выбрал не просто удачный, а идеальный объект, который стал со временем известнейшей генетической моделью — плодовую мушку *дрозофилу*. Идеальным объектом для генетических исследований дрозофила стала благодаря своим свойствам: у мушки всего 4 пары хромосом, а одна самка дает около 400 потомков. Плодовых мушек легко изучать на протяжении всей их жизни. Кроме того, в клетках слюнных желез личинок дрозофил есть гигантские хромосомы, очень удобные для исследований, ибо не нуждаются в микроскопах с очень большим увеличением.

С 1908 г. Морган начал свои исследования. Сначала он брал дрозофил в бакалейных и фруктовых магазинах, вылавливая сачком, получив на это разрешение хозяев магазинов, которые потешались над чудачком-мухоловом. Тридцатипятиметровая комната для опытов, так называемая «fly-room» (мушинная комната) в Колумбийском университете, где Морган проводил свои исследования, стала известной всем. Помещение было заставлено бутылками, банками, плошками и колбами, в которых летали тысячи мух, копошились прожорливые личинки, все стекла этих сосудов были обвешаны куколками дрозофил. Бутылок не хватало, и ходили слухи, что рано утром по пути к лаборатории Морган и его студенты похищали бутылки для молока, которые жители Манхеттена выставляли вечером за двери! Морган тщательно изучал выращенных мух. Оказалось, что они внешне довольно сильно отличаются: кроме обычных красноглазых мух встречаются белоглазые, желтоглазые и даже розовоглазые. Бывают с длинными и короткими крыльями, с искривленными сморщенными крылышками, не способные летать, отличаются формой и окраской брюшка, ног, антенн и даже щетинок, укрывающих их тело. Морган скрещивал дрозофил, следя за наследованием всех этих признаков. Анализируя результаты наблюдений, он пришел к выводу, что некоторые признаки передаются потомкам в совокупности. Исходя из этого, ученый предположил, что гены, определяющие эти «сцепленные» признаки, не разбросаны по всей клетке, а сцеплены в особых «островках». Получилось, что все наследственные признаки мухи делятся на четыре «сцепленные» группы. Уже было

известно, что у дрозофилы четыре пары хромосом — отсюда Морган сделал вывод, что гены локализуются в хромосомах, причем в каждой хромосоме находится цепочка из сотен генов. Морган установил: чем больше расстояние между двумя генами в хромосоме, тем выше вероятность разрыва цепи — гены, расположенные близко, разделяются крайне редко. Исходя из этих наблюдений, Морган составил карты расположения генов в хромосомах дрозофилы. Произошло это уже через год после утверждения в науке термина ген. Кроме того, Морган установил, что некоторые признаки передаются только самцам или только самкам. Он сделал вывод, что гены, отвечающие за эти признаки, локализованы в хромосомах, которые определяют пол — так было открыто существование половых хромосом. Результатом исследования Морганом дрозофил стала **хромосомная теория наследственности** (за что американский ученый был удостоен Нобелевской премии по физиологии медицине).



Вот они — герои и провозвестники новой науки — дрозофиллы!

О зарождении и судьбе российской генетики мы уже упомянули. А теперь подробнее, ибо судьба эта драматична, печальна и поучительна. Наука, которая пришла в Россию с Петром I, была непроста, функционировала в жестких условиях и сопровождала часто не самые мягкие реформы в нашей стране... Но, тем не менее, что бы ни писали, но Академия Наук в Петербурге стала оплотом просвещения и привлекала в Россию ученых с Запада. Но это был долгий путь...

В 1834 году в Россию переехал Карл Бэр¹⁶, один из основателей эмбриологии. Он открыл яйцеклетку и

¹⁶ **Карл Эрнст фон Бэр** (Карл Максимович Бэр, 1792–1876) — один из основоположников эмбриологии и сравнительной анато-



Карл Эрнст фон Бэр

первым детально описал ход индивидуального развития у животных.

К началу XX века в России сложились оригинальные, а то и просто уникальные направления в различных областях биологии — результат? Нобелевская премия — И. П. Павлов (1904), И. И. Мечников (1908)! Науку стали поддерживать и меценаты. В 1908–1909 гг. на средства

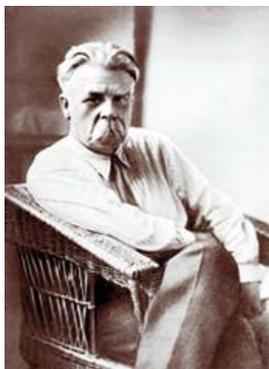
генерала А. А. Шанявского и купца Х. С. Леденцова в Москве создаются Народный университет, Московское общество научного института и Общество содействия успехам опытных наук. В провинции земства поддерживают работу научных обществ и опытных станций. Только что названный Университет Шанявского стал, кстати, прибежищем для многих из более, чем ста ученых, ушедших в 1911 году из Московского университета: назовем одного из них — Николай Константинович Кольцов¹⁷, которого знаменитый называли самым образованным из всех известных биологов.

На базе университета Кольцов создал [в 1917 г.] первый и лучший на то время в Европе Институт экспериментальной биологии (ИЭБ).

мии, академик Петербургской академии наук, президент Русского энтомологического общества, один из основателей Русского географического общества.

¹⁷ **Николай Константинович Кольцов** (1872–1940) — русский биолог, основатель русской советской школы экспериментальной биологии, автор основополагающей идеи матричного синтеза хромосом.

В 1921 г. он предложил замечательному ученому зоологу С. С. Четверикову¹⁸ организовать в ИЭБ генетическую лабораторию. Отсюда начинается Московская школа генетики — Б. Л. Астауров¹⁹, Е. И. Балкашина²⁰, С. М. Гершензон²¹, Н. П. Дубинин²², Д. Д. Ромашов²³, А. С. Серебровский²⁴, Н. В. Тимофеев-Ресовский²⁵. Уже к середине 1923 г. вышли труды Института и номера двух новых журналов, проводились семинары по проблемам эволюции на квартире С. С. Четверикова, участники которых потом вспоминали царившую там атмосферу творчества, критичности, эмпатийности.



Николай Константинович Кольцов

¹⁸ **Сергей Сергеевич Четвериков** (1880–1959) — выдающийся русский и советский биолог, генетик-эволюционист, сделавший первые шаги в направлении синтеза менделевской генетики и эволюционной теории Чарльза Дарвина.

¹⁹ **Борис Львович Астауров** (1904–1974) — советский биолог (цитогенетик, эмбриолог-экспериментатор), академик АН СССР

²⁰ **Елизавета Ивановна Балкашина** (1899–1981) — биолог-практик, генетик. В 1928 году открыла у дрозофил группу генов, ответственных за ключевые стадии онтогенеза.

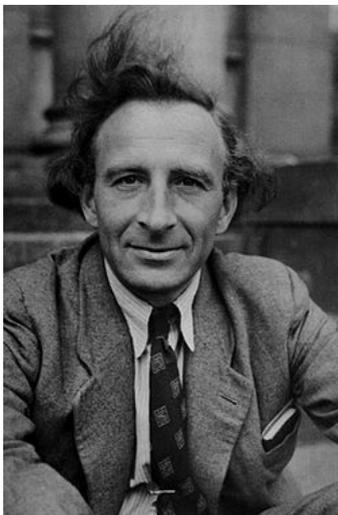
²¹ **Сергей Михайлович Гершензон** (1906–1998) — советский генетик, микробиолог.

²² **Николай Петрович Дубинин** (1906–1998) — советский генетик, академик АН СССР. Герой Социалистического Труда.

²³ **Дмитрий Дмитриевич Ромашов** (1899–1963) — советский генетик, экспериментатор.

²⁴ **Александр Сергеевич Серебровский** (1892–1948) — русский и советский генетик, член-корреспондент АН СССР (1933), академик ВАСХНИЛ.

²⁵ **Николай Владимирович Тимофеев-Ресовский** (1900–1981) — биолог, генетик. Основные направления его исследований: радиационная генетика, популяционная генетика, проблемы микроэволюции.



*Николай Владимирович
Тимофеев-Ресовский*

В начале 20-х годов директор немецкого института мозга О. Фогт попросил Кольцова командировать кого-либо в Германию для создания лаборатории генетики (так в Германии оказался Н. В. Тимофеев-Ресовский — о его судьбе рассказал Даниил Гранин в книге «Зубр»).

В Петербурге возникла своя школа генетики, связанная с именами Юрия Александровича Филип Филиппченко²⁶ и Николая Ивановича Вавилова²⁷. Уже в 1913 году зоолог Филипченко читать в Петербургском университете первый в России факультативный курс генетики! В 1918 году он создал первую в России *кафедру экспериментальной зоологии и генетики*. Его ученики потом, приумножая славу науки, работали в разных странах мира.

²⁶ **Юрий Александрович Филипченко** (1882–1930) — советский биолог и генетик, известный своей педагогической и научно-организаторской деятельностью. Его научные интересы охватывали генетику качественных и количественных признаков, включая наследование таланта у человека, евгенику, генетические основы эволюции. Он предложил понятия «микрорволюция» и «макрорволюция».

²⁷ **Николай Иванович Вавилов** (1887–1943) — выдающийся российский и советский ученый-генетик, ботаник, селекционер, географ, академик АН СССР, АН УССР и ВАСХНИЛ.

В 1921 году в Петрограде Вавилов фактически создает и возглавляет Всесоюзный институт растениеводства — ВИР, собрав в нем замечательных энтузиастов, исследователей, объединенных одной грандиозной задачей: собрать мировую коллекцию культурных растений и их сородичей, выявить потенциал ценных генов и ввести их в селекцию. Заметим: примерно за 15 лет эта задача была, в основном, выполнена.



*Николай Иванович
Вавилов*

20–30 годы были чрезвычайно плодотворными для генетики:

— 1926 год — статья С. С. Четверикова о связи теории эволюции и генетики, по сути, знаменовавшая появление *генетики популяций* (концепция «мутационного давления», процесса возникновения новых наследственных изменений — мутаций);

— 1927 год — концепция Н. К. Кольцова о том, что хромосомы представляют собой гигантские молекулы, способные к самовоспроизведению;

— 30-е годы работы Тимофеева-Ресовского в Германии по радиационной генетике. Их цель: установить, с какой частотой возникают мутации под действием разных доз и видов облучения. И количественные расчеты привели к важному выводу, что повреждения, вызываемые облучением, являются не мульти- а мономолекулярными. Это хорошо гармонировало с идеей Кольцова о хромосоме как одной гигантской молекуле;

— 1934 год — Г. А. Левитский впервые [у растений] показал, как под действием облучения хромосомы распадаются на фрагменты и перестраиваются;

— 1935 год — совместная статья Тимофеева-Ресовского с физиками Циммером и Дельбрюком, легшая в основу молекулярной биологии;

— середина 30-х годов — выводы о делимости гена и его сложной линейной структуре. Открыт и изучен «эффект положения» генов, когда нормальный ген, будучи искусственно перенесен в другое место хромосомы, менял характер своего проявления (Н. П. Дубинин и др.). Этот феномен, связанный с регуляторными отношениями между генами, и сегодня является актуальным для исследователей;

— конец 30-х годов — три новые концепции Н. И. Вавилова: 1) закон гомологических рядов в наследственной изменчивости, 2) учение о центрах происхождения культурных растений; 3) представление о сложной полиморфной структуре биологических видов.

Законы Вавилова устанавливали определенные правила формирования и позволяли предсказывать у данного вида, еще не открытые, но возможные признаки (аналогия с системой Менделеева). Исходя из своей идеи о центрах происхождения культурных растений, Вавилов организовал беспрецедентные по масштабу экспедиции в разных континентах по сбору их сородичей с целью резкого расширения генофонда и использования его в селекции. Например, до Вавилова был известен лишь один вид культурного картофеля, разводимый в Европе. Проведенные экспедиции в горные районы Анд (Перу, Боливия, Чили) позволили найти около 230 новых клубненосных видов картофеля, гены которых стало возможным использовать в селекции, прежде всего на устойчивость к вредителям! Подобные коллекции были созданы по десяткам видов культурных растений. До сих пор коллекция ВИРа содержит крупнейший в мире «банк генов», без которого невозможна современная селекция культурных растений. Вавилов обладал неумеренной энергией, спал лишь 4–5 часов в сутки, был полон планов. Но в 1940 г. в возрасте 53 лет, полный сил и энергии, он был арестован и замучен в тюрьме.

Но... в 1932 году назначенный было в Советском Союзе Международный Генетический Конгресс не состоялся, а ведущие генетики уволены, арестованы...

И, наконец, 1948 год — разгром генетики и воцарение Лысенко²⁸... Разгром генетики на Сессии ВАСХНИЛ в августе 1948 года, которую проводил Лысенко, был лично одобрен Сталиным. Дух



Трофим Денисович Лысенко

времени передает приказ министра высшего образования Кафтанова от 23.08.1948 года: *«Обеспечить коренную перестройку учебной и научно-исследовательской работы в направлении вооружения студентов и научных работников передовым прогрессивным мичуринским учением и решительного искоренения реакционного идеалистического вейсманистского (менделистско-морганистского) направления»*. Вам нравятся слова: *перестройка, искоренение, реакционное, непримиримое, борьба...* Были сразу уволены десятки и сотни ведущих профессоров и преподавателей. Из библиотек изымались и уничтожались по спискам биологические книги, основанные на менделевской генетике. Пламя погрома перекинулось на цитологию, эмбриологию, физиологию и достигло даже таких далеких, казалось бы, от генетики областей, как квантовая химия. После смерти Сталина в 1953 г. и позднее, в период «оттепели», усиливается противостояние лысенковскому обскурантизму.

²⁸ **Трофим Денисович Лысенко** (1898–1976) — советский агроном и биолог. Основатель и крупнейший представитель псевдонаучного направления в мичуринской агробиологии.

Начиная с 1953 г. известный эволюционист профессор А. А. Любищев²⁹ и вернувшийся из лагеря генетик В. П. Эфроимсон³⁰ посылают в ЦК партии, в журналы, ведущим биологам серии критических статей о монополии Лысенко в биологии, анализируя большой урон со стороны лысенковщины сельскому хозяйству, медицине, экономике страны. В 1955 г. в ЦК партии было направлено знаменитое «письмо трехсот», подписанное ведущими биологами, затем к нему присоединились академики-физики. В 1956 г. начинает читаться курс классической генетики в Ленинградском университете. В это же время в Институте биофизики и Институте атомной энергии создаются генетические лаборатории, а затем в 1957 г. организуется Институт цитологии и генетики в Сибирском отделении АН СССР (Академгородок, Новосибирск). Но это еще не была победа — в декабре 1958 г. была разогнана редакция «Ботанического журнала» во главе с академиком В. Н. Сукачевым за публикацию серии критических статей об идеях Лысенко. В 1963 г. такая же участь постигла журнал «Нева» за яркую и смелую статью генетиков В. С. Кирпичникова и Ж. А. Медведева «Перспективы советской генетики». Падение Лысенко началось вслед за падением Н. С. Хрущева в 1964 г. В сентябре 1965 года на заседании Президиума АН под руководством академика М. В. Келдыша впервые открыто подверглись критике методы и результаты деятельности Лысенко. В 1965 г. он был снят с поста директора академического Института генетики, который занимал целых четверть века после ареста Вавилова, навязывая через систему государственных учреждений свои, мягко говоря, бредни.

²⁹ Александр Александрович Любищев (1890–1972) — философ, биолог, энтомолог.

³⁰ Владимир Павлович Эфроимсон (1908–1989) — советский генетик.



Институт цитологии и генетики в Сибирском отделении АН

Работа отечественных генетиков продолжается... И. А. Рапопорт³¹ — открытие *супермутагенов* — веществ, в десятки и сотни раз повышающих частоту возникновения мутаций у самых разных организмов. С использованием супермутагенов сделаны важные работы в теории мутаций, получены новые штаммы антибиотиков и новые сорта растений (кстати, Рапопорт в 1948 году открыто отказался признать лысенковщину!).

А открытие *прыгающих генов*? Оригинальные результаты, полученные в рамках этого направления российскими генетиками, были обобщены в замечательной сводке Р. Б. Хесина³² «Непостоянство генома». Эта сводка вошла в золотой фонд российской науки. В ней

³¹ **Иосиф Абрамович Рапопорт** (1912–1990) — советский ученый-генетик, открывший химический мутагенез,

³² **Роман Бениаминович Хесин-Дурье** (1922–1985) — советский биохимик и генетик, член-корреспондент АН СССР.

обосновано положение о *потенциальном единстве генофонда земных организмов за счет горизонтального переноса генов вирусами и другими подвижными элементами*. С именем Р. Б. Хесина, ученика А. С. Серебровского, связано зарождение и развитие *молекулярной генетики* в нашей стране.



*Александра Алексеевна
Прокофьева-Бельговская*

Блестящий цитолог и генетик А. А. Прокофьева-Бельговская³³, ученица Ю. А. Филипченко, создает школу цитогенетиков, изучающих поведение и структуру хромосом человека в норме и патологии («хромосомные болезни»). Возрождаются исследования по медицинской генетике. Однако влияние идеологических запретов на изучение наследственности человека оказалось столь велико, что книга В. П. Эфроимсона «Генетика гениальности»

более 20 лет не могла пробиться в печать и вышла лишь в 1998 году... Итак, начало истории генетики можно разделить на два этапа:

— этап *гибридологических исследований*, начавшийся с опытов Менделя, доказавших существование некоторых дискретных наследственных факторов, которые передаются от родителей потомкам, подчиняясь определенным математическим законам;

³³ **Александра Алексеевна Прокофьева-Бельговская** (1903–1984) — советский генетик, известна своими исследованиями организации эукариотической хромосомы, одна из создателей отечественной школы медицинской цитогенетики

— *цитологические исследования*, основывающиеся на опытах Моргана, доказавших, что носителями наследственных факторов являются хромосомы.

Сегодня и отечественная, и мировая генетика ставят перед собой задачи, ищут и исследуют, в основном:

— механизмы хранения и передачи генетической информации от родителей потомству;

— способы и пути реализации этой информации в виде признаков и свойств организмов;

— разнообразие типов, причин и механизмов изменчивости всех живых существ;

— взаимосвязь процессов наследственности и изменчивости как движущих факторов эволюции органического мира.

Вопросы и задания по материалам Темы 2

1. Как давно люди стали заниматься тем, что сегодня мы можем отнести к генетике и зачем?
2. Что такое пангенезис?
3. Подготовьте сообщения о жизни и научной судьбе Г. Менделя.
4. Подготовьте сообщения о научном творчестве А.Вейсмана.
5. Расскажите об исследованиях Т.Моргана.
6. Расскажите об истории развития генетики в России.
7. Подготовьте сообщения о деятельности Института экспериментальной биологии.
8. Подготовьте сообщения (по вашему выбору) об одном из советских (российских) генетиков.
9. Попробуйте объяснить причины ортодоксальной ненависти к генетике в Советском Союзе, начиная с 1948 года.
10. Расскажите об основных задачах современной генетики.

Тема 3. Основные понятия генетики: термины, категории, принципы

Основные генетические понятия.

Исторические и современные термины науки.

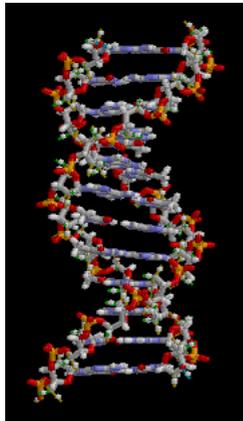
Точные научные дефиниции.

Для того чтобы совершенно спокойно, обоснованно, уверенно изучать нашу науку, мы должны уметь пользоваться ее основными терминами и категориями. Часть из них уже знакома еще по школьным курсам, часть уже была обозначена выше. А теперь подробнее:

— **ген** (от греч. *genos* — род, происхождение) — единица хранения, передачи и реализации наследственной информации.

В настоящее время ученые полагают, что у человека имеется от 30 до 100 тысяч генов, которые сильно варьируют по размерам — от нескольких сотен до нескольких тысяч пар нуклеотидов.

— **генотип** — совокупность всех генов, полученных организмом от его родителей.



ДНК

Ген представляет собой специфический участок молекулы ДНК, в структуре которого закодирована структура определенного полипептида (белка). Это, казалось бы, достаточно простое положение известно многим, но современные молекулярные исследования коренным образом изменили представления о гене. Поэтому сегодня понятием «ген» обозначается *сегмент геномной ДНК или РНК, выполняющий определенную функцию.*

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) — макромолекула (одна из трех основных, две другие — РНК и белки), обеспечивающая хранение, передачу из поколения в поколение и реализацию генетической программы развития и функционирования живых организмов. ДНК содержит информацию о структуре различных видов РНК и белков.

Рибонуклеиновая кислота (РНК) — одна из трех основных макромолекул (две другие — ДНК и белки), которые содержатся в клетках всех живых организмов. Так же, как ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота), РНК состоит из длинной цепи, в которой каждое звено называется нуклеотидом.

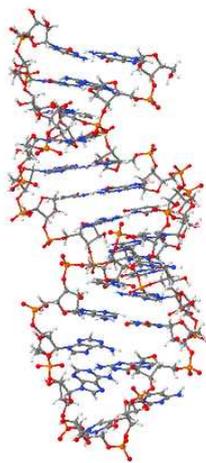
В настоящее время выделяют три типа генов:

— гены, кодирующие белки, которые **транскрибируются** (переносятся) в РНК и затем **транслируются** (считываются) в белки, используя РНК как матрицу;

— гены, кодирующие РНК;

— гены-регуляторы.

Гены, кодирующие белки и РНК, называются «*структурными генами*» (это 5% генома). Их активность, «включение» и «выключение» определяются генами-регуляторами, составляющими незначительную часть (около 5%) среди остальных 95% генома. Большая же его часть состоит из последовательностей нуклеотидов, по сегодняшним представлениям, вообще ничего не кодирующих. Сегодня постоянно увеличивается число открываемых генетических единиц (повторяющиеся, мигрирующие нуклеотидные последова-



РНК

тельности и пр.), функции которых мы не до конца понимаем, или только начинаем понимать;

— экспрессия генов отражает активность генома человека на разных этапах онтогенеза. В каждый конкретный момент клетка не использует всю содержащуюся в ее хромосомах генетическую информацию. Кроме того, гены *«включаются»* и *«выключаются»* на разных этапах онтогенеза, повышая или понижая свою активность в определенные периоды жизни. Регуляция генной экспрессии имеет задачу избежать напрасных затрат энергии и создать условия для того, чтобы клетка производила наиболее эффективным способом все, в чем нуждается. Процесс регуляции активности генов разворачивается в соответствии с генетической программой, или в ответ на изменения как во внутренней, так и во внешней среде организма. Один и тот же ген может по-разному проявляться у разных особей. Степень выраженности признака отражается понятием **«экспрессивности»** (не путать с «экспрессией») гена, а возможность проявления гена в признаке — его **«пенетрантностью»**;

— **экспрессивность гена** — степень фенотипической выраженности одного и того же аллеля определенного гена у разных особей.

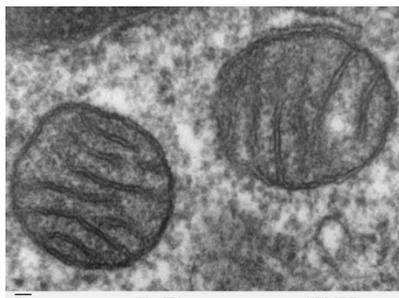
Аллели — различные формы одного и того же гена, расположенные в одинаковых участках (локусах) гомологичных хромосом и определяющие альтернативные варианты развития одного и того же признака.

Различия в экспрессивности означают, во-первых, разную степень пораженности носителей мутации (например, больные *фенилкетонурией* — носители одной и той же мутации — могут страдать умственной отсталостью разной степени), а во-вторых, разные формы фенотипического проявления одной и той же мутации

(например, один и тот же ген-мутант вызывает у мужчин один тип психического расстройства, у женщин — другой);

— **пенетрантностью гена** называется частота проявления аллеля определенного гена у особей данной популяции. Большинство генов проявляется в признаке у всех носителей соответствующего генотипа (полная пенетрантность — 100%), а некоторые — не у всех его обладателей (неполная пенетрантность). У человека не полностью пенетрантными обычно являются доминантные гены, контролирующие патологические признаки. Например, известно, что не все носители мутантного гена фенилкетонурии страдают этим заболеванием. Его пенетрантность высока и составляет 99%. Это означает, что из 100 носителей аллеля-мутанта в среднем будет один носитель, не имеющий фенотипических признаков заболевания, то есть из 100 мутированных генов один ген-мутант не проявится и не вызовет развития заболевания. Действие одного гена на многие признаки отражается понятием **«плейотропии»**, на один признак — **«монотропии»**.

подавляющая часть генов расположена на хромосомах, которые находятся в ядрах клеток, при этом каждый ген имеет свои хромосомные координаты. Таким образом, основными носителями генетической информации, определяющей наследственные свойства организма, являются **хромосомы**. Незначительная часть генов располагается в **митохондриях** (условно говоря, энергетических станциях) **цитоплазмы** клеток. Од-



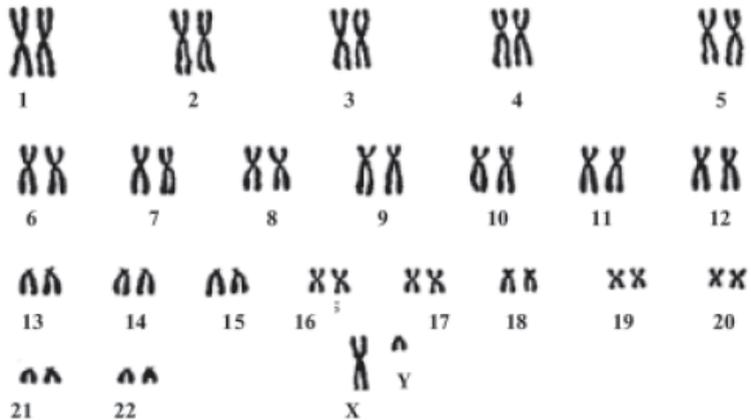
Митохондрии

нако все системы внехромосомной наследственности четко взаимодействуют с хромосомными генами или их продуктами;

— **хромосомы** (от греч. *chroma* — цвет и *soma* — тело) — линейные структуры, в которые организованы гены в ядре клетки. Хромосомы можно окрашивать, вследствие чего они становятся видимыми под микроскопом;

— **кариотип** — это хромосомный набор клетки, который в норме у человека состоит из 46 хромосом, разделенных на 23 пары (хромосомы, образующие пару, называются **гомологичными хромосомами**). 22 пары хромосом представляют собой аутосомы, 23-я пара — **половые хромосомы**. Постоянство числа хромосом в хромосомном наборе и структуры каждой хромосомы — главные условия нормального развития в онтогенезе и сохранения биологического вида;

— **аутосомы** — любые хромосомы человека, кроме половых. Они не отличаются у мужчин и женщин.



Вид полного набора хромосом

Гены, локализованные в аутосомах, отвечают за **аутосомные признаки**. К 70-м годам XX века у человека было известно около 700 нормальных и патологических признаков, развитие которых контролируется тем или иным аутосомным доминантным геном. В частности, описан ряд наследственных аномалий скелета (*полидактилии* — многопалости, добавочных пальцев; *брахидактилии* — короткопалости; *ахондроплазии* — сильного укорочения конечностей и др.). Аутосомным рецессивным геном контролируются более 500 наследственных болезней, в том числе, относительно наиболее распространенные среди них — альбинизм и фенилкетонурия. Если для доминантно наследуемых заболеваний характерно поражение подряд нескольких поколений одной семьи (наследование по вертикали), то при рецессивном наследовании нередко страдает лишь один или несколько детей здоровых родителей. Однако вероятность заболевания резко повышается при родственных браках внешне здоровых членов семьи, в которой имел случай заболевания, наследуемого по рецессивному типу, так как оба родителя могут оказаться скрытыми носителями мутантного гена. И чем ближе родство между вступающими в брак, тем выше вероятность появления у детей различных наследственных болезней;

— **половые хромосомы** — у женщин это две X-хромосомы (XX), а у мужчин — одна X-хромосома и одна Y-хромосома (XY).

Половые хромосомы несут самые разнообразные гены, в том числе, и не имеющие отношения к первичным и вторичным половым признакам, и определяют **сцепленные с полом, или X-сцепленные, признаки** — дальтонизм, гемофилию, мышечную дистрофию Дюшенна и др. Половые клетки (гаметы) образуются с помощью особого типа деления, которое называется

мейоз. В результате мейоза в каждой половой клетке остается только по одной гомологичной хромосоме из каждой пары, то есть как раз 23 хромосомы;

— **гаплоидный кариотип (n)** — это один экземпляр гомологичных хромосом. Он характерен только для половых клеток — яйцеклеток и сперматозоидов;

— совокупность генов в гаплоидном кариотипе называется **геномом**. При оплодотворении, когда сливаются мужская и женская половые клетки и образуется *зигота*, гаплоидный кариотип женской яйцеклетки восстанавливается до диплоидного за счет гаплоидного кариотипа сперматозоида;

— **диплоидный кариотип ($2n$)** — это два экземпляра гомологичных хромосом, или сумма двух гаплоидных кариотипов — набор из 46 хромосом, из которых 44 — аутосомы и 2 — половые хромосомы. Диплоидный набор хромосом характерен для соматических (не половых) клеток. Диплоидный хромосомный набор состоит из пар гомологичных хромосом. Одна хромосома из каждой пары унаследована от материнского организма (A или a), другая — от отцовского (A или a). В результате каждый ген на гомологичной хромосоме (отцовской) имеет соответствующий ген, локализованный в том же месте на другой гомологичной хромосоме (материнской). Такие парные гены (AA , Aa , aa) называются **аллелями** (см. выше). Аллели могут быть абсолютно идентичными (AA или aa), но возможны и вариации в их строении (Aa). *У нормального диплоидного организма могут присутствовать только два аллеля, поскольку имеются только пары гомологичных хромосом.* Если организм является носителем двух одинаковых аллелей (AA или aa), то это **гомозиготный** («подобный», «похожий») организм; если же он несет разные аллели (Aa), то его называют **гетерозиготным** («непохожим»). Когда в определенном участке хромосомы

локализуется множество аллелей, представляющих собой альтернативные варианты гена, говорят о **множественном аллелизме**. Альтернативные формы аллелей возникают в результате изменения структуры гена за счет таких генных процессов, как мутация и рекомбинация. Качественное отличие аллелей друг от друга проявляется, прежде всего, на биохимическом уровне (например, по составу нуклеотидов). Среди типов взаимодействия аллелей, ведущими являются **доминантность** и **рецессивность**.

Явление, при котором в фенотипе проявляется только один признак из альтернативной пары, называется **доминированием**, а ген, контролирующий данный признак, — **доминантным геном**, который обозначается заглавными буквами А, В, С и т. д. (аллель А, В, С и т. д. для каждого доминантного признака). Аллель другого родителя, не проявившаяся в фенотипе, но присутствующая в генотипе в «скрытом» виде, называется **рецессивным геном**, обозначаемым малыми буквами — а, в, с и др. (аллель а, в, с и др. для каждого рецессивного признака). **Человек является носителем пары аллелей каждого гена, и по наследству своим потомкам передает только один аллель, поскольку половые клетки (яйцеклетка и сперматозоид) содержат по одной хромосоме каждой пары. Этот механизм обеспечивает случайное перекомбинирование аллелей в каждом последующем поколении, в результате чего ни один потомок не воспроизводит полностью генетическую индивидуальность своего родителя.**

Для нормального развития и функционирования человеческого организма необходима координация усилий, по крайней мере, 100 000 генов, большинство из которых отличается удивительным богатством альтернативных форм. Можно с определенной уверенно-

стью сказать, что каждый из нас наверняка отличается от других людей (как родственников, так и не родственников), по крайней мере, одним геном. Проведенные расчеты показывают, что вероятность появления двух генетически одинаковых людей, практически, нулевая. Можно смело утверждать, что за исключением однояйцовых близнецов, развивающихся из одной оплодотворенной яйцеклетки, и потому являющихся генетически идентичными индивидуумами, мы генетически неповторимы; генетическая индивидуальность каждого из нас уникальна.

Вопросы и задания по материалам Темы 3

1. Что такое ген?
2. Что такое генотип?
3. Что такое кариотип?
4. Что такое хромосомы?
5. Расскажите о плейотропии и монотропии.
6. Что такое аллели?
7. В чем отличие аутосом от половых хромосом?

Тема 4. Наследственность и изменчивость

Основные свойства организма.

Решетка Пеннета.

Хромосомная и внехромосомная наследственность.

Законы Менделя.

Предметом изучения генетики являются два свойства организма, которые мы уже упоминали — **наследственность и изменчивость**.

Уточняем: процесс передачи наследственного материала от родителей потомкам называется **наследованием**. Закономерности наследования изучаются путем **генетического анализа** с помощью *гибридологического метода* (или **метода скрещиваний**), разработанного Г. Менделем. Сущность его состоит в следующем: из множества признаков, по которым различаются представители одного вида, для анализа отбирается их ограниченное количество (один-два). Для скрещивания берется родительская пара, которая различается по анализируемым признакам. В ряду поколений ведут количественный учет потомков.

Для записи скрещиваний и их результатов используют специальные символы:

Генетические символы

Символ	Содержание символа
P	– родительское поколение
F	– потомство
F ₁ , F ₂	– номер гибридного поколения (первое, второе и т. д.)
♀	– материнский организм (зеркало богини Венеры)
♂	– отцовский организм (щит и копьё бога войны Марса)
×	– скрещивание

Записывая скрещивание, на первое место обычно ставят женский пол ♀, на второе — мужской ♂. Потомок от родителей, имеющих разную наследственность, является **гибридом**. Скрещивания, в которых материнский и отцовский организмы берутся с различными вариантами признака (например, белая женщина × черный мужчина) называются **реципрокными**.

При анализе скрещиваний удобно пользоваться *решеткой Пеннета*³⁴. С помощью решетки Пеннета можно вычислить вероятность рождения потомства с тем или иным признаком. Она представляет собой графы, в которых отражено сочетание генов отца и матери у предполагаемого потомства. По вертикали записывают гаметы отца, по горизонтали — матери. Сочетания отцовских и материнских гамет отражаются непосредственно в графах таблицы.

Запись признаков в решетке Пеннета

♀	I^A
♂	I^B
$I^A I^B$	$I^A I^A$
$I^A I^B$	$I^B I^B$

Вариант 1

♀	I^A	I^B
♂	I^A	I^B
I^A	$I^A I^A$	$I^A I^B$
I^B	$I^B I^A$	$I^B I^B$

Вариант 2

В первом варианте у отца и матери с разными группами крови (AB — у отца и 0 — у матери) возможно рождение детей с генотипами $I^A I^0$ и $I^B I^0$ с равными вероятностями. В данном случае число возможных генотипов совпадает с числом возможных фенотипов. Если оба родителя имеют одинаковую группу крови AB (второй вариант), то у них возможно рождение детей с

³⁴ **Реджинальд Пеннет** — (1875–1967) — английский ученый-генетик.

тремя различными генотипами: I^AI^A, I^BI^B и I^AI^B и фенотипами А, В и АВ. Вероятность рождения ребенка с группой крови А составляет 25%, с группой крови АВ — 50% и с группой крови В — 25%.

Наследственность — важнейшая особенность живых организмов, заключающаяся в способности сохранять и передавать одинаковые признаки и особенности развития от одного поколения организмов — другому (от родителей потомкам) с помощью генов, обеспечивая характер их индивидуального развития (онтогенеза). Передача особенностей организма следующим поколениям коренным образом отличает живое от неживого и возможна лишь в процессе *размножения* или *самовоспроизведения*. Самовоспроизведение организмов может осуществляться путем вегетативного размножения, когда из части родительской особи возникает организм потомка. Такой путь размножения характерен для растений, микроорганизмов и низших животных (гидра и др.). Высшие же организмы осуществляют воспроизведение себе подобных путем полового размножения, в результате слияния женской и мужской половых клеток, несущих определенную генетическую информацию. На основе этой информации происходит развитие организма, поэтому и говорят о наследовании признаков, хотя наследуются, строго говоря, вовсе не признаки, а гены, их определяющие. **В основе наследования лежат процессы удвоения, объединения и распределения генетического материала;**

► **хромосомная наследственность** связана с распределением носителей наследственности (генов) на хромосомах. Особенно четко она проявляется при наследовании таких признаков, которые в потомстве расщепляются по моногенному типу наследования в соответствии с законами Менделя (о них еще ниже). Хромосомное наследование подразделяют на:

— **аутосомное** — когда наследуемые гены располагаются на аутосомных хромосомах (*энзимопатии* — нарушения функций ферментов; множество авторских синдромов — *Марфана*, *Альпорта*, *Олбрайта* и др.; *отосклероз*; *пароксизмальная миоплегия* и т. д.);

— **сцепленное с полом** — когда наследуемые признаки располагаются на половых хромосомах — X или Y и действие доминантного мутантного гена проявляется в любом наборе половых хромосом (XX , XU , XO и др.). У человека описано около 100 наследственных заболеваний, контролируемых генами, локализованными на X -хромосоме (*миопатия*, *гемофилия*, *подагра*, *дальтонизм* и др.);

— **доминантное** — когда наследуемое заболевание передается как доминантный признак — мутантный аллель X (например, *хорея Геттингтона*, передающаяся по наследству от больных родителей 50% детей);

— **рецессивное** — когда оба родителя имеют по одному нормальному (X) и одному мутантному рецессивному аллелю (x), например, *фенилкетонурия*. Сами они являются здоровыми, но и носителями мутантного гена. Но если потомок унаследует два патологических рецессивных аллеля (xx), то он заболеет фенилкетонурией. Вероятность заболевания 25%;

— **зависимое от пола** — когда наследуемые признаки (аллели) являются доминантными у одного пола, но рецессивными — у другого (например, *ген облысения* расположен в аутосоме и является доминантным у мужчин, но рецессивным у женщин, поэтому значительно больше лысых мужчин, чем женщин);

— **контролируемое (ограниченное) полом** — когда гены, обуславливающие данный признак, находятся на аутосомах или половых клетках обоих полов, но проявляются лишь у одного (например, ген контролирующей *молочность* и *жирность* молока, имеются и у

мужчин, и у женщин, но проявляются только у женщин; ген же, контролирующий рост бороды, проявляется только у мужчин);

— **МОНОГЕННОЕ** — когда наблюдаемые различия между особями обусловлены аллелями одного гена (*энзимопатии* — болезни обмена веществ). Первичный дефект фермента расшифрован сегодня примерно при 150 энзимопатиях. Энзимопатии в большинстве случаев наследуются по аутосомно-рецессивному типу;

— **ПОЛИГЕННОЕ** — когда наблюдаемые различия между особями обусловлены аллелями нескольких генов (например, *рост, вес, телосложение, устойчивость к заболеваниям, артериальное и венозное давление, долголетие* и др.). Чаще всего, гены, образующие полигенную систему, в отдельности дают слабый эффект, а их суммарное воздействие оказывается достаточно сильным, причем, степень проявления генных эффектов при полигенном наследовании во многом зависит от факторов окружающей среды;

► **внехромосомная (цитоплазматическая) наследственность** — передача потомству отдельных признаков и свойств, обусловленных наследственными факторами, локализованными у животного организма в *митохондриях цитоплазмы*. Митохондриальный геном содержит 13 генов и целый ряд последовательностей, кодирующих различные РНК. Признаки, которые находятся под контролем митохондриальных генов, получили название *цитоплазматических*. В случае наследственности, связанной с митохондриальной ДНК, наблюдается менделевский тип наследования, при котором **наследование идет только по материнской линии**. от матери — всем детям. Митохондриальная ДНК яйцеклетки не подвержена рекомбинации (расщеплению) и наследуется как единый блок (**гаплотип**). Митохондрии же спермия расположены лишь в

середине и на конце жгутика, который при оплодотворении не проникает в яйцеклетку, а головка спермия их не содержит. Таким образом, в зиготе оказываются лишь митохондрии, унаследованные по материнской линии вместе с цитоплазмой яйцеклетки. Это явление получило название **ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ**. Последняя может быть причиной *митохондриальной цитопатии*, *биполярной депрессии* и ряда других наследственных заболеваний. Двойной генетический контроль над функциями клетки с участием ядра и цитоплазмы обеспечивает надежность и точность регулирования процессов ее функционирования.

Ядру принадлежит основная роль в обеспечении преемственности развития признаков и особенностей развития. Поэтому общие закономерности наследования систематизированы в рамках так называемой хромосомной **теории наследственности**, которая была сформулирована в 1902 г. американским ученым У. Сэттоном и немецким исследователем Т. Бовери (независимо друг от друга). Ее сущность состоит в утверждении положения о том, что наследственный фактор локализуется в хромосомных клетках, а главным положением теории является постулат, что **«преемственность свойств организмов в ряду поколений определяется преемственностью их хромосом»**.

Основные генетические законы наследования, устанавливающие численные соотношения, в которых проявляются отдельные наследственные признаки и их сочетания в гибридном потомстве при половом размножении, были открыты Г. Менделем.

Первый закон Менделя — «правило единообразия гибридов первого поколения» — скрещивание особей, гомозиготных по разным аллелям, дает генетически однородное потомство в первом поколении (F_1), все особи которого гетерозиготны.

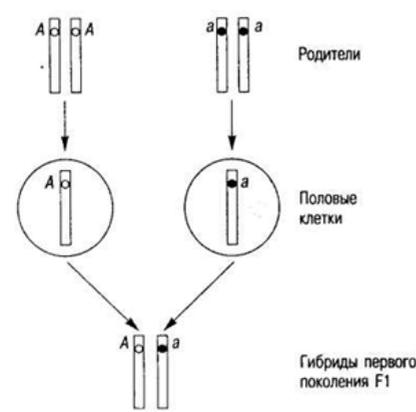
Например, скрещиваются организмы, различающиеся по одному признаку (**моногибридное скрещивание**). Пусть таким признаком будет цвет глаз, разный у родителей (карий и голубой). Понятно, что потомство может иметь один из них.

Явление, при котором в фенотипе проявляется только один признак из альтернативной пары, называется **доминированием**, а ген, контролирующий данный признак, — **доминантным** (аллель A). Аллель a другого родителя, не проявившаяся в фенотипе, но присутствующая в генотипе в «скрытом» виде, называется **рецессивным геном** (аллелью).

Явление полного доминирования наблюдается далеко не всегда. Иногда наблюдается промежуточный характер наследования, или **неполное доминирование**, когда фенотип гетерозиготы Aa по своей выраженности занимает промежуточное положение между фенотипами AA и Aa . Например, признак «волнистые волосы» является промежуточным к признакам «прямые волосы» и «курчавые волосы» и проявляется у гетерозигот.

При **сверхдоминировании** фенотипический признак наиболее сильно выражается у гетерозиготы Aa (сильнее, чем у гомозигот AA и aa).

Если же в детерминации признака у гетерозиготы Aa участвуют оба аллеля, это явление носит название **кодоминирования**.



Наследование аллелей при гомозиготном скрещивании в первом поколении (первый закон Менделя)

Гибрид первого поколения (F_1), полученный от слияния гомологичных хромосом мужской и женской половых клеток, будет называться **гетерозиготным**, поскольку содержит аллели Aa , и унаследует карие глаза, поскольку аллель A является доминантной.

В данном случае выполняется «**правило единообразия гибридов первого поколения**»: все потомки проявляют полное

доминирование, т.к. одинаковы и по генотипу (гетерозиготны — *Aa*), и по фенотипу (карие глаза). Правда, в более поздних опытах выяснилось, что гибриды первого поколения (F_1) могут проявлять и неполное доминирование (промежуточный фенотип), и признаки обоих родителей (кодоминирование).

Второй закон Менделя — «закон независимого расщепления» — при полном доминировании среди гибридов второго поколения (F_2) особи с фенотипами исходных родительских форм и первого поколения встречаются в соотношении 3:1.

Третий закон Менделя — «закон независимого комбинирования (наследования) признаков» — каждая пара альтернативных признаков ведет себя в ряду поколений независимо друг от друга, в результате чего среди потомков второго поколения (F_2) в определенном соотношении появляются особи с новыми (по сравнению с родительскими) комбинациями признаков.

Например, в случае полного доминирования при скрещивании исходных форм, различающихся по двум признакам, в следующем поколении выявляются особи с четырьмя фенотипами в соотношении 9:3:3:1. При этом два фенотипа имеют «родительские» сочетания признаков, а оставшиеся два — новые.

В современной генетике особую значимость имеет не сам третий закон Менделя, а исключения из него. Закон «не работает», если гены, контролируемые изучаемые признаки, сцеплены, располагаются по соседству друг с другом на одной и той же хромосоме и передаются по наследству как связанная пара элементов, а не как отдельные элементы.

Законы Менделя в их классической форме действуют, отметим, при наличии определенных условий, решающими из которых являются:

— **гомозиготность исходных скрещиваемых форм;**

— правильное течение мейоза (деления половых клеток);

— одинаковая жизнеспособность гамет и, соответственно, зигот;

— равная вероятность встречи любых гамет при оплодотворении;

— полная *пенетрантность* аутомомных генов (100% частота проявления анализируемого признака у всех носителей аллеля, детерминирующего этот признак);

— постоянная экспрессивность (степень выраженности) признака у всех носителей аллеля, детерминирующего его развитие.

Нарушение этих условий может приводить либо к отсутствию расщепления во втором поколении, либо к расщеплению в первом поколении, либо к искажению соотношения различных генотипов и фенотипов.

Законы Менделя носят универсальный характер для всех диплоидных организмов, размножающихся половым способом. Знание и применение их имеет огромное значение в медико-генетическом консультировании и определении генотипа фенотипически «здоровых» людей, родственники которых страдали наследственными заболеваниями, в выяснении степени риска развития этих заболеваний у родственников больных.

Гениальность законов Менделя заключается в их простоте, поэтому строгая и элегантная модель, построенная на основе этих законов, служила генетика на протяжении многих лет. Но сегодня выяснилось: законам Менделя подчиняются относительно немногие генетически контролируемые признаки. Большинство нормальных и патологических признаков у человека детерминируются иными генетическими механизмами, которые стали обозначать термином *«неменделевская»*

генетика». Таких механизмов множество, и все они связаны с патологическим наследованием признаков — хромосомной аберрацией, мутациями и др., относящимися к второй составляющей, входящей в предмет исследования генетики — **изменчивости**.

Изменчивость — свойство организма приобретать какие-либо новые признаки, отличные от родительских. По сути, изменчивость — это свойство, противоположное наследственности. Различают **генотипическую** (наследственную) и **фенотипическую** (модификационную) изменчивость.

Наследственная (генотипическая) изменчивость — это форма изменчивости, вызванная изменениями генотипа, которые могут быть обусловлены либо изменением собственного генетического материала — **мутациями**, либо возникновением новых сочетаний генов — **рекомбинациями**. Отсюда в нашей науке понятия о **мутационной** и **рекомбинативной (комбинативной)** генотипической изменчивости, которая наследуется организмом.

Мутационная изменчивость — это форма генотипической изменчивости, обусловленная изменением собственного генетического материала организма.

Гены время от времени действительно подвергаются изменениям, которые получили название **мутаций**.

Мутации (от лат. mutatio — изменение) — внезапные *естественные* или вызванные *искусственно* изменения генетического материала, приводящие к изменению тех или иных фенотипических признаков организма. Процесс воспроизведения генетического материала (*репликация*) очень точен, и ошибки в нем (мутации) встречаются крайне редко. Однако они фиксируются в структуре генов и в дальнейшем уже воспроизводятся в новой, мутантной форме.

Если мутации происходят без какой-либо [известной причины] и имеют случайный характер, они называются **спонтанными**. Однако большинство мутаций носит **индуцированный** (вероятностный) характер. Имеется и целый ряд разнообразных факторов, содействие которых повышает вероятность возникновения мутаций. Это может быть *воздействие определенных химических веществ, ионизирующих излучений, высоких и низких температур и т. д.* Некоторые мутагены увеличивают частоту мутаций в сотни раз. При возникновении ряда геномных мутаций большое значение имеет возраст матери. Однако случайный характер возникновения мутаций сохраняется независимо от вида и количества мутагенных факторов, и предсказать появление той или иной мутации невозможно. На основе анализа воздействующих мутагенных факторов, можно говорить лишь о большей или меньшей вероятности (*индуцирования*) возникновения мутации, но не более. Если мутация произошла в половой клетке, то она может передаваться потомкам, определять наследственную изменчивость. В этом случае она становится *унаследованной*. Если же мутация произошла в соматической клетке, то она передается только тем клеткам, которые возникают из этой мутированной клетки. Такие мутации называются *соматическими* и не передаются по наследству.

Генетики различают несколько основных типов мутаций:

— **генные мутации** (мутации ДНК) — при копировании молекулы ДНК могут происходить ошибки, которые меняют порядок построения нуклеотидов. Это могут быть выпадения, вставки, замены, перестановки одного или нескольких нуклеотидов, что изменяет смысл генетической информации и проявляется в структуре, а, следовательно, и в функции кодируемого

белка. В такие мутации обычно вовлечен один ген., например, **замена** одного основания в цепи ДНК может привести к тому, что в синтезируемый белок будет встроена «неправильная» аминокислота. В результате функция белка будет нарушена. Подобная замена единственной аминокислоты в цепочке сотен аминокислот может проявиться по-разному. Спектр этих проявлений — от нулевых до летальных — зависит от структуры и функции синтезируемого белка. Мутации, которые приводят к **выпадению** или **вставке** одного и более нуклеотидов, вызывают так называемый «*сдвиг рамки считывания*». В целом они более вредоносны, чем мутации замены нуклеотида. Сущность этого явления заключается в том, что в результате выпадения (или случайного добавления) одного нуклеотида, изменяется считывание (трансляция) **кодонов** в молекуле матричной РНК и, начиная с точки мутации, синтезируется искаженная последовательность аминокислот, что неизбежно к нарушениям последующих биохимических процессов.

В результате мутирования возникают альтернативные формы генов (аллели) — ген становится **полиморфным**. Некоторые мутации являются вредоносными, вызывают развитие наследуемых заболеваний, а другие — нейтральными, не вызывающими никаких существенных изменений в синтезируемых белках. Это зависит от локализации мутации в хромосоме. Если мутирование затрагивает кодирующие участки гена (**кодоны**) — последствия неблагоприятны. К счастью, большинство мутаций приходится на некодирующие участки гена (**интроны**). Они не транскрибируются на мРНК и, следовательно, фенотипически не проявляются. Поэтому **новые мутации — это важнейший источник генетической изменчивости, являющейся основой биологической эволюции (филогенеза);**

— **динамические генные мутации** характеризуются прогрессирующим изменением наследственного материала при его передаче из поколения в поколение. Они характерны, в частности, для *хореи Геттингтона*, *атаксии Фридрейха* и других наследственных заболеваний.

Геномные мутации вызываются изменением числа хромосом в карiotипе вследствие **хромосомных** перестроек (**аббераций**) — в результате, целые блоки хромосомного материала могут перемещаться и видоизменяться как в пределах одной хромосомы (**делеции, инверсии, дупликаций, инсерции**), так и между хромосомами (**транслокации**), что приводит, соответственно, к изменению локализации генов.

При утрате или появлении лишних гомологичных хромосом в хромосомном наборе на месте двух положенных гомологичных хромосом (XX или XY) оказываются:

— одна — **моносомия по X-хромосоме** — **X0** (синдром Тернера);

— две — **дисомия по X-хромосоме у мужчин** — **XXY** (синдром Клайнфельтера) или **дисомия по Y-хромосоме у мужчин** (синдром Жакоб);

— три — **трисомия по X-хромосоме** — **XXX** (синдром трипло-X); **XX** или **XY + 21** (при добавочной хромосоме на 21 паре — синдром Дауна); **XX** или **XY + 13** (синдром Патау); **XX** или **XY + 18** (синдром Эдвардса) и др.

Моно- и дисомия — это возможные варианты мутаций половых клеток, трисомия — аутосомных клеток.

При **полиплоидии** происходит кратное (*триплоиды, тетраплоиды*) увеличение генома вследствие нарушения поведения хромосом во время клеточного деления. Триплоидные зиготы возникают, если половая клетка, имеющая нормальный гаплоидный набор, соединяется

с диплоидной половой клеткой, в которой не произошло расщепления хромосом во время мейоза. Полиплоидия обычна в растительном мире, у животных встречается реже (в основном, среди беспозвоночных) а у человека несовместима с жизнью вследствие большого количества врожденных аномалий развития плода.

Еще один вариант геномной мутации — **псевдонормальный кариотип**. В таком диплоидном наборе, содержащем положенные 23 пары хромосом, все хромосомы происходят от одного из родителей, а хромосомы второго родителя отсутствуют. Такой кариотип не совместим с жизнью. Явление **однородительской дисомии** возникает в том случае, если при численно нормальном диплоидном кариотипе только одна пара имеет отцовское или чисто материнское происхождение, а остальные все нормальные. Однородительская дисомия может оказывать влияние на развитие организма в том случае, если ненормальная хромосома подвержена **геномному импринтингу** (молекулярной модификации). При локализации однородительской дисомии на этих хромосомах развиваются синдром *Прадера-Вилли* и синдром *Энгельмана*. Если же модификация касается других хромосомных пар, то аномалий фенотипа не возникает.



*Синдром
Прадера-Вилли*

Однородительская дисомия может оказывать влияние на развитие организма в том случае, если ненормальная хромосома подвержена **геномному импринтингу** (молекулярной модификации). При локализации однородительской дисомии на этих хромосомах развиваются синдром *Прадера-Вилли* и синдром *Энгельмана*. Если же модификация касается других хромосомных пар, то аномалий фенотипа не возникает.

Рекомбинативная (комбинативная) изменчивость — форма генотипической изменчивости, обусловленная возникновением новых сочетаний генов — **рекомбинаций**. Такой тип изменчивости проявляется

уже на стадии образования половых клеток. В каждой половой клетке (гамете) представлена только одна гомологичная хромосома из каждой пары. Хромосомы попадают в гамету случайным образом, поэтому половые клетки одного человека могут довольно сильно отличаться по набору генов в хромосомах. Еще более важная стадия для возникновения комбинативной изменчивости — это оплодотворение, после которого у вновь возникшего организма 50% генов унаследовано от одного родителя, а 50% — от другого.

Фенотипическая (модификационная) изменчивость — форма изменчивости, не связанная с изменениями генотипа и вызванная влиянием среды на развивающийся организм.

Модификации — это фенотипические различия, вызываемые внешними факторами у наследственно одинаковых организмов. Суть модификационной изменчивости в том, что в процессе индивидуального (онтогенетического) развития под влиянием факторов окружающей среды могут возникать изменения морфологических, физиологических, биохимических и др. особенностей организмов. Так как модификационная изменчивость не связана с изменениями генотипа, то эти приобретенные свойства, в отличие от мутаций, организмом не наследуются. Но почему-то кажется, что если, скажем, родители на протяжении нескольких поколений тренируются в поднятии тяжестей и обладают развитой мускулатурой, то эти свойства должны обязательно передаваться детям. На самом деле, это типичная модификация, а тренировки — это воздействие среды, которое повлияло на развитие признака. **Никаких изменений генотипа при модификации не происходит, поэтому приобретенные в результате модификации признаки не наследуются.** Ч.Дарвин называл этот вид изменчивости **ненаследственной**. Наличие

модификационной изменчивости очень важно для понимания сущности наследования: **наследуются не признаки, а способность генотипа давать определенный фенотип в результате взаимодействия со средой**

А вот и уточнение нашего понятия **фенотип** — комплекс реально возникших признаков организма, как результат взаимодействия генотипа и среды в ходе его развития. Можно рассматривать организмы с абсолютно одинаковым генотипом, например, вырастить черенки от одного и того же растения, но поместить их в разные условия (освещенность, влажность, минеральное питание) и получить сильно отличающиеся растения с разными признаками (рост, урожайность, форма листьев и т. п.).

Для характеристики пределов модификационной изменчивости и существует понятие **норма реакции**. Но, например, некоторые признаки у человека невозможно изменить за счет средовых влияний: группу крови, пол, цвет глаз. Другие, напротив, очень чувствительны к воздействию среды — в результате длительного пребывания на солнце цвет кожи становится значительно темнее, а волосы светлеют/выгорают. На вес человека влияют ха-



Примула садовая

актер питания, болезни, наличие вредных привычек, стресс, образ жизни. Средовые воздействия могут приводить и не только к количественным, но и к качественным изменениям фенотипа. Ряд цветов

(примула) при пониженной температуре (15–20°C) дает цветы красного цвета, а если растения поместить во влажную среду при температуре 30°C, то образуются белые цветы. Есть и замечательные истории с крокодилами и полом новорожденных, зависящим от температуры... Но несмотря на то, что норма реакции характеризует наследственную форму изменчивости (модификационную изменчивость), она тоже определяется генотипом — одно и то же воздействие среды у одного генотипа может привести к серьезному изменению признака и никак не повлиять на другой.

Вопросы и задания по материалам Темы 4

1. Дайте общее представление о гибридологическом методе.
2. Что такое *наследственность* в широком смысле слова?
3. Расскажите о хромосомном наследовании.
4. Что такое внехромосомная (цитоплазматическая) наследственность?
5. Подготовьте сообщения о законах Г. Менделя.
6. Как вы понимаете *изменчивость*?
7. Дайте представление об основных типах мутаций.
8. Что такое *модификации*?

Примерная тематика семинаров по Модюлю I

Выдающиеся генетики прошлого. Биографии и творческая судьба зарубежных генетиков.

Судьбы отечественных генетиков (по выбору).

Причины ортодоксальной ненависти к генетике в СССР.

Наиболее известные научные открытия прошлых веков.

Генетический анализ: методы и методики.
Основные термины генетики и их толкование.
Пангенезис: заведомо запланированная ошибка?
Основные задачи, проблемы, перспективы современной генетики.
Наследственность и законы Менделя.
Изменчивость в генетике.

Литература:

1. Асанов А. Ю., Демикова Н. С., Голимбет В. Е. Основы генетики. — М.: Академия, 2012.
2. Ефремова В. В., Аистова Ю. Т. Генетика. — Ростов-на-Дону: Феникс, 2010.
3. Никольский В. И. Практические занятия по генетике. — М.: Академия, 2012.

Интернет-ресурсы:

www.genes.net
http://www.labogen.ru/20_student/manual.html
<http://www.mif-ua.com/articles/category/genetika>

Модуль II. Популяционная генетика

Тема 5. Закон Харди-Вайнберга и популяционный метод

Популяционный метод и закон Харди-Вайнберга — открытия, сделанные независимо друг от друга.

Исключения.

Генетический груз.

Множественный аллелизм.

Дрейф генов.

Эффект основателя.



*Годфри Харолд Харди
(1877–1947)*

В генетике человека особое значение имеет *популяционный метод*, который позволяет изучать гены и генотипы без постановки скрещиваний. В основе этого метода лежит закон, сформулированный в 1908 г. английским математиком Г. Харди и немецким врачом В. Вайнбергом, независимо друг от друга, и названный законом Харди-Вайнберга. Условия для выполнения этого закона следующие:

— популяция должна иметь неограниченный размер (быть многочисленной по меркам статистики);

— генотип по изучаемым генам не должен влиять на выбор брачного партнера (скрещивание должно быть свободным);

— миграция не должна существенно изменять генотип популяции;

— должен отсутствовать отбор по аллелям изучаемых генов.

В большинстве популяций человека для большинства признаков эти условия соблюдаются. Но есть и исключения, когда закон Харди-Вайнберга не может выполняться:

— островные, отдаленные и высокогорные популяции, где из-за небольшого числа особей случайные факторы могут повлиять на частоты аллелей;

— избирательность (ассортативность) связей, приводящих к рождению детей (в США браки белых мужчин с белыми женщинами и черных мужчин с черными женщинами встречались намного чаще, чем смешанные;

— иммиграция большого числа носителей редких в популяции генотипов;

Если частота в популяции доминантного аллеля A составляет p , то частота рецессивного аллеля a будет $q = 1 - p$.

Согласно **первому положению закона Харди-Вайнберга** эти значения будут неизменны из поколения в поколение (при условии выполнения требований, изложенных выше) — это состояние генетического равновесия в популяции. Соотношение равновесных частот генотипов будет определяться возведением соотношения частот аллелей в квадрат — это **второе положение закона**. И согласно **третьему положению закона Харди-Вайнберга** равновесие частот генотипов достигается за одно поколение и остается неизменным. Математически это записывается так:

$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$, где p — частота доминантного аллеля A ; q — частота рецессивного аллеля a ;

p^2 — частота генотипа AA (доминантные гомозиготы);

$2pq$ — частота генотипа Aa (гетерозиготы); q^2 — частота генотипа aa (гомозиготных рецессивов).

Вот пример:

— одна из форм альбинизма (отсутствие пигментации кожи, радужной и пигментной оболочек глаза) у человека обусловлена редким рецессивным аллелем a (мутация в гене тирозиназы). В некоторой популяции частота альбиносов равна 0,0001.

Тогда, q — частота рецессивного аллеля a — 0,0001 = 0,01; p — частота доминантного аллеля A — 1 — 0,01 = 0,99; $\sqrt{p^2}$ — частота генотипа AA (доминантные гомозиготы) — 0,99² = 0,98;

$2pq$ — частота генотипа Aa (гетерозиготы) — 2 x 0,99 x 0,01 = 0,02.

Из примера видно, что гетерозигот по гену альбинизма в популяции в 200 раз больше, чем альбиносов.

В большинстве популяций наблюдается **дрейф генов** — изменение частот аллелей под влиянием случайных факторов. Подходящее выражение — *эффект бутылочного горлышка* — случайной гибели носителей того или иного генотипа при существенном снижении размера популяции — является наиболее частой причиной дрейфа генов.

В небольших популяциях можно встретить эффект основателя — когда одна особь (почти всегда мужчина, например, Чингис хан) оставляет огромное число потомков, вследствие чего изменяется соотношение частот аллелей и генотипов.



Вильгельм Вайнберг
(1862–1937)



Герман Джозеф Меллер
(1890–1967)

Исходя из закона Харди-Вайнберга нетрудно убедиться, что отбор против гомозиготных рецессивов неэффективен: *элиминация* (устранение) q^2 носителей генотипа aa не влияет существенно на частоты аллелей. Большинство носителей рецессивного аллеля являются гетерозиготами. В этом причина генетического груза в популяциях человека — значительного числа гетерозиготных носителей летальных (приводящих к

смерти) аллелей и аллелей, связанных со снижением жизнеспособности и репродуктивной функции.

Понятие генетического груза является фундаментальным в популяционной генетике, его ввел Г. Меллер в 1950 г. в своей книге «Наш груз мутаций» (концепция была предложена Дж. Холдейном в 1937 г.).

Термин «генетический груз популяции» отражает одно из фундаментальных понятий популяционной генетики. Впервые генетический груз в популяциях был выявлен в 20–30-х гг. в исследованиях природных популяций дрозофил. В 1929 гг. выдающийся русский генетик С. С. Четвериков с группой сотрудников провел генетические исследования дрозофил из популяций Крыма путем инбридинга потомства отловленных самок.

В *инбредных линиях* были обнаружены разнообразные видимые мутации, которые у исходных фенотипически нормальных самок были скрыты в гетерозиготном состоянии. В результате этих работ впервые была выявлена насыщенность популяций мутациями,

комплекс которых, как предположил С. С. Четвериков, является эволюционным резервом вида. В дальнейшем в 1931–1934 гг. Н. П. Дубинин с группой сотрудников при исследовании генетики природных популяций дрозофилы обнаружил, что дрозофилы из природных популяций необычайно часто несут в своем генотипе рецессивные летальные мутации. Так, в популяции Кутанси более 40% дрозофил оказались гетерозиготными по летальным генам. Каждый из этих генов в гомозиготном состоянии приводил к гибели оплодотворенных яйцеклеток.

Открытие отягощенности особей из природных популяций дрозофилы летальными мутациями положило начало учению о генетическом грузе популяций. В дальнейшем стало ясно, что генетический груз может быть выявлен практически в любой популяции разных видов — будь то растения, животные или человек. Американский генетик Г. Меллер и другие исследователи развили учение о генетическом грузе, показав, что он складывается из ряда категорий: *летальных, полуметальных и сублетальных изменений*. Величина генетического груза определяется как отношение разницы между наибольшей приспособленностью (W_{max}), что свойственно особям, обладающим лучшим генотипом в популяции, и фактической средней приспособленностью популяции (W), отнесенной к величине наибольшей приспособленности.

И еще уточним: в пределах ареала какого-либо вида условия среды различны. Это становится причиной различного направления отбора в разных частях ареала. Поэтому естественный отбор действует на популяцию (вид) одновременно по многим направлениям, а его конечный результат зависит от соотношения интенсивности разных векторов отбора и контротбора. Результатом многовекторного действия отбора в пре-

делах ареала является поддержание в разнообразном состоянии и одновременная относительная стабилизация генофонда популяции. Генетически разнородная популяция более жизнеспособна, всегда получая селективное преимущество при часто наблюдаемых колебаниях условий (параметров) среды. В генофонде такой популяции накапливается (особенно в гетерозиготном состоянии) большой объем резервной наследственной изменчивости. Такая популяция в эволюционном плане более пластична, может более гибко реагировать на изменения условий среды, приспосабливаясь к ним. Однако в такой популяции неизбежны особи, менее приспособленные к данным условиям среды. В каждый отдельно взятый момент жизнеспособность такой популяции ниже уровня, который был бы достигнут при наличии в популяции только наиболее подходящих для данных условий генотипов. **Часть наследственной изменчивости популяции, которая определяет появление менее приспособленных к данным условиям особей, и называется генетическим грузом. Иными словами, генетический груз — это величина, на которую приспособленность реальной популяции отличается от приспособленности идеальной для данных условий популяции, состоящей из «лучших» (при данном генофонде) генотипов. Источником генетического груза служат мутационные и сегрегационные процессы. Вместе с тем, поддерживая генетическое разнообразие и, следовательно, эволюционную пластичность популяций, генетический груз представляет собой одновременно генотипический резерв эволюции. При изменении направления естественного отбора особи с уклоняющимися от доминирующего фенотипами (генотипами) обеспечивают выживание и эволюционную перспективу целостной популяции.**

Следовательно, генетический груз — это своеобразная плата за экологическую пластичность и эволюционную перспективу. Генетический груз — неизбежное следствие генетического полиморфизма.

Различают следующие виды генетического груза:

а) **мутационный груз** — обусловлен возникновением в популяции мутантных аллелей: поскольку отбор направлен против этих аллелей, их частота в популяции невелика, и она поддерживается благодаря повторному возникновению (мутационному давлению);

б) **сегрегационный груз** — возникает в результате выщепления гетерозиготными родителями менее приспособленных гомозиготных потомков; в связи с тем, что значительная часть мутантных аллелей оказывает в гетерозиготном состоянии положительное действие (эффект сверхдоминирования), то гетерозиготы (а, следовательно, и вредные мутации) могут поддерживаться в ряду поколений;

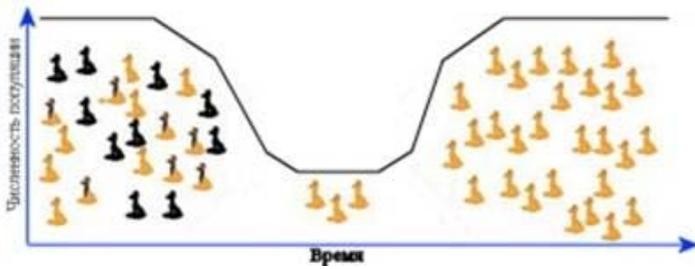
в) **субституционный груз** — возникает при изменении адаптивной ценности особей и сохраняется в популяции до тех пор, пока другой аллель не заместит потерявший адаптивную ценность первый аллель.

Генетический груз, в целом, снижает реальную приспособленность популяций людей к данным условиям. Для оценки бремени генетического груза человечества используют понятие **летальных эквивалентов**. Их число у отдельных людей составляет от 3-х до 8-ми. Это значит, что преобладающее количество неблагоприятных аллелей, которое имеется в генотипе каждого человека, оказывает суммарное вредное действие, эквивалентное действию 3–8 рецессивных аллелей, каждый из которых вызывает в гомозиготном состоянии смерть индивидуума до наступления репродуктивного возраста. Из-за наличия неблагоприятных аллелей и их соче-

таний примерно половина зигот, образующихся в каждом поколении людей, в биологическом плане несостоятельна, так как не участвует в передаче генов следующему поколению: около 15% организмов гибнет до рождения, 3% — при рождении, 2% — сразу после рождения, 3% людей умирает, не достигнув половой зрелости, 20% лиц не вступает в брак и 10% образующихся браков бездетны.

Выше уже прозвучало такое выражение как *дрейф генов* — один из факторов эволюции популяций. Благодаря дрейфу частоты аллелей могут случайно меняться в локальных популяциях, пока не достигнут *точки равновесия* — *утери одного аллеля и фиксации другого*. В разных популяциях гены «дрейфуют» независимо. Поэтому результаты дрейфа оказываются разными в различных популяциях — в одних фиксируется один набор аллелей, в других — другой. Дрейф генов ведет и к уменьшению генетического разнообразия внутри популяций, и к увеличению различий между популяциями, к *дивергенции* (расхождению) по ряду признаков. Эта дивергенция в свою очередь может служить основой для видообразования. *В ходе эволюции популяций дрейф генов взаимодействует с другими факторами эволюции, прежде всего, с естественным отбором*. Соотношение вкладов этих двух факторов зависит как от интенсивности отбора, так и от численности популяций. При высокой интенсивности отбора и высокой численности популяций влияние случайных процессов на динамику частот генов в популяциях становится пренебрежимо малым. Наоборот, в малых популяциях при небольших различиях по приспособленности между генотипами дрейф генов приобретает решающее значение. В таких ситуациях менее адаптивный аллель может зафиксироваться в популяции, а более адаптивный может быть утрачен. Наиболее частым последствием дрейфа генов является

уменьшение генетического разнообразия внутри популяций за счет фиксации одних аллелей и утраты других. Мутационный процесс, напротив, приводит к обогащению генетического разнообразия внутри популяций. Аллель, утраченный в результате дрейфа, может возникать вновь и вновь за счет мутирования. Поскольку дрейф генов — ненаправленный процесс, то, одновременно с уменьшением разнообразия внутри популяций, он увеличивает различия между локальными популяциями. Этому противодействует миграция. Если в одной популяции зафиксирован аллель A , а в другой a , то миграция особей между этими популяциями приводит к тому, что внутри обеих популяций вновь возникает аллельное разнообразие. Численность популяций редко остается постоянной во времени. За подъемами численности следуют спады. Российский ученый С. С. Четвериков (см. выше) одним из первых обратил внимание на периодические колебания численности природных популяций, **популяционные волны**. Они играют важную роль в эволюции популяций. Дрейф генов мало сказывается на частотах аллелей в многочисленных популяциях, но в периоды резкого спада численности его роль возрастает. В такие моменты он может становиться решающим фактором эволюции. В период спада частота определенных аллелей может резко и непредсказуемо меняться, может происходить потеря тех или иных аллелей и резкое обеднение генетического разнообразия популяций. Потом, когда численность популяции начинает возрастать, популяция будет из поколения в поколение воспроизводить ту генетическую структуру, которая установилась в момент прохождения через «бутылочное горлышко» численности.



Эффект бутылочного горлышка

Примером могут служить ситуация с гепардами — представителями кошачьих. Ученые обнаружили, что генетическая структура всех современных популяций гепардов очень сходна. При этом генетическая изменчивость внутри каждой из популяций крайне низка. Эти особенности генетической структуры популяций гепардов можно объяснить, предположив, что относительно недавно (чуть более двух сотен лет назад) данный вид прошел через *очень узкое горлышко численности*, и все современные гепарды являются потомками нескольких (по подсчетам американских исследователей, 7) особей.

Эффект бутылочного горлышка сыграл, по-видимому, значительную роль и в эволюции популяций человека. Предки современных людей в течение десятков тысяч лет расселялись по всему миру. И множество популяций просто полностью вымирало. А те, которые уцелели, часто оказывались на грани вымирания, и их численность падала до критического уровня. Во время прохождения через «бутылочное горлышко» численности частоты аллелей менялись по-разному в разных популяциях, определенные аллели утрачивались полностью в одних популяциях и фиксировались в других. После восстановления численности популяций их измененная генетическая структура воспроизводилась из поколения в поколение. Эти процессы, видимо, и обусловили мозаичное распределение

некоторых аллелей, которое наблюдается в локальных популяциях человека.

Любопытно и еще одно явление: **эффект основателя**. Животные и растения, как правило, проникают на новые для вида территории (острова, иные континенты) относительно небольшими группами. Частоты тех или иных аллелей таких групп могут значительно отличаться от частот этих аллелей в исходных популяциях. За вселением на новую территорию следует увеличение численности колонистов. Возникающие многочисленные популяции воспроизводит генетическую структуру их основателей. Это явление американский зоолог Эрнст Майр³⁵, один из основоположников синтетической теории эволюции, назвал *эффектом основателя*. Эффект основателя играл, вероятно, ведущую роль в формировании генетической структуры видов животных и растений, населяющих вулканические и коралловые острова. Все эти виды происходят от очень небольших групп основателей, которым посчастливилось достигнуть островов. Эти основатели представляли собой очень маленькие выборки из родительских популяций и частоты аллелей и могли сильно отличаться. Именно эффект основателя объясняет удивительное разнообразие океанических фаун и флор и обилие эндемичных видов на островах. Эффект осно-



Эрнст Майр

³⁵ **Эрнст Майр** (1904–2005) — американский биолог германского происхождения. Разрабатывал проблемы систематики, прежде всего, концепцию биологического вида.

вателя сыграл важную роль и в эволюции человеческих популяций. Обратите внимание, что аллель *B* полностью отсутствует у американских индейцев и у аборигенов Австралии — эти континенты были заселены небольшими группами людей, и по случайным причинам среди основателей этих популяций могло не оказаться ни одного носителя аллеля *B*. Естественно, это отсутствует и в производных популяциях.

Подведем итоги всему вышесказанному и добавим:

— конечным результатом дрейфа генов является полное устранение одного аллеля из популяции и закрепление (фиксация) в ней другого аллеля;

— чем чаще тот или иной аллель встречается в популяции, тем выше вероятность его фиксации вследствие дрейфа генов;

— вероятность фиксации нейтрального аллеля равна его частоте в популяции;

— каждый аллель из наблюдаемых в популяциях, когда-то возник в результате мутации;

— мутации происходят со средней частотой 10–5 на ген, на гамету, на поколение. Следовательно, чем меньше популяция, тем меньше вероятность, что в каждом поколении хотя бы одна особь в этой популяции окажется носителем новой мутации. В популяции, состоящей из 100000 особей, в каждом новом поколении с вероятностью близкой к единице найдется новый мутантный аллель, но частота его в популяции (1 на 200000 аллелей) и, следовательно, вероятность его фиксации будет очень низкой. Вероятность того, что эта же мутация в том же поколении возникнет у хотя бы одной особи в популяции, состоящей из 10 особей, ничтожно мала, но если такая мутация все же произойдет в этой популяции, то частота мутантного аллеля (1 на 20 аллелей) и шансы на его фиксацию будут относительно высокими;

— большие популяции недолго «ждут» мутационного возникновения нового аллеля, но долго его фиксируют, а малые популяции очень долго «ждут» возникновения мутации, но после того, как она возникла, она может быть быстро зафиксирована. Из этого следует парадоксальный на первый взгляд вывод: вероятность фиксации нейтральных аллелей зависит только от частоты их мутационного возникновения и не зависит от численности популяций;

— поскольку частоты возникновения нейтральных мутаций примерно одинаковы у разных видов, то и скорость фиксации этих мутаций должна быть примерно одинаковой. Отсюда следует, что число мутаций, накопленных в одном и том же гене, должно быть пропорционально времени независимой эволюции этих видов. Иными словами, чем больше времени прошло с момента выделения двух видов из общего предкового вида, тем больше нейтральных мутационных замен различают эти виды. На этом принципе строится метод *«молекулярных часов эволюции»* — определения времени, прошедшего с момента, когда предки разных систематических групп стали эволюционировать независимо друг от друга. Обнаружено, что количество различий в последовательности аминокислот в гемоглобине и цитохроме у разных видов млекопитающих тем больше, чем раньше разошлись их эволюционные пути. В дальнейшем эта закономерность была подтверждена на огромном экспериментальном материале, включающем десятки разных генов и сотни видов животных, растений и микроорганизмов. Оказалось, что **молекулярные часы идут с постоянной скоростью**, как следует из теории дрейфа генов. Калибровка молекулярных часов производится для каждого гена в отдельности, поскольку разные гены могут различаться по частоте возникновения нейтральных

мутаций. Для этого можно оценить количество замен накопленных в определенном гене у представителей таксонов, время дивергенции которых надежно установлено по палеонтологическим данным. После того, как молекулярные часы откалиброваны, их можно использовать для того, чтобы измерять время дивергенции между разными таксонами, даже в том случае, когда их общий предок пока не обнаружен в палеонтологической летописи.

Вопросы и задания по материалам Темы 5

1. Что такое популяционный метод?
2. Почему популяционные волны численности усиливают эффекты дрейфа генов?
3. Какую роль играет дрейф генов в формировании островных фаун и флор?
4. Объясните принцип молекулярных часов эволюции и его применение в эволюционных исследованиях.
5. Дайте общее представление о законе Харди-Вайнберга.
6. Объясните понятие «эффекта бутылочного горлышка».
7. Что такое *генетический груз*?
8. Что такое *дрейф генов*?
9. Как вы понимаете *эффект основателя*?
10. Почему для оценки бремени генетического груза человечества используют понятие летальных эквивалентов?

Тема 6. Близнецовый метод: конкретизация, практика, проблематика

История появления. Ф. Гальтон и Г. Сименс.

Разработка способов диагностики.

Классический вариант метода.

Средовые условия.

Современные варианты и разновидности метода близнецов.

Близнецовый метод исследования, о котором мы уже упоминали выше, был предложен Ф. Гальтоном в 1875 году, который сформулировал концепцию: «природа» или «воспитание» (Nature or Nurture), и изложил

основные положения вопроса в книге «Близнецы как критерий силы наследственности и среды». Но окончательная разработка его основ была проведена ученым Г. Сименсом в 1924 году. Сименс разработал действительно надежный способ диагностики зиготности (метод полисимп-

Published by Oxford University Press on behalf of the International Epidemiological Association
© The Author 2012. All rights reserved.

International Journal of Epidemiology 2012;41:905-911
doi:10.1093/ije/dyr097

REPRINTS AND REFLECTIONS

The History of Twins, As A Criterion Of The Relative Powers of Nature And Nurture^{1,2}

Francis Galton, FRS

The exceedingly close resemblance attributed to twins has been the subject of many novels and plays, and most persons have felt a desire to know upon what basis of truth those works of fiction may rest. But twins have many other claims to attention, one of which will be discussed in the present memoir. It is, that their history affords means of distinguishing between the effects of tendencies received at birth, and of those that were imposed by the circumstances of their after lives; in other words, between the effects of nature and of nurture. This is a subject of especial importance in its bearings on investigations into mental heredity, and I, for my part, have keenly felt the difficulty of drawing the necessary distinction whenever I tried to estimate the degree in which mental ability was, on the average, inherited. The objection to statistical evidence in proof of which I have always been: 'The persons whom you compare may have lived under similar social conditions and have had similar advantages of education, but such prominent conditions are only a small part of those that determine the future of each man's life. It is to trifling accidental circumstances that the bent of his disposition and his success are mainly due, and these you leave wholly out of account-in fact, they do not admit of being tabulated, and therefore your statistics, however plausible at first sight, are really of very little use.' No method of enquiry which I have been able to carry out-and I have tried many methods-is wholly free from this objection. I have therefore attacked the problem from the opposite side, seeking for some new method by which it would be possible to weigh in just scales the respective effects of nature and nurture, and to ascertain their several shares in framing the disposition and intellectual ability of men. The life history of twins supplies what I wanted. We might begin by enquiring about twins who were closely alike in boyhood and youth, and who were educated together for many

years, and learn whether they subsequently grew unlike, and if so, what the main causes were which, in the opinion of the family, produced the dissimilarity. In this way we may obtain direct evidence of the kind we want, but we can also obtain yet more valuable evidence by a converse method. We can enquire into the history of twins who were exceedingly unlike in childhood, and learn how far they become assimilated under the influence of their identical natures: having the same home, the same teachers, the same associates, and in every other respect the same surroundings.

My materials were obtained by sending circulars of enquiry to persons who were either twins themselves or the near relations of twins. The printed questions were in thirteen groups; the last of them asked for the addresses of other twins known to the recipient, who might be likely to respond if I wrote to them. This happily led to a continually widening circle of correspondence, which I pursued until enough material was accumulated for a general reconnaissance of the subject.

There is a large literature relating to twins in their purely surgical and physiological aspect. The reader interested in this should consult *Die Lehre von den Zwillingen*, von L. Kleinwächter, Prag, 1871; it is full of references, but it is also disfigured by a number of numerical misprints, especially in page 26. I have not found any book that treats of twins from my present point of view.

The reader will easily understand that the word 'twins' is a vague expression, which covers two very dissimilar events: the one corresponding to the progeny of animals that have usually more than one young one at a birth, and the other corresponding to those double-yolked eggs that are due to two germinal spots in a single ovum. The consequence of this is, that I find a curious discontinuity in my results. One would have expected that twins would commonly be found to possess a certain average likeness to one another; that a few would greatly exceed that degree of likeness, and a few would greatly fall short of it, but this is not at all the case. Twins may be divided into three groups, so distinct that there are not many intermediate instances; namely, strongly alike, moderately alike, and extremely dissimilar. When the twins are a boy and a girl, they are never

¹ Galton F. The history of twins, as a criterion of the relative powers of nature and nurture. *Francis's Magazine* 1875;12:566-576.

² In my *English Men of Science*, 1874, p12. I treated this subject in a cursory way. It subsequently occurred to me that it deserved a more elaborate enquiry, which I made, and of which this paper is a result.

905

Фрагмент репринта статьи
Гальтона о близнецах

томного сравнения), базирующийся на оценке сходства и различия близнецов по целому ряду параметров. И каждый параметр в отдельности не позволяет вынести суждения о зиготности близнецов, но использование комплекса параметров предоставляет возможность проводить более надежную диагностику. Кроме этого было предложено использовать в качестве объекта исследований не только МЗ-близнецов (монозиготных), но и ДЗ-близнецов (дизиготных). Принципы, заложенные Г. Сименсом в основу близнецового метода не претерпели изменений и до настоящего времени.

Близнецовый метод в классическом варианте основывается на:

— равенство/тождество сред для партнеров как в парах МЗ, так и парах ДЗ близнецов. В таком случае, если изменчивость признака полностью определяется средой, то и МЗ и ДЗ близнецы должны иметь [по этому признаку] одинаково высокие внутрипарные корреляции близкие к 1,0. Если же изменчивость признака целиком зависит от генотипа, то коэффициент корреляции в группе МЗ близнецов должен быть близок к 1,0, а в группе ДЗ близнецов приблизительно равен 0,5 (то есть степени родства ДЗ близнецов, схожести их генотипа);

— предполагается отсутствие систематических различий между близнецами и одиночнорожденными. В противном случае результаты близнецовых исследований нельзя переносить на популяцию в целом. И еще — не должно быть систематических различий между самими типами близнецов.

Если положение о равенстве средовых условий развития МЗ и ДЗ близнецов не соблюдается, то оценки компонента фенотипической дисперсии (наследуемость, дисперсии эффектов общей и

различающейся среды) искажаются. Подобное искажение может происходить в ряде случаев:

— средовые условия могут увеличивать внутрипарное сходство МЗ близнецов. Подчеркивание сходства может привести к появлению дополнительного (негенетического) сходства между членами МЗ пары близнецов, а это противоречит принятому допущению о равенстве общих сред для МЗ и ДЗ пар, так как для ДЗ пар подобное подчеркивание сходства менее характерно. В случае изучения признака, слабо зависящего от специфических особенностей среды (например, психофизиологических характеристик), погрешность будет невелика. Но если признак чувствителен к такого рода особенностям близнецовой среды, то близнецовый метод малопригоден для его изучения, так как нарушается принцип равенства сред, и общая среда будет вносить больший вклад в сходство МЗ близнецов, чем в сходство ДЗ близнецов;



Близнецы...

— средовые условия могут уменьшать внутрипарное сходство ДЗ близнецов. Так, выяснено, что средовые условия развития имеют тенденцию увеличивать различия ДЗ близнецов: родители склонны акцентировать различия ДЗ близнецов (например, успехи в разных видах деятельности); сами близнецы стремятся подчеркнуть свою непохожесть. Это приводит к *эффекту диссимилиации* — постепенному различию ДЗ близнецов. Если изучаемая психологическая характеристика формируется при участии способствующих диссимилиации средовых факторов, то показатель наследуемости будет завышен, как и в первом случае, поскольку общая среда будет вносить меньший вклад в сходство ДЗ близнецов, чем в сходство МЗ близнецов;

— условия развития могут равным образом уменьшать сходство партнеров как МЗ, так и ДЗ пар. Часть их связана с периодом внутриутробного развития и родов, часть приходится на последующие этапы развития.

Дело в том, что во время внутриутробного развития близнецы часто оказываются в неравных условиях: все питательные вещества и кислорода поступают в плод через плаценту. Все ДЗ близнецы и примерно одна треть МЗ близнецов имеет раздельные хорioni и плаценты. Остальные две трети МЗ близнецов имеют общие хорion (здесь — зародышевая часть плаценты) и плаценту. В этом случае в плодных оболочках так называемых монохорionных близнецов образуются различные соединения (шунты) между сосудистыми системами близнецов. В случае формирования артерио-венозного шунта происходит соединение артерии одного близнеца с веной другого. При этом одному из близнецов может не доставать богатой кислородом и питательными веществами артериальной крови, возможный же избыток того и другого у второго близнеца тоже может не способствовать нормальному развитию. Но, к счастью, обычно возникает несколько примерно равных по мощности шунтов, компенсирующих друг друга. Если же компенсация недостаточна, то один из близнецов развивается в условиях дефицита кислорода и питательных веществ. В этом случае при рождении наблюдается значительная разница между близнецами, в первую очередь, в весе. Подобная разница может

наблюдаться и у ДЗ близнецов, и у дихорионных МЗ близнецов из-за неравномерного сдавливания плацент при многоплодной беременности. Этап родов тоже может обусловить сильные средовые различия для близнецов: близнец, рождающийся первым, имеет больший шанс получить родовую травму. В то же время, второй близнец чаще всего занимает в матке неправильное положение, что приводит к необходимости искусственного родовспоможения. Кроме того, второй близнец дольше находится в родах и, соответственно, дольше и острее испытывает кислородное голодание, что отрицательно сказывается на развитии нервной системы.

Средовые различия между близнецами возникают и на последующих этапах развития даже при воспитании в одной семье. К этому чаще всего приводит предвзятое отношение родителей к каждому из близнецов, при этом физические особенности, возникшие на этапе внутриутробного развития и родов усугубляются. Также часто происходит разделение обязанностей между близнецами (случай комплементарных отношений), разделение пар по принципу *лидер — ведомый*. Таким образом, если средовые условия оказывают различное влияние на формирование изучаемой характеристики у МЗ и ДЗ близнецов, то показатель наследуемости этой характеристики может оказаться искаженным: заниженным, если общая среда вносит меньший вклад в сходство МЗ близнецов, чем в сходство ДЗ близнецов; завышенным — в противоположном случае.

А теперь о некоторых разновидностях близнецового метода.

Классический близнецовый метод. Используется такая схема эксперимента, при которой выраженность исследуемого признака сопоставляется в парах МЗ и ДЗ близнецов и оценивается уровень внутрипарного сходства партнеров.

Метод контрольного близнеца. Этот метод используется на выборках МЗ близнецов. Так как МЗ

близнецы сходны по многим признакам, то из партнеров можно составить две выборки, уравненные по большому числу параметров. Такие выборки используются для исследования влияния конкретных средовых воздействий на изменчивость признака. При этом отобранная часть близнецов (по одному из каждой пары) подвергается специфическому воздействию, другая же часть является контрольной группой. Поскольку в эксперименте участвуют генетически идентичные люди, то этот способ можно считать моделью для изучения воздействия различных средовых факторов на одного и того же человека.

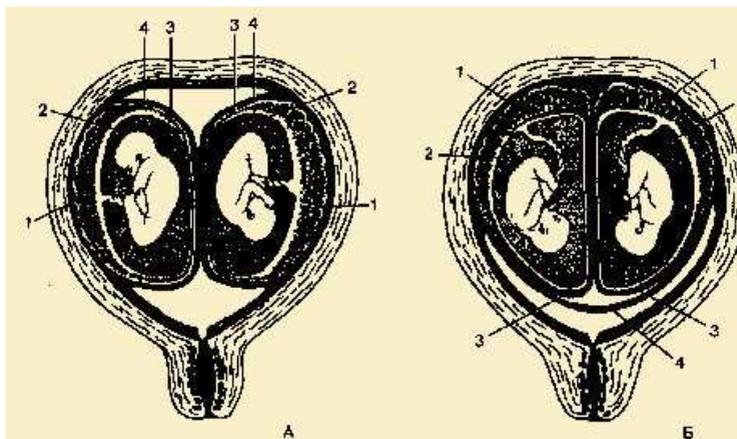
Лонгитюдное близнецовое исследование. В этом случае проводится длительное наблюдение одних и тех же близнецовых пар. Фактически, это сочетание классического близнецового метода с лонгитюдным. Используется для изучения влияния средовых и генетических факторов в развитии.

Метод близнецовых семей является сочетанием семейного и близнецового метода. При этом исследуются члены семей взрослых близнецовых пар. Дети МЗ близнецов по генетической конституции являются как бы детьми одного человека. Метод широко используется при изучении наследственных причин ряда заболеваний.

Исследование близнецов как пары предполагает изучение специфических близнецовых эффектов и особенностей внутрипарных отношений. Используется как вспомогательный метод для проверки справедливости гипотезы о равенстве средовых условий для партнеров МЗ и ДЗ пар.

Сопоставление близнецов с неблизнецами. Вспомогательный метод, позволяющий оценить ответственность разницы между близнецами и неблизнецами. Если разница между близнецами и остальными

людьми не является значимой, то близнецы и остальные люди относятся к одной генеральной выборке и, следовательно, результаты близнецовых исследований можно распространять на всю популяцию.



Разноййцовая двойня. А. Каждый плод имеет собственную плаценту (1), амнион (2), хорион (3), decidua capsularis (4); Б. Плаценты (1) почти соприкасаются, каждый плод имеет собственный амнион (2) и хорион (3), decidua capsularis общая (4)

Так, например, отмечено некоторое отставание членов близнецовых пар в развитии от одиночнорожденных. Особенно эта разница заметна в раннем возрасте. Но сопоставление результатов исследования членов близнецовых пар, чей партнер умер в раннем детстве и одиночнорожденных не показывает существенной разницы в уровне развития — то есть особенности развития близнецов обусловлены не столько трудностями эмбрионального развития, сколько с особенностями воспитания близнецов как пары (семейные трудности при рождении близнецов, замкнутость близнецов в паре и т. п.). Таким образом, близнецы несколько отличаются от всей популяции, но с возрастом эта разница заметно сглаживается, и близнецы по большей части становятся сопоставимы с остальной популяцией.

Метод разлученных близнецов. Из-за особенностей развития ДЗ и МЗ пар близнецов классический близнецовый метод и его разновидности принято считать *нежесткими* экспериментами — невозможно однозначно разделить влияние генетических и средовых факторов, так как в силу ряда причин условия развития близнецов по целому ряду причин оказываются несопоставимыми. Поэтому эксперименты, проведенные по вышеприведенным схемам, требуют дополнительной верификации — можно проверить гипотезу о сходстве среды МЗ и ДЗ близнецов, то есть доказать, что на исследуемую характеристику не влияют различия в среде МЗ и ДЗ близнецов (эта проверка трудна и обладает невысокой надежностью); данные исследований можно сопоставить с результатами по *жестким* схемам, которые позволяют точно отделить влияние средовых факторов от генетических.

Метод частично разлученных близнецов состоит в сравнении внутрипарного сходства МЗ и ДЗ близнецов, живущих некоторое время врозь. В этих исследованиях можно определить, в какой степени справедлив постулат о равенстве сред МЗ и ДЗ близнецов. Так, если МЗ близнецы, живущие отдельно, становятся все менее схожи друг на друга по некой психологической характеристике, а ДЗ близнецы, живущие врозь, не отличаются по внутрипарному сходству от вместе живущих ДЗ близнецов, то можно сделать вывод, что средовые условия МЗ и ДЗ неравноценны, а выводы о наследуемости изучаемой характеристики завывают показатель наследуемости этой характеристики.

Итак, резюмируем: выше шла речь о наследовании дискретных (качественных) признаков. Большинство *морфологических* (рост, телосложение, форма отдельных частей тела), *физиологических* (интенсивность обмена веществ, скорость роста) и *психологических* (темперамент)

признаков являются количественными, их можно выражать числовыми значениями и сравнивать между собой. Одним из подходов генетического анализа количественных признаков у человека и является близнецовый метод.

Следует различать два принципиальных типа близнецов — разнотельные (дизиготные), которые возникают при оплодотворении двух разных яйцеклеток двумя различными сперматозоидами, и одноблизнецовые (монозиготные), которые появляются в результате дробления уже оплодотворенной яйцеклетки (зиготы). Дизиготные близнецы ничем не отличаются от обычных сиблингов. Монозиготные близнецы являются *клонами* — генетически идентичными организмами.

Известны случаи, когда дизиготные близнецы имели разных отцов. Тогда, с точки зрения генетики, они являются полусиблами. Рождение одноблизнецовых близнецов случается несколько чаще, чем разноблизнецовых, но это связано скорее всего с разной подвижностью сперматозоидов, несущих X- и Y-хромосомы. Разнотельные близнецы появляются в результате одновременного созревания двух и более яйцеклеток — *полиовуляции*, которая обычна для многих млекопитающих, но у человека происходит с небольшой частотой. Склонность к полиовуляции наследуется (если у женщины уже были близнецы, то частота их рождения во второй раз в четыре раза выше, чем в среднем в популяции).

Монозиготные близнецы иногда разделены не полностью, у них могут быть даже общие органы. В таких случаях производят хирургиче-



Монозиготные близнецы

ское разделение, зачастую сопряженное с риском для жизни обоих близнецов.

Средняя частота рождения монозиготных близнецов — около 40 на 10000 и мало варьирует в разных популяциях человека. Дизиготные близнецы чаще рождаются у представителей негроидной расы (около 100 на 10000), у европеоидов — около 80 на 10000, у монголоидов — около 20 на 10000. Этот факт можно объяснить наследственным характером склонности к полиовуляции и негенетическими причинами дробления оплодотворенной яйцеклетки.

Влияние на признак наследственности факторов среды можно определить исходя из степени сходства (*конкордантности*) дизиготных (имеющих разный генотип, но выросших в близких условиях) и монозиготных (имеющих один генотип и выросших в близких условиях) близнецов. Особое значение имеет изучение разлученных в младенческом возрасте монозиготных близнецов, так как они выросли в разных условиях, но являются генетически идентичными организмами. Существенным ограничением метода является то, что он позволяет установить только факт наследования изуча-



емого признака, но не дает возможности ответить на вопросы о типе наследования, количестве участвующих генов и их возможном взаимодействии.

Разлученные в раннем возрасте близнецы, выросшие в разных социальных условиях

Вопросы и задания по материалам Темы 6

1. Дайте общее представление о близнецовом методе исследования.
2. Какие условия способствуют использованию классического метода близнецов?
3. Расскажите о роли средовых различий.
4. Подготовьте сообщения о разновидностях близнецового метода.
5. Ответьте на следующие вопросы:
 - у отца вторая группа крови, у матери — первая. Родились близнецы — мальчик с первой группой крови и девочка — с четвертой. Может ли формальный отец считаться биологическим отцом этих детей?
 - зависит ли вероятность рождения близнецов у супружеской пары от наличия или отсутствия близнецов среди кровных родственников жены и мужа?

Примерная тематика семинаров по Модулю II

Популяционный метод в генетических исследованиях.

Закон Харди-Вайнберга — суть и основные положения и условия.

Исключения из закона.

Генетический груз: история термина и исследований.

Множественный аллелизм.

Дрейф генов.

Эффект основателя.

Эффект бутылочного горлышка.

История создания метода и его модификаций.

Разработки способов диагностики.

Классический вариант метода близнецов — условия и факторы.

Средовые условия.

Современные варианты и разновидности метода близнецов.

Литература:

1. Мюнтцинг А. Генетики. — М.: Академия, 2011.
2. Шевченко В. А., Топорнина Н. А., Стволинская Н. С. Генетика человека. Учебник для студентов ВУЗов. — М.: Владос, 2010.
3. Щелкунов С. Н. Генетическая инженерия: учеб.-справ. пособие. —Новосибирск: Сиб. унив., 2008.

Интернет-ресурсы:

www.genes.net

<http://kultura-prava.ru/index.php/2010-05-14->

<http://www.vitroclinic.ru/monozigotnye-bliznecy>

Модуль III.

Цитогенетика: история, проблематика, методы

Тема 7. Ядро и митохондрии как носители наследственной информации на внутриклеточном уровне

Митоз и мейоз.

Особенности созревания половых клеток человека.

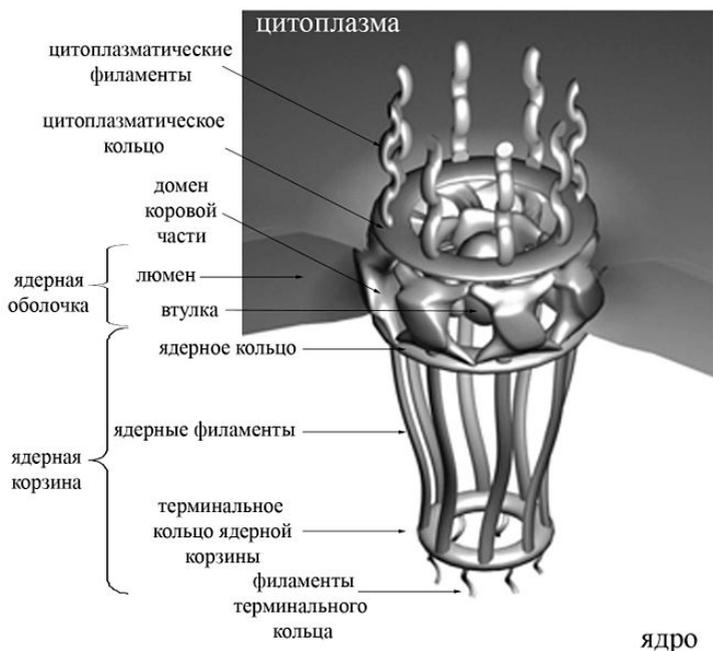
Овогенез.

Сперматогенез.

Логика развития и оформления материала в нашем пособии предполагает и разговор о **цитогенетике** — науке о связи внутриклеточных структур и наследственности, находящейся на стыке генетики и цитологии (науки о клетке). И сразу же новые термины и уточнение того, о чем говорилось выше...

Ядро (лат. *nucleus*) — органелла эукариотической клетки, содержащая молекулы ДНК, которые несут генетическую информацию. В ядре происходят важнейшие процессы: **репликация** — удвоение молекул ДНК, **транскрипция** — синтез молекул РНК на молекуле ДНК. Здесь же синтезированные молекулы РНК подвергаются ряду *модификаций* и только после этого выходят в цитоплазму. В особых структурах внутри ядра — *ядрышках* — происходит образование *субъединиц* — **рибосом**.

Ядро от цитоплазмы отделено **ядерной оболочкой**, образованной за счет расширения и слияния друг с другом *цистерн эндоплазматической сети* таким образом, что у ядра образуются двойные стенки за счет окружающих его узких **компартментов** (митохондрий и пр.). Полость ядерной оболочки называется **люменом** или **перинуклеарным пространством**. Внутренняя поверхность оболочки ядра подстилается ядерной **ламиной** — жесткой белковой структурой, образованной белками-ламинами, к которой прикреплены нити хромосомной ДНК. Ламины прикрепляются к внутренней мембране ядерной оболочки при помощи *заякоренных* в ней *трансмембранных* белков — рецепторов ламинов. В местах слияния внутренней и внешней мембран ядерной оболочки образуются так называемые *ядерные*

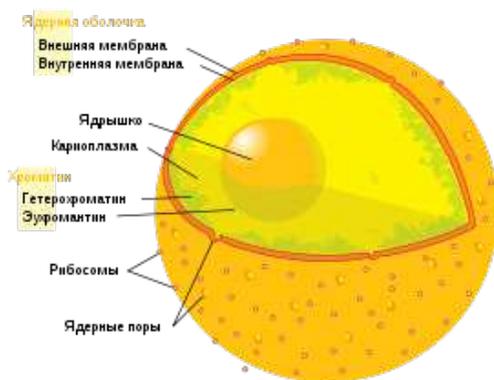


Реконструкция ядерной поры

поры, через которые происходит обмен веществ между ядром и цитоплазмой. Пора — не дырка в ядре, а сложная структура, организованная несколькими десятками особых белков — **нуклеопоринов**.

С помощью электронной микроскопии установлено, что ядерная пора представляет собой структуру, состоящую из восьми связанных друг с другом белковых гранул с внешней и восьми с внутренней стороны ядерной оболочки.

Ядрышко — структура, находящаяся внутри ядра, не имеющая собственной мембранной оболочки, однако хорошо различима под микроскопом. Основная функция ядрышка — синтез *рибосом*. В хромосомах имеются и так называемые *ядрышковые организаторы* — специальные участки, содержащие гены *рибосомной РНК* (рРНК), вокруг которых и формируются ядрышки. В ядрышке полимераза I синтезирует рРНК. После созревания этой РНК происходит сборка рибосомных субчастиц. В ядрышке локализуются белки, принимающие участие в этих процессах. Для некоторых из этих белков характерно наличие особой аминокислотной

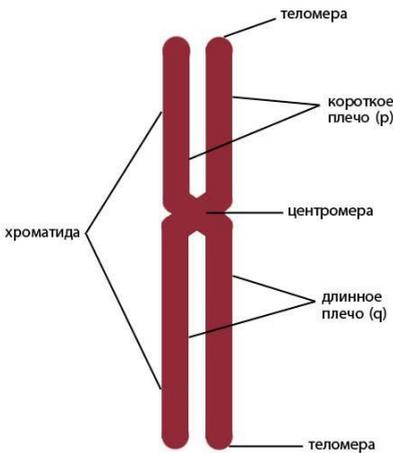


Ядрышко

последовательности — *сигнала ядрышковой локализации*. Следует отметить, что в ядрышке локализуется около 600 видов различных белков. Это концентрация белка. Считается, что для осуществления функций ядрышка необходима лишь небольшая часть этих белков, а остальные попадают туда неспецифическим образом.

Применение методов электронной микроскопии позволило выделить в ядрышке несколько *субкомпарментов*: *фибриллярные центры*, окруженные участками плотного фибриллярного компонента, где и происходит синтез рРНК, и *гранулярные компоненты*, которые располагаются снаружи от плотного фибриллярного компонента и представляют собой скопление созревающих рибосомных субчастиц.

При делении клеток отдельные молекулы ДНК подвергаются *компактизации*, становятся различными хромосомами — *нуклеопротеиновые комплексы*, состоящие из двух *хроматид*, соединенных *центромерой* — первичной перетяжкой. Поскольку хроматиды являются результатом репликации



Хромосома

результатом репликации (удвоения) одной молекулы ДНК, их и называют сестринскими (см. выше). Каждая хроматида разделена центромерой на две части — плечи. Обычно плечи хромосом не равны по длине, выделяют короткое (обозначается латинской буквой p) и длинное плечо (обозначается буквой q). Отношение длины короткого плеча к длине

всей хромосомы, называют центромерным индексом. Различают метацентрические хромосомы (центромерный индекс 0,35–0,50), субметацентрические (0,25–0,35) и акроцентрические ($< 0,25$). Концевые районы хромосом называются *теломеры*.

Митохондрии, как мы уже знаем, органеллы, имеющиеся в цитоплазме многих эукариотической клеток. Именно в митохондриях происходит синтез АТФ — основного источника химической энергии клетки. Эффективность работы митохондрий очень высока.

Количество и форма митохондрий сильно различаются в разных тканях и зависят от интенсивности обмена веществ. Например, в одной клетке печени млекопитающих может быть 1000–1500 митохондрий.

Оболочка митохондрий состоит из двух мембран, между которыми имеется межмембранное пространство. Пространство, ограниченное внутренней мембраной, называется *матриксом*. В матриксе располагаются митохондриальные ДНК, РНК и рибосомы, содержатся ферменты, участвующие в цикле Кребса (последовательность окислительных превращений лимонной кислоты и др. три- и дикарбоновых кислот в живых организмах), протекают реакции окисления жирных кислот. Внутренняя мембрана образует многочисленные гребневидные



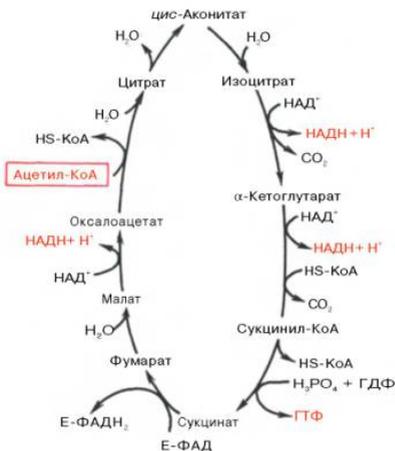
*Обилие внутренних мембран
в митохондрии*

мембрана образует многочисленные гребневидные

складки — *кристи*, существенно увеличивающие площадь ее поверхности. На обращенной к матриксу стороне внутренней мембраны митохондрий локализуются особые молекулы *АТФ-синтазы*, состоящие из головки, ножки и основания. При прохождении через них протонов происходит синтез АТФ. В основании частиц, заполняя собой всю толщу мембраны, располагаются компоненты дыхательной цепи. Наружная мембрана митохондрий имеет маленькие отверстия, образованные специальными белками, через которые могут проникать небольшие молекулы и ионы. Внутренняя мембрана таких отверстий не имеет. В местах соприкосновения наружной и внутренней мембран находится специальный белок-рецептор, способствующий транспорту митохондриальных белков, закодированных в ядре, в матрикс митохондрии.

Митохондриальный геном человека представлен кольцевой молекулой ДНК длиной 16569 п.н. (пар нуклеотидов), которая со-

держит 37 генов (13 из них кодируют белки, функционально связанные с энергетическим обменом, 22 — транспортные РНК и 2 — рибосомальную РНК). ДНК митохондрий наследуется исключительно по материнской линии. В митохондриальной ДНК наблюдается высокая частота мутаций. Мутации митохондриальной ДНК являются



Цикл трикарбоновых кислот

причиной целого ряда наследственных заболеваний человека, обычно связанных с тяжелыми нарушениями обмена веществ.

Для большинства *нормальных* клеток человека характерно деление путем митоза — упорядоченного расхождения хроматид к полюсам клетки при помощи веретена деления с последующим формированием генетически идентичных дочерних клеток.

Клеточный цикл состоит из интерфазы — периода между двумя клеточными делениями — и митоза. Интерфаза включает фазу G_1 — синтез белка, предшествующий удвоению ДНК, фазу S — репликация (удвоение) ДНК и фазу G_2 — пострепликационный синтез белка. Иногда клетки переходят в фазу G_0 — пролиферативного покоя, когда окончательно специализированные клетки перестают делиться. На стадии S часто происходят сестринские хроматидные обмены (СХО), частота которых зависит от внешних влияний на клетку. Специальные методы окрашивания позволяют выявлять СХО. Повышенная частота СХО служит индикатором вредных влияний на клетки.

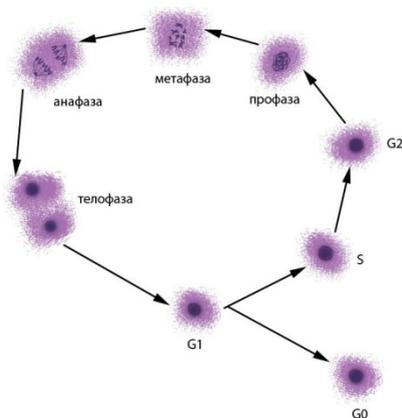
Митоз включает следующие стадии:

I — **профаза**. Конденсация хроматина приводит к тому, что хромосомы становятся видимыми, сестринские хроматиды тесно прилежат друг ко другу. Ядрышко исчезает, *кариолемма* (оболочка ядра) растворяется, формируется *веретено деления*;

II — **метафаза**. Хромосомы располагаются в экваториальной плоскости клетки. К центромерам прикреплены нити *ахроматинового веретена*, другие концы которых закреплены в *центриолях* на полюсах клетки. Хроматиды начинают отделяться одна от другой, оставаясь соединенными только в центромерах. Центромеры разъединяются, и сестринские хроматиды начинают расхождение к полюсам клетки;

III — **анафаза**. Сестринские хроматиды расходятся к полюсам клетки;

IV — **телофаза**. Происходит *деконденсация* хроматина, формируются дочерние ядра, веретено деления дезинтегрируется, появляется перетяжка между дочерними клетками.



Стадии клеточного цикла

Хромосомы лучше всего видны на стадии метафазы, поэтому основным методом цитогенетики является **метафазный анализ**. Для того чтобы накопить достаточное количество клеток на стадии метафазы, используют *колхицин* — вещество, которое растворяет трубочки акро-

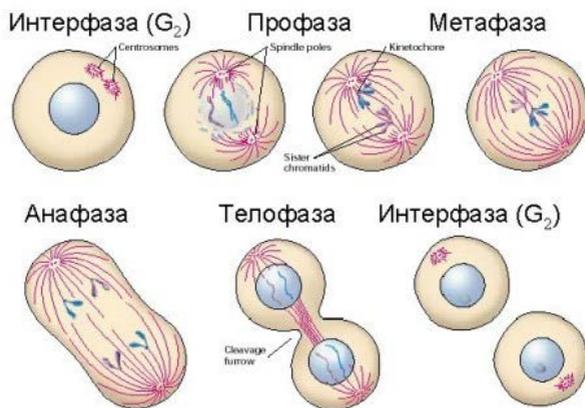
маинового веретена, препятствуя агрегации молекул *тубулина*, из которого состоят микротрубочки.

С точки зрения передачи наследственной информации все клетки можно подразделить на два типа — *генеративные* (половые) — участвующие в формировании генотипа потомков, и *соматические* (от лат. *soma* — тело), гены которых не передаются потомкам (см. выше). Если для соматических клеток характерно митотическое деление, то для формирования половых клеток (гамет) необходим **мейоз**.

Мейоз (от греческого *meiosis* — уменьшение) — тип деления клетки, при котором число хромосом уменьшается вдвое — каждая дочерняя клетка получает по гаплоидному набору хромосом, набору, где каждая хромосома представлена

одним гомологом из двух, пришедших от каждого из родителей индивидуума. Гаплоидное число хромосом обозначается n , у человека $n = 23$. Такое число хромосом имеют яйцеклетки и сперматозоиды. Соматические клетки содержат диплоидное число хромосом $2n = 46$. Биологическое значение мейоза заключается:

- в формировании гаплоидных клеток, которые при слиянии могут дать начало диплоидному организму;
- в рекомбинации хромосом — кроссинговер³⁶ происходит в профазе I, а в анафазе I гомологичные хромосомы случайным образом расходятся к полюсам клетки, что служит для увеличения генетического разнообразия индивидуумов.



Кроссинговер

³⁶ **Кроссинговер** (перекрест) — процесс обмена участками гомологичных хромосом во время конъюгации в профазе I мейоза. Помимо мейотического, описан также митотический кроссинговер. Хромосома разделяется на эти участки в определенных точках, одних и тех же для одного вида, что может быть определено вида на генетическом уровне, место расположение этих точек задается единственным геном.

Мейоз подразумевает два деления — **редукционное**, когда вдвое уменьшается число хромосом, и **эквационное** — обычный митоз, когда вдвое уменьшается число хроматид. Редукционное деление (деление I) включает профазу I, метафазу I, анафазу I и телофазу I. В профазе I выделяют следующие стадии:

— **лептотена** (стадия тонких нитей). Становятся видимыми длинные хромосомные нити;

— **зиготена**. Начинается спаривание (конъюгация) гомологичных хромосом. Образуются *биваленты* — спаренные гомологичные хромосомы. Каждый бивалент состоит из четырех хроматид. Половой бивалент резко отличается от других — X- и Y-хромосомы соединены торцами. Формируются *синаптонемальные комплексы* — характерные структуры в местах контактов хроматид, имеющие двухслойное строение;

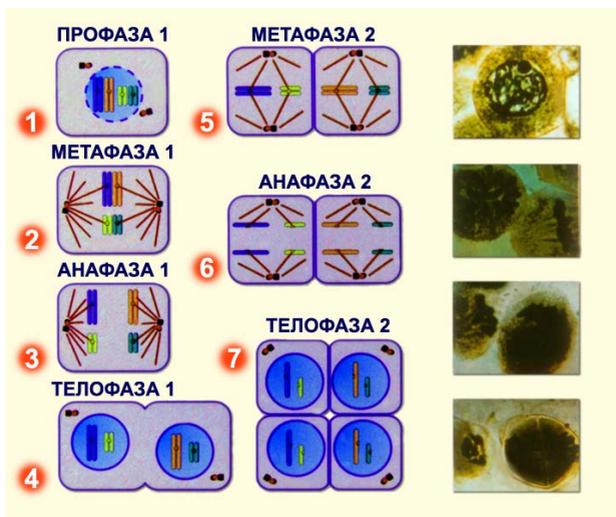
— **пахитена**. Происходит дальнейшая конденсация хромосом;

— **диplotена**. Распадаются синаптонемальные комплексы. Происходит разделение несестринских хроматид, которые остаются связанными друг с другом в отдельных точках, где образуются X-образные структуры — *хиазмы*;

— **диакинез**. Происходит терминализация *хиазм* — хиазмы сдвигаются к теломерам. Происходит полное разделение гомологичных хромосом.

В конце метафазы I гомологичные хромосомы начинают расхождение к полюсам клетки. Анафаза I и телофаза I проходят аналогично анафазе и телофазе обычного митотического деления.

Эквационное деление является обычным митотическим делением гаплоидной клетки. Оно включает профазу II, метафазу II, анафазу II и телофазу II.



Мейоз:

У организмов с половым размножением существует особый вид деления клетки – мейоз.

Первое деление.

1 — Профаза I. Гомологичные хромосомы конъюгируют и обмениваются своими участками. Происходит кроссинговер.

Каждая хромосома удвоена и состоит из 2 – х хроматид.

2 — Метафаза I. Гомологичные хромосомы попарно располагаются над и под плоскостью экватора. Центромеры соединены с микротрубочками веретена деления.

3 — Анафаза I. Гомологичные хромосомы расходятся к полюсам клетки. Происходит редукция числа хромосом (уменьшение вдвое).

4 — Телофаза I. Образуются две гаплоидные клетки с удвоенными хромосомами.

Второе деление.

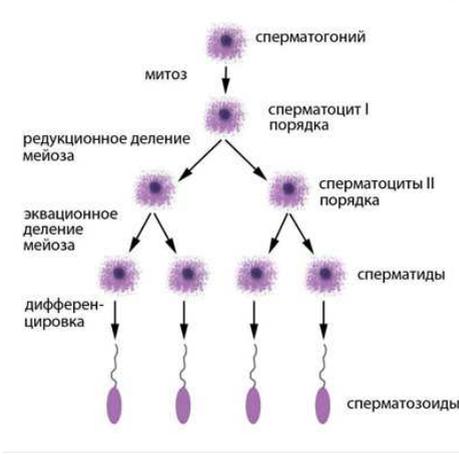
5 — Метафаза II. Хромосомы выстраиваются в плоскости экватора.

6 — Анафаза II. Центромера делится, и к каждому полюсу расходятся сестринские хроматиды – хромосомы.

7 — Телофаза II. Образуется четыре гаплоидные клетки, ядра которых содержат вдвое меньше хромосом, чем исходная материнская клетка.

Добавим: у человека формирование мужских половых клеток — сперматозоидов и женских — яйцеклеток имеет свои существенные биологические особенности.

Начиная с момента полового созревания (постпубертантный период) *сперматогенез* у мужчин происходит постоянно. В семенниках сперматоциты — клетки, предшественники сперматозоидов, подвергаются *мейотическому делению*. Из одного сперматоцита получается

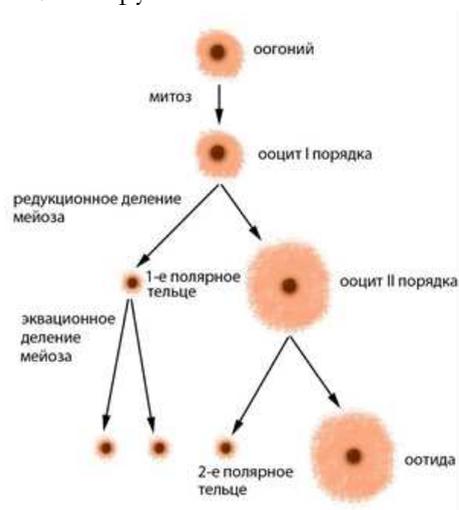


Сперматогенез

четыре сперматозоида, каждый из которых содержит плотно упакованный гаплоидный набор хромосом и митохондрию, которая служит для выработки энергии для жгутика. Жгутик позволяет сперматозоиду быстро передвигаться в жидкой среде. Следует от-

метить, что от зачатия до начала мейоза в семенниках клетки предшественники сперматозоидов проходят большое число *митотических делений*, в ходе которых могут накапливаться мутации. В этом и проявляется эволюционная роль мужского пола как носителя наследственной изменчивости. Так, при сравнении последовательностей ДНК хромосом шимпанзе и человека выяснилось, что быстрее всего накапливаются замены нуклеотидов именно в Y-хромосоме, что служит прекрасной иллюстрацией этого положения.

Эволюционная роль женского пола в качестве хранителя уже устоявшихся наследственных изменений, как правило, имеющих адаптивную (приспособительную) ценность, выражается и в особенностях созревания яйцеклеток. *Мейоз* начинается в яичниках девочек на третьем месяце внутриутробного развития, когда с момента оплодотворения прошло не так много митотических делений и еще не успели накопиться мутации. До седьмого месяца делящиеся клетки находятся в стадии лептотены и зиготены. От седьмого месяца до рождения успевают пройти пахитены и диплотены, затем мейоз останавливается, образуются *кариолема* и ядрышко. Эта особая стадия — *диктиотена* — продолжается до первой овуляции. При рождении у девочки имеется около $2,6 \times 10^6$ ооцитов, из которых большинство (около 90%) дегенерирует. За всю жизнь женщины только около 400 ооцитов созревают полностью. В яичнике каждый ооцит окружен слоем эпителиальных клеток и двумя слоями соединительной ткани — эта структура называется *фолликул*. В постпубертантный период (в среднем с 12 лет) в первой половине цикла под действием *лютеинизирующего гормона* начинается *диакинез*. В ходе редукционного деления образуется *первое полярное*



Оогенез (овогенез)

тельце. Первое полярное тельце, как правило, позднее проходит эквационное деление. Далее мейоз проходит до метафазы II и останавливается до встречи яйцеклетки со сперматозоидом в *фаллопиевой трубе*. Проникновение сперматозоида стимулирует расхождение хроматид, формирование ядерной мембраны, женского *пронуклеуса* и второго полярного тельца. Из хроматина сперматозоида образуется мужской пронуклеус, который через несколько часов сливается с женским пронуклеусом, образуя зиготу — оплодотворенную яйцеклетку. Путем дробления зиготы образуется эмбрион.

Вопросы и задания по материалам Темы 7

1. Подготовьте сообщение о цитогенетике.
2. Дайте представление о новых дефинициях и терминах.
3. Что такое *митоз*?
4. Расскажите о *мейозе*.
5. Подготовьте сообщения о *сперматогенезе* и *оогенезе*.
6. Что такое *кроссинговер*?
7. Каким образом можно разделить все клетки с точки зрения передачи наследственной информации?
8. Дайте общее представление о метафазном анализе.

Тема 8. Хромосома: структура и функции

Состав хромосомы.

Хроматин и гистоны.

Блочная организация.

Изучение хромосом.

Гибридизация *in situ*.

Хромосомный пейнтинг.

Сравнительная геномная гибридизация (CGH).

В различных источниках приоритет открытия хромосом отдают разным людям, но чаще всего годом открытия хромосом называют 1882, а их первооткрывателем — немецкого анатома В. Флемминга³⁷. Однако справедливее было бы сказать, что он не *открыл* хромосомы, а [в своей фундамен-



Вальтер Флемминг



Генрих Вальдейер

тальной книге «Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung»] *собрал* и упорядочил сведения о них, дополнив результатами собственных исследований. Сам термин «хромосома» был предложен немецким гистологом Г. Вальдейером³⁸ в 1888 году. *Хромосома* в буквальном переводе означает «окрашенное тело», поскольку основные красители хорошо связы-

³⁷ **Вальтер Флемминг** (1843–1905) — немецкий биолог, основатель цитогенетики.

³⁸ **Генрих Вильгельм Готфрид Вальдейер** (1836–1921) — немецкий анатом и гистолог.

ваются хромосомами. Сейчас почти невозможно установить, кто сделал первое описание и рисунок хромосом. В 1872 году швейцарский ботаник Карл фон Негели опубликовал работу, в которой изобразил некие тельца, возникающие на месте ядра во время деления клетки при образовании пыльцы у лилии (*Lilium tigrinum*) и традесканции (*Tradescantia*). Однако его рисунки не позволяют однозначно утверждать, что он видел именно хромосомы. В этом же году ботаник Э. Руссов привел свои изображения деления клеток при образовании спор у папоротника из рода ужовник (*Ophioglossum*) и пыльцы лилии (*Lilium bulbiferum*). На его иллюстрациях легко узнать отдельные хромосомы и стадии деления. Некоторые исследователи полагают, что первыми увидел хромосомы немецкий ботаник В. Гофмайстер (задолго до К. Негели и Э. Руссова) еще в 1848–1849 годах. При этом никто из них не понимал до конца значения увиденного.



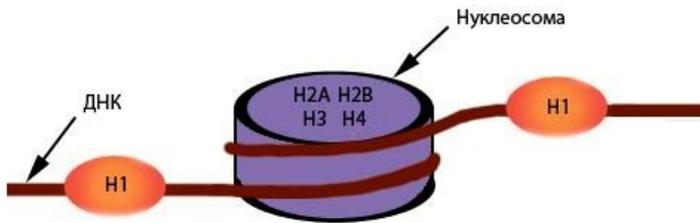
*Карл Вильгельм фон
Негели*

После переоткрытия в 1900 году законов Менделя потребовалось не более двух лет для того, чтобы стало ясно: хромосомы ведут себя именно так, как это ожидалось от «частей наследственности». В 1902 году Бовери и Сеттон независимо друг от друга первыми выдвинули гипотезу о генетической роли хромосом (см. выше). Экспериментальное подтверждение этих идей и окончательное формулирование хромосомной теории было сделано в первой четверти XX века основателями классической генетики, работавшими в США с

плодовой мушкой — Т. Морганом и др. На основе своих данных они сформулировали «*хромосомную теорию наследственности*», согласно которой передача наследственной информации связана с хромосомами, в которых линейно, в определенной последовательности, локализованы гены. В 1933 году за открытие роли хромосом в наследственности Т. Морган получил Нобелевскую премию по физиологии и медицине.

А теперь о составе хромосомы. **Хроматин — вещество, из которого состоят хромосомы эукариотических клеток, представляющее собой комплекс ДНК, РНК и белков. В составе хроматина происходит реализация генетической информации, репликация и репарация ДНК.**

Основную массу хроматина составляют белки *гистоны*, которые ответственны не только за ДНК, но еще и выполняют *регуляторную функцию*. Гистоны H2A, H2B, H3 и H4 образуют нуклеосомы — особые структуры шайбовидной формы высотой 6 нанометров и 11 нанометров в диаметре, участвующие в самом первом этапе *упаковки* ДНК в хромосомы. В состав нуклеосомы входит по две молекулы каждого из указанных видов гистонов (все восемь молекул — такие комплексы называют *октамерами*). Из-за того, что нуклеосомы располагаются более или менее регулярно, образующаяся структура напоминает бусы. Самый крупный из всех гистонов — гистон H1 — связывается с ДНК на участке между нуклеосомами. *Компактизация* и *декомпактизация* хроматина на уровне нуклеосомы (нуклеосомной нити) регулируется гистоном H1. При репликации — удвоении нити ДНК — нуклеосомы не распадаются, а переходят на одну из дочерних нитей [случайным образом]. Недостающие октамеры синтезируются заново. Самый первый уровень укладки хромосом — нуклеосомный — обеспечивает компактизацию ДНК в шесть-семь раз.



Нуклеосомная организация хроматина

Нить ДНК с нуклеосомами образует структуру толщиной около 30 нанометров, так называемую 30 нм фибрилу (длинное волокно). Удаление даже мельчайшей части молекул гистона Н1 приводит к распаденно фибриллы до толщины 10 нанометров, что соответствует примерной толщине нуклеосомы. Это свидетельствует о том, что гистон Н1 играет ключевую роль во взаимодействии между нуклеосомами. На уровне фибриллы 30 нанометров достигается примерно сорокакратная компактизация ДНК. На таком уровне *спирализации* существенно снижается способность ДНК связываться с белками, участвующими в транскрипции, что приводит к уменьшению генетической активности упакованных в фибрилу 30 нанометров участков.

Около 20% всех белков хроматина составляют *негистоновые* белки. Именно они имеют значение для более высоких уровней компактизации хроматина. Выявляемые на препаратах клеточного ядра шарики диаметром

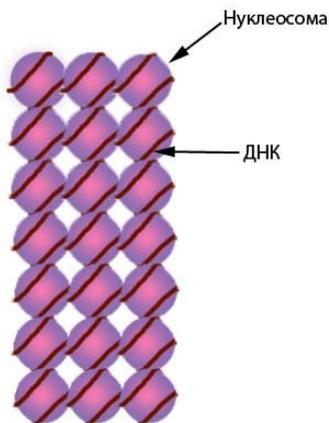


Нуклеонема

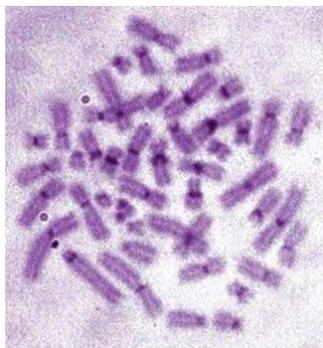
100 нанометров (хромомеры) имеют петлевою розетковидную структуру. Это третий уровень компактизации, обеспечивающий примерно 600–700-кратное укорочение ДНК.

На препаратах митотических хромосом иногда можно увидеть спираль, образованную нитчатой хроматиновой структурой толщиной около 200 нанометров — *хромонемой*. Это *четвертый уровень укладки* хроматина.

Витки хромонемы образуют хроматиду толщиной примерно 500 нанометров, что обеспечивает укорочение ДНК примерно в 10^4 раз. При окрашивании митотических хромосом ацидофильными (связывающимися с кислотами) красителями, например, *эозином* или неспецифическими к нуклеотидам флуоресцентными красителями (*флуорохромами* — веществами, способными излучать световые волны большей длины при возбуждении светом с меньшей длиной волны) выявляется практически равномерный рисунок. Такая окраска называется *рутинной*. Если перед окрашиванием митотические хромосомы обработать щелочными растворами, вымывающими ДНК из районов с низкой плотностью хроматина, можно наблюдать интенсивное окрашивание прицентромерных районов всех хромосом и практически полное интенсивное окрашивание Y-хромосомы. Такой подход называется **С-методом дифференциального окрашивания хромосом** или **С-бендингом**. С-положительные (интенсивно окрашенные при использовании этого метода) районы



Фибрилла



*Митотические хромо-
мы человека, окрашенные
по С-методу*

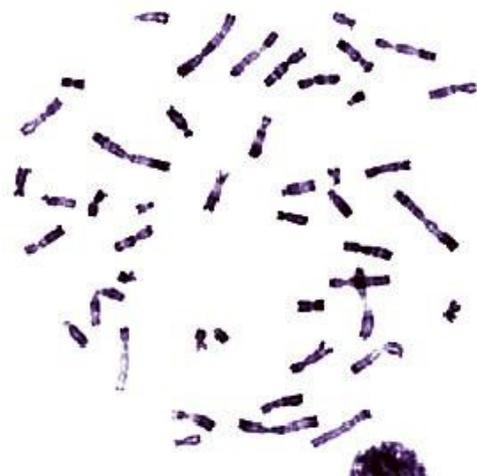
хромосом соответствуют участкам генетически инертного хроматина, или гетерохроматина. Различная степень окрашивания районов хромосом при С-окраске свидетельствует о неоднородности распределения гетерохроматина по длине хромосом.

Теперь о блочной организации: в зависимости от степени плотности упаковки фибриллы 30 нанометров различают более конденсированный хроматин — *гетерохроматин* и менее конденсированный — *эухроматин*. Гетерохроматиновые участки очень интенсивно окрашиваются при дифференциальной С-окраске хромосом из-за большей плотности и хорошо видны под микроскопами. ДНК, находящаяся в гетерохроматине, не транскрибируется и содержит большое количество повторяющихся последовательностей. На стадии интерфазы гетерохроматин часто располагается по периферии ядра (пристеночный гетерохроматин). В эухроматине ДНК упакована сравнительно неплотно. Гены, находящиеся в эухроматиновых районах, активно транскрибируются. Плотность упаковки хроматина зависит от модификаций гистонов (*метилования, ацетилирования, фосфорилирования*) — это более всего относится к гистону H1. Гетерохроматин у млекопитающих состоит преимущественно из высокоповторяющейся ДНК с высоким содержанием АТ-пар оснований. Таким образом, С-окраска позволяет выявлять наиболее различающиеся по своему составу и плотности районы хромосом. Если обработку перед окрашиванием

проводить *мягко*, можно обнаружить поперечную исчерченность митотических хромосом. Это дифференциальная G-окраска или G-бендинг. G-положительные районы соответствуют более компактизованным, менее насыщенным генами участкам хромосом, которые содержат количество АТ-пар большее, чем G-отрицательные районы. Как правило, в G-положительных районах (**G+-блоках**) находятся *тканеспецифические* и *стадиеспецифические* гены, транскрипция которых нужна не во всех клетках. В этом заключается биологическое значение блочной организации хромосом — **гены, которые одинаково нужны во всех клетках, находятся в более деконденсированных участках хромосом, где ДНК более доступна для ферментов транскрипции.** G+-блоки также могут быть выявлены при окрашивании хромосом АТ-специфическими флуорохромами (DAPI, Хехст 33258) — это дифференциальная Q-окраска или Q-бендинг. АТ-богатые G-положительные районы связывают большее количество красителя, что приводит к их более интенсивной флуоресценции. Использование этого метода позволяет идентифицировать Y-хромосому даже в интерфазе, поскольку значительная ее часть состоит из необычайно АТ-богатого гетерохроматина, который при связывании с флуорохромами дает бриллиантовое свечение.

Рисунок, обратный G-бендингу, получается при помощи R-метода дифференциального окрашивания путем тепловой денатурации. ГЦ-пары, которых больше в G-отрицательных районах хромосом, более устойчивы к этой процедуре. Подавляющее большинство G+-районов соответствует R- и наоборот. Название этого метода происходит от английского слова *reversed* — обратный. R+-районы реплицируются в первой половине фазы S клеточного цикла, а G+-

*Митотические
хромосомы чело-
века, окрашенные
по R-методу*



районы — во второй. Существуют методики выявления R-бендинга путем введения в клетки модифицированных предшественников синтеза ДНК в середине фазы S. Тогда R+-районы не будут содержать модифицированных нуклеотидов, а G+-районы — будут.

При более интенсивной тепловой обработке выявляются T-сегменты, расположенные преимущественно в прителомерных районах хромосом. Их локализация совпадает с наиболее близкими к теломере R-сегментами. Содержание генов в T+-районах больше, чем, в среднем, по длине хромосомы, и больше чем в относительно обогащенных генами R+-районах. Некоторые функциональные особенности позволяют считать T-сегменты наиболее выраженными R-сегментами. В таких районах находится особенно много генов, связанных с наиболее важными функциями жизнеобеспечения клетки — генов домашнего хозяйства и онкогенов, мутация которых может привести к злокачественным опухолям. Это определяет особое значение теломерных районов в *онкогенезе*.

Районы ядрышковых организаторов (ЯОР), содержащих гены рибосомной РНК и формирующих в интерфазе ядрышки, могут быть выявлены при помощи окраски нитратом серебра (AgNO_3). Такой тип окраски называется N-бендинг.

Для обозначения хромосомы человека используется аббревиатура HSA (от латинского видового названия Homo sapiens) и цифры, соответствующая номеру хромосомы. Например, HSA21 — хромосома 21 человека. В клинической практике обозначение HSA иногда опускают, поскольку ясно, что речь идет о человеке. Для удобства определения отдельных районов хромосом их обозначают числами. Последняя цифра числового обозначения указывает на определенный бэнд — полосу, выявляемую при дифференциальном окрашивании, первая цифра указывает на условную часть хромосомы, состоящую из нескольких бэндов. По умолчанию приводят обозначения сегментов, выявляемых G-методом. Теломеры обозначаются *ter*, длинное и короткое плечи — *q* и *p* соответственно, например:

HSA14p11 — район 11 короткого плеча хромосомы 14 человека;

HSAXqter — теломер длинного плеча X-хромосомы человека;

5pter-p11 — участок, ограниченный теломером и бэндом 11 короткого плеча хромосомы 5 (включает 5p11, 5p12, 5p13, 5p14, 5p15.1, 5p15.2 и 5p15.3).

Для повышения точности цитогенетического анализа часто используют *прометафазные* и даже *профазные* хромосомы, что позволяет увеличить число распознаваемых сегментов дифференциального окрашивания до 850 и 1700, соответственно.

Разговор о хромосомах можно продолжить, дополнив рассказ сведениями о так называемых **гибридизации *in situ*, хромосомном пейнтинге и сравнительной геномной гибридации (CGH)**.

Напомним: ДНК имеет двухнитевую структуру. Это дает возможность провести плавление (денатурацию), то есть, перевести ДНК в однонитевую форму, затем восстановить двунитевую структуру по принципу комплементарности с использованием однонитевой молекулы ДНК-зонда — иными словами, провести гибридацию двух молекул ДНК. Если молекула ДНК-зонда содержит меченые нуклеотиды, ее можно выявить при помощи одной из систем детекции гибридационного сигнала. **Гибридация нуклеиновых кислот *in situ*** (от лат. *in situ* — на месте) подразумевает проведение процедуры непосредственно на цитологическом препарате хромосом, интерфазных ядер или цитоплазмы. Изначально метод гибридации *in situ* применялся только для локализации повторяющихся последовательностей, сгруппированных в одном или нескольких районах митотических хромосом, благодаря чему они образуют относительно крупный участок связывания (мишень) для молекул зонда. В 80-х гг. прошлого века стали появляться сообщения о применении метода **гибридации *in situ*** для локализации уникальных последовательностей на митотических хромосомах с использованием статистического анализа.

Выявление уникальных последовательностей ДНК в митотических хромосомах требует соблюдения следующих условий:

— зонды должны быть надежными — четко охарактеризованными и чистыми;

— необходимы специальные приемы, облегчающие связывание молекул зонда и мишени в хромосомах;

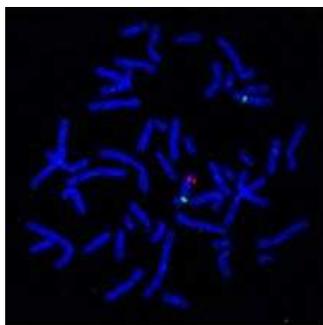
— неспецифическое связывание ДНК-зонда с цитологическим материалом должно быть сведено к абсолютному минимуму.

Выполнение первого условия в настоящее время практически не вызывает затруднений, поскольку для получения ДНК-зондов можно использовать технологию генной инженерии. Второе условие также выполнимо благодаря использованию *декстран сульфата* — агента, эффективно повышающего (примерно в десять раз) скорость ренатурации одноцепочечных молекул ДНК в растворе (это способствует образованию протяженных сотовидных конгломератов одноцепочечных молекул ДНК, связанных между собой за счет случайно расположенных двухцепочечных участков. Использование в качестве метки радиоактивных изотопов позволяет эффективно локализовать даже небольшие фрагменты ДНК — порядка 1–2 т. п. н. Основными недостатками изотопного варианта гибридизации являются относительно низкая разрешающая способность, необходимость длительной процедуры автордиографии и технические и сложности, связанные с хранением и использованием радиоактивных веществ. Негативные аспекты использования радиоактивной метки послужили стимулом для попыток найти эквивалентные по эффективности, но более безопасные, быстрые и дешевые методы. В результате были разработаны методы гибридизации с использованием нерадиоактивно меченых зондов, выявляемых посредством различных иммунохимических методов. Установлено, что новая технология гибридизации обладает рядом преимуществ, к которым относится ее полная безопасность для исследователя. Другим положительным свой-

ством нерадиоактивно меченых зондов является их химическая устойчивость в течение нескольких месяцев. Применение нерадиоактивных меток обеспечивает более высокую разрешающую способность, чем работа с изотопами, а в ряде случаев повышает уровень информативности. Неизотопная гибридизация позволяет картировать (определять местоположение на хромосоме) уникальные гены размером около 1 т. п. н. Кроме того, результаты гибридизации можно анализировать сразу после проведения эксперимента. Таким образом, преимущества нерадиоактивного мечения зондов заключаются в высокой разрешающей способности, точности, воспроизводимости, дешевизне и безопасности. Чувствительность данного метода зависит:

- от размера гена;
- количества его копий;
- специфической активности зонда;
- от количества молекул флуорохрома, присутствующих в гибриде на заключительной стадии эксперимента.

Неизотопный вариант гибридизации *in situ* позволяет использовать несколько ДНК-зондов, меченных разными агентами, на одном цитологическом

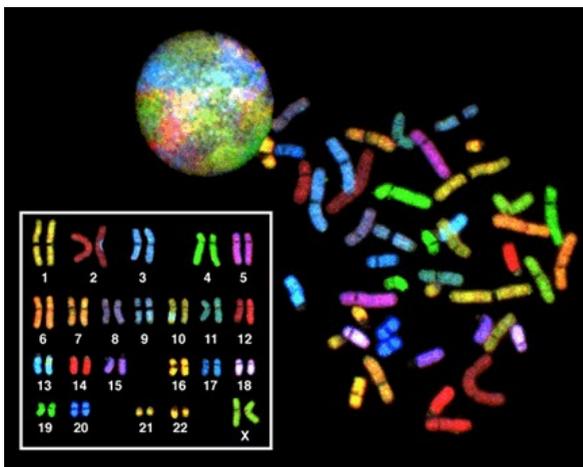


Флуоресцентная гибридизация *in situ*

препарате (многоцветная гибридизация). Такой подход используют для тонкого интерфазного картирования с разрешающей способностью до 100 т.п.н. Повышению специфичности метода служит *супрессия* (подавление) неспецифической гибридизации путем добавления в гибридную смесь небольшого количества конкурирующей

ДНК. Такая процедура необходима при использовании в качестве зондов больших геномных последовательностей ДНК.

В настоящее время наиболее часто используется **метод биотинового мечения**. Его принцип основан на сильном взаимодействии *биотина* с белком *авидином* вследствие их высокого сродства. Молекула авидина потенциально может образовать четыре химические связи, поэтому после связывания его с биотином три связи остаются свободными, что используется при детекции сигнала гибридизации. Сейчас для картирования геномов высших эукариот используют протяженные ДНК-зонды величиной 10–150 т. п. н., которые, как правило, клонируют в *космидах*³⁹ или в искусственных хромосомах дрожжей или бактерий. Применение перекрывающихся протяженных ДНК-клонов (*контигов*) позволяет связать хромосомный и молекулярный уровни картирования геномов.



Хромосомный пейнтинг

³⁹ **Космида** (cosmid) — разновидность плазмидных векторов, сконструированных с целью клонирования больших фрагментов эукариотической ДНК.

Для выявления тонких хромосомных перестроек и для быстрой идентификации хромосом применяют метод хромосомного пейнтинга — в качестве зонда для гибридизации используют последовательности из *хромосомоспецифических библиотек*. Одновременно можно использовать несколько хромосомоспецифических зондов и получить изображение, где каждая хромосома представлена своим цветом. Присутствие фрагментов другого цвета на хромосоме будет говорить о хромосомной перестройке.

Для выявления тонких хромосомных перестроек, размер которых может быть за пределом разрешающей способности микроскопа, используют **метод сравнительной геномной гибридизации** (CGH — comparative genomic hybridization). Суть метода заключается в количественной оценке ДНК, связывающейся с молекулой короткого зонда на *биочипе*. Все хромосомы и отдельные районы представлены специфическими только для них ДНК-зондами, закрепленными на стекле. Координаты каждой такой последовательности введены в специальную программу. ДНК от анализируемого индивидуума и контрольный образец метят разными флуорохромами и гибридизуют на биочипе. После отмывок сканер считывает уровень флуоресценции в отдельных точках на биочипе. Этот уровень прямо пропорционален количеству связавшейся ДНК с определенным зондом, локализация которого известна. Снижение вдвое уровня флуоресценции в местах расположения зондов из определенного района по сравнению с нормальной клеткой свидетельствует о гетерозиготности по делеции (утрате) данного района. У гомозигот по делеции флуоресценция зондов из делетированных районов отсутствует вовсе. У гетерозигот по дупликации (удвоению хромосомного района) флуоресценция зондов из дуплицированного района

в полтора раза выше, чем у кариотипически нормальных индивидуумов.

Итак, резюмируем наш непростой материал:

— **хромосома — постоянный компонент ядра, отличающийся особой структурой, индивидуальностью, функцией и способностью к самовоспроизведению, что обеспечивает их преемственность, а тем самым и передачу наследственной информации от одного поколения растительных и животных организмов к другому.**

Размеры хромосом у разных организмов варьируют в широких пределах. Длина хромосом может колебаться от 0,2 до 50 мкм. Число хромосом у различных объектов также значительно колеблется, но характерно для каждого вида животных или растений. Совокупность числа, величины и морфологии хромосом называется кариотипом данного вида.

Хромосомы животных и растений представляют собой палочковидные структуры разной длины с довольно постоянной толщиной, у большей части хромосом удается легко найти зону первичной перетяжки, которая делит хромосому на два плеча. В области первичной перетяжки находится центромера, где расположен *кинетохоф*. Некоторые хромосомы имеют вторичную перетяжку.

В конце интерфазы каждая хромосома состоит из двух сестринских *хроматид*. Каждая из них, в свою очередь, состоит из двух половинок — полухроматид или хромоном. Хромономы содержат уплотненные участки — хромомеры, которые в световом микроскопе имеют вид темноокрашенных гранул. Их число, положение и величина в обеих хроматидах одинаковы и для каждой хромосомы, в основном, постоянны. Расстояния между хромомерами называются *межхромомерными участками*.

Когда говорят о морфологии хромосом, то принимают во внимание следующие признаки: *длину плеч, положение центромеры, наличие вторичной перетяжки или спутника*. Спутники разных хромосом отличаются по форме, величине и длине нити, соединяющей их с основным телом.

Спутник — это хромосомный сегмент, чаще всего гетерохроматический, расположенный дистально от вторичной перетяжки. По классическим определениям спутник — *сферическое тельце с диаметром, равным диаметру хромосомы или меньше его, которое связано с хромосомой тонкой нитью*.

Выделяют следующие типы спутников:

— **микроспутники** — сфероидальной формы, маленькие спутники с диаметром в два или еще меньше диаметра хромосомы;

— **макроспутники** — довольно крупные формы спутников с диаметром, превышающим половину диаметра хромосомы;

— **линейные спутники** — спутники, имеющие форму длинного хромосомного сегмента. Вторичная перетяжка значительно удалена от терминального конца;

— **терминальные спутники** — спутники, локализованные на конце хромосомы;

— **интеркалярные спутники** — спутники, локализованные между двумя вторичными перетяжками.

Различают четыре типа строения хромосом:

➤ **телоцентрические** (палочковидные хромосомы с центромерой, расположенной на проксимальном конце);

➤ **акроцентрические** (палочковидные хромосомы с очень коротким, почти незаметным вторым плечом);

➤ **субметацентрические** (с плечами неравной длины, напоминающие по форме букву L);

➤ **метацентрические** (V-образные хромосомы, обладающие плечами равной длины).

Тип хромосом является постоянным для каждой гомологичной хромосомы и может быть постоянным у всех представителей одного вида или рода.

Зоны ядрышка (организаторы ядрышка) — специальные участки, с которыми связано появление некоторых вторичных перетяжек.

Хромонема — это спиральная структура, которую удается увидеть в декомпактизованных хромосомах через электронный микроскоп. Впервые наблюдалась О. В. Баранецким⁴⁰ в 1880 году в хромосомах клеток пыльников традесканции. Хромонема может состоять из двух, четырех и более нитей, в зависимости от исследуемого объекта. Эти нити образуют спирали двух типов:

— **паранемическую** (элементы спирали легко разъединить);

— **плектонемическую** (нити плотно переплетаются).

Нарушение структуры хромосом происходит в результате спонтанных или спровоцированных изменений (например, после облучения). Отметим:

генные (точковые) мутации (изменения на молекулярном уровне);



*Осип Васильевич
Баранецкий*

⁴⁰ **Осип (Иосиф) Васильевич Баранецкий** (1843–1905) — ботаник, профессор ботаники в Киевском университете. Член-корреспондент Петербургской академии наук (с 1897 года). Основные труды посвящены осмотическим явлениям и гутации у растений, проблемам фотосинтеза. Доказал симбиотическую природу лишайников

абберации (микроскопические изменения, различимые при помощи светового микроскопа) — *делеции, дубликации, транслокации, инверсии*.

И еще — *гигантские хромосомы!* Такие хромосомы, для которых характерны огромные размеры, можно наблюдать в некоторых клетках на определенных стадиях клеточного цикла. Например, они обнаруживаются в клетках некоторых тканей личинок двукрылых насекомых (политенные хромосомы) и в ооцитах различных позвоночных и беспозвоночных (хромосомы типа ламповых щеток). Именно на препаратах гигантских хромосом удалось выявить признаки активности генов. Уточняем:

политенные хромосомы — впервые обнаружены в 1881 году, однако их цитогенетическая роль была выявлена значительно позднее. Содержатся в клетках слюнных желез, кишечника, трахей, жирового тела и мальпигиевых сосудов личинок двукрылых;

хромосомы типа ламповых щеток — особая форма хромосом, которую они приобретают у многих животных в ходе оогенеза (развития женских половых клеток). Впервые обнаружены Флеммингом в 1882 году; само название «хромосомы типа ламповых щеток» было предложено в 1892 году. По длине они превышают политенные хромосомы, наблюдаются в ооцитах на стадии диплотены первой профазы мейоза, во время которой процессы синтеза, приводящие к образованию желтка, наиболее интенсивны. Общая длина хромосомного набора в ооцитах некоторых хвостатых амфибий достигает 5900 мкм;

бактериальные хромосомы — *прокариоты* (археи и бактерии, в том числе митохондрии и пластиды, постоянно обитающие в клетках большинства эукариот) не имеют хромосом в собственном смысле этого слова. У большинства из них в клетке имеется только одна

макромолекула ДНК, замкнутая в кольцо (эта структура получила название нуклеоид). У ряда бактерий обнаружены линейные (не замкнутые в кольцо) макромолекулы ДНК. Помимо нуклеоида или линейных макромолекул, ДНК может присутствовать в цитоплазме прокариотных клеток в виде небольших замкнутых в кольцо молекул ДНК, так называемых плазмид, содержащих обычно незначительное, по сравнению с бактериальной хромосомой, число генов. Состав плазмид может быть непостоянен, бактерии могут обмениваться плазмидами в ходе парасексуального процесса;

хромосомы человека — в каждой ядросодержащей соматической клетке человека содержится 23 пары линейных хромосом, а также многочисленные копии митохондриальной ДНК. В таблице 1 показано число генов и оснований в хромосомах человека.

Таблица 1

Число генов и оснований в человеческой хромосоме

Хромосома	Количество генов	Всего оснований	Секвенированных оснований
1	4 234	247 199 719	224 999 719
2	1 491	242 751 149	237 712 649
3	1 550	199 446 827	194 704 827
4	446	191 263 063	187 297 063
5	609	180 837 866	177 702 766
6	2 281	170 896 993	167 273 993
7	2 135	158 821 424	154 952 424
8	1 106	146 274 826	142 612 826

9	1 920	140 442 298	120 312 298
10	1 793	135 374 737	131 624 737
11	379	134 452 384	131 130 853
12	1 430	132 289 534	130 303 534
13	924	114 127 980	95 559 980
14	1 347	106 360 585	88 290 585
15	921	100 338 915	81 341 915
16	909	88 822 254	78 884 754
17	1 672	78 654 742	77 800 220
18	519	76 117 153	74 656 155
19	1 555	63 806 651	55 785 651
20	1 008	62 435 965	59 505 254
21	578	46 944 323	34 171 998
22	1 092	49 528 953	34 893 953
X-хромосома	1 846	154 913 754	151 058 754
Y-хромосома	86	57 741 652	25 121 652
Всего	32 185	3 079 843 747	2 857 698 560

Вторичная перетяжка, соединяющая спутник с телом хромосомы, способна к участию в процессе формирования и сборки ядрышек. Такая вторичная перетяжка поэтому называется еще **ядрышковым организатором**.

Спутник вместе с вторичной перетяжкой составляют спутничный район. Вторичные перетяжки

могут быть у одних хромосом на длинном плече, у других — на коротком. Концевые участки хромосомы называют теломерами. Особенность их состоит в том, что они не способны к соединению с другими участками хромосом.

Нормальная длина каждой хромосомы и суммарная длина всех хромосом кариотипа постоянна. Морфология хромосомы определяется в первую очередь положением центромеры. В соответствии с местом расположения центромеры выделяют основные формы хромосом: метацентрические, субметацентрические, акроцентрические и изохромосомы:

— **метацентрические хромосомы** отличаются тем что плечи у них одинаковой или почти одинаковой длины;

— **субметацентрические хромосомы** имеют плечи разной длины;

— у **acroцентрических хромосом** центромера расположена к близко к одной из теломер;

— **изохромосомы** — моноцентрические хромосомы с двумя генетически идентичными плечами, появляющиеся как результат неправильного деления центромеры после разрыва и воссоединения сестринских хроматид в области центромеры. Изохромосома имеет одинаковые плечи в результате деления центромеры по горизонтали. Дицентрические и ацентрические изохромосомы образуются после разрыва сестринских хроматид вне центромерной области и воссоединения их в центрические и ацентрический фрагменты.

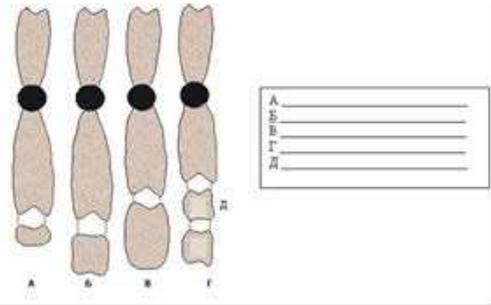
Хроматин — основной компонент клеточного ядра. В среднем в хроматине 40% приходится на ДНК и около 60% на белки. В структурном отношении хроматин представляет собой нитчатые комплексные молекулы дезоксирибонуклеопротеида, которые состоят из ДНК, ассоциированной с гистонами и иногда еще с

негистоновыми белками. Способность к дифференциальному окрашиванию легла в основу выявления двух фракций хроматина — гетеро — и эухроматина. Обнаружено, что определенные участки хромосом остаются в конденсированном состоянии в течении всего клеточного цикла — их называют **гетерохроматин**, а участки, деконденсирующиеся в конце митоза и слабо окрашенные — **эухроматином**. Гетерохроматиновые участки функционально менее активны, чем эухроматиновые, в которых и локализована большая часть известных генов. Однако, гетерохроматин имеет определенное генетическое влияние — определяющие пол хромосомы не могут рассматриваться как генетически неактивные, хотя они часто полностью состоят из гетерохроматина. Кроме того, установлено, что стабильность генетического выражения эухроматина обуславливается близостью к гетерохроматину.

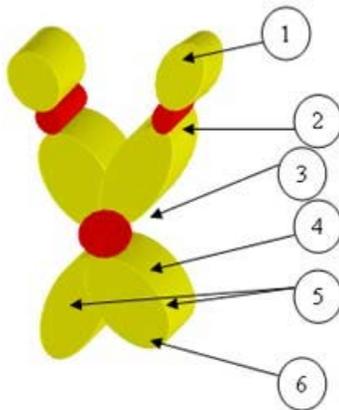
Вопросы и задания по материалам Темы 8

1. Перечислите основные функции хромосомы.
2. Какие части хромосомы Вы знаете и расскажите о их значении
3. Что такое спутник и как называются такие хромосомы?
4. Что такое теломера и где она находится?
5. Дайте определение гистонов, перечислите их функции.
6. Напишите, как называются хромосомы, имеющие следующие соотношения плеч:
Соотношение плеч 1:1
Соотношение плеч 1:2
Соотношение плеч 1:3
Соотношение плеч 1:0
7. Запишите, какие хромосомы относятся к моноцентрическим. Какие еще хромосомы вам известны?

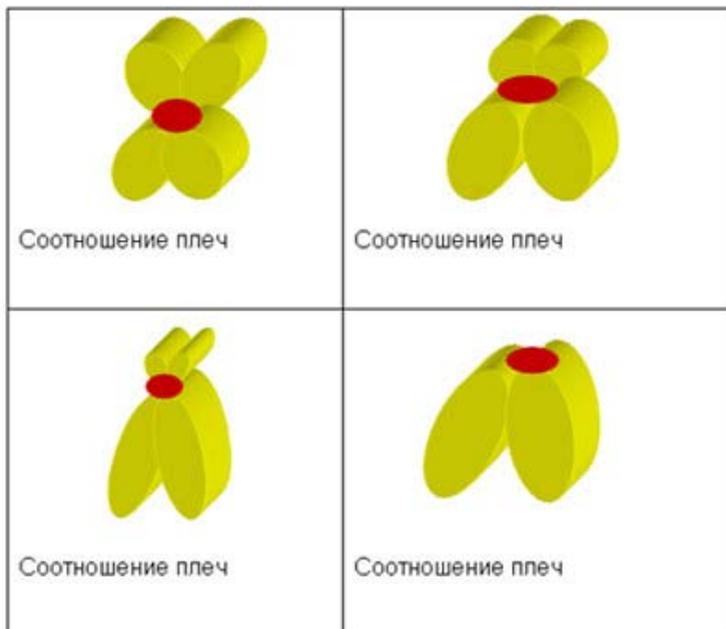
8. В чем различие между гетеро- и эухроматином?
9. Подпишите названия спутников хромосом:



10. Подпишите рисунок, указав все части хромосомы:



11. Подпишите типы хромосом и укажите соотношение плеч:



Тема 9. Нуклеиновые кислоты

Структура ДНК и РНК.

Репликация ДНК.

Транскрипция.

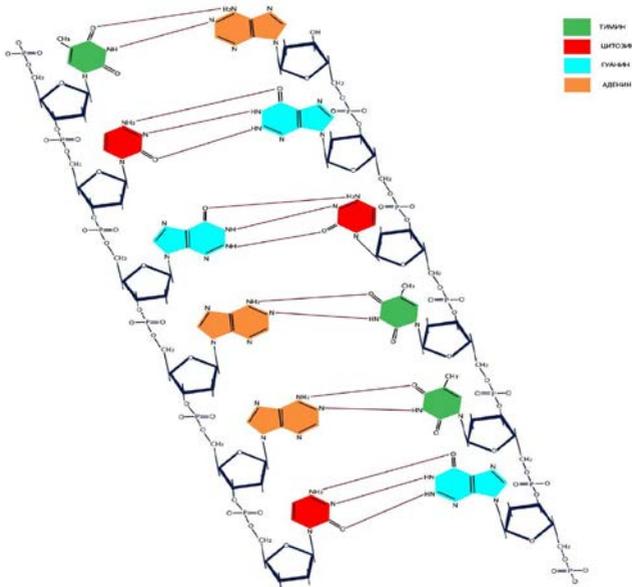
Процессинг РНК.

Трансляция и рекомбинация.

Репарация.

Нуклеиновые кислоты — полимерные (состоящие из повторяющихся единиц) химические вещества, содержащие информацию о структуре белковых молекул (кодирующие последовательности ДНК и матричная РНК), управлении их синтезом (регуляторные последовательности ДНК и сигнальные последовательности РНК) или выполняющие самостоятельные функции, так или иначе связанные с передачей наследственной информации (рибосомная РНК, транспортная РНК, малая ядерная РНК, малая интерферирующая РНК).

ДНК и РНК состоят из *нуклеотидов* — фосфорных эфиров нуклеозидов (связанных с сахаром — *дезоксирибозой* или *рибозой* азотистых оснований) *аденозина* (А), *гуанидина* (Г), *тимидина* (Т), *уридина* (У) и *цитидина* (Ц). Азотистые основания — гетероциклические органические соединения, производные пурина — аденин и гуанин, или пиримидина — тимин, урацил, цитозин. Комплементарность (образование связей между взаимодополняющими фрагментами молекул) пар АТ (АУ) и ГЦ обеспечивается наличием двух или трех водородных связей соответственно. В одной цепи нуклеотиды связаны путем образования 5'–3' сахарофосфатной *ковалентной связи*. При этом комплементарные цепи ориентированы в противоположных направлениях одна 5'→3', а другая — 3'→5' (они *антипараллельны*).



Первичная структура ДНК

У всех живых существ, кроме некоторых вирусов, молекула ДНК имеет спиральную вторичную структуру, в которой азотистые основания находятся внутри, а сахарофосфатный остов — снаружи.

Из принципа комплементарности (возможности образования пар аденина с тимином / урацилом и гуанина с цитозином) следует **правило Чаргаффа** (одно из правил):

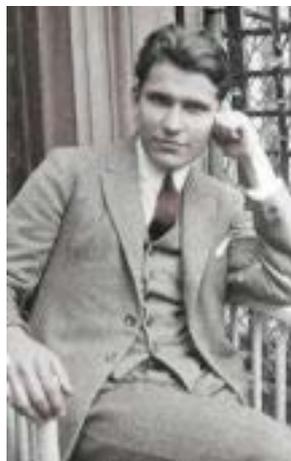
- количество аденина равно количеству тимина, а количество гуанина — количеству цитозина: $A=T$, $G=C$;
- количество пуринов равно количеству пиримидинов: $A+G=T+C$;

• количество оснований с шестью аминогруппами равно количеству оснований с шестью кетогруппами: $A+Ц=G+Т$.

Соотношения АТ- и ГЦ- могут быть различны в разных районах хромосом. Например, у млекопитающих G+-районы преобладают АТ-пары, а в R+-районах — ГЦ.

Правила Чаргаффа — система эмпирически выявленных правил, описывающих количественные соотношения между различными типами азотистых оснований в ДНК. Были сформулированы в результате работы группы биохимика Эрвина Чаргаффа в 1949–1951 гг.

До работ группы Чаргаффа господствовала так называемая «тетрануклеотидная» теория, согласно которой ДНК состоит из повторяющихся блоков по четыре разных азотистых основания (аденин, тимин, гуанин и цитозин). Чаргаффу и сотрудникам удалось разделить нуклеотиды ДНК при помощи бумажной хроматографии и определить точные количественные соотношения нуклеотидов разных типов. Они значительно отличались от эквимольных, которых можно было бы ожидать, если бы все четыре основания были представлены в равных пропорциях.



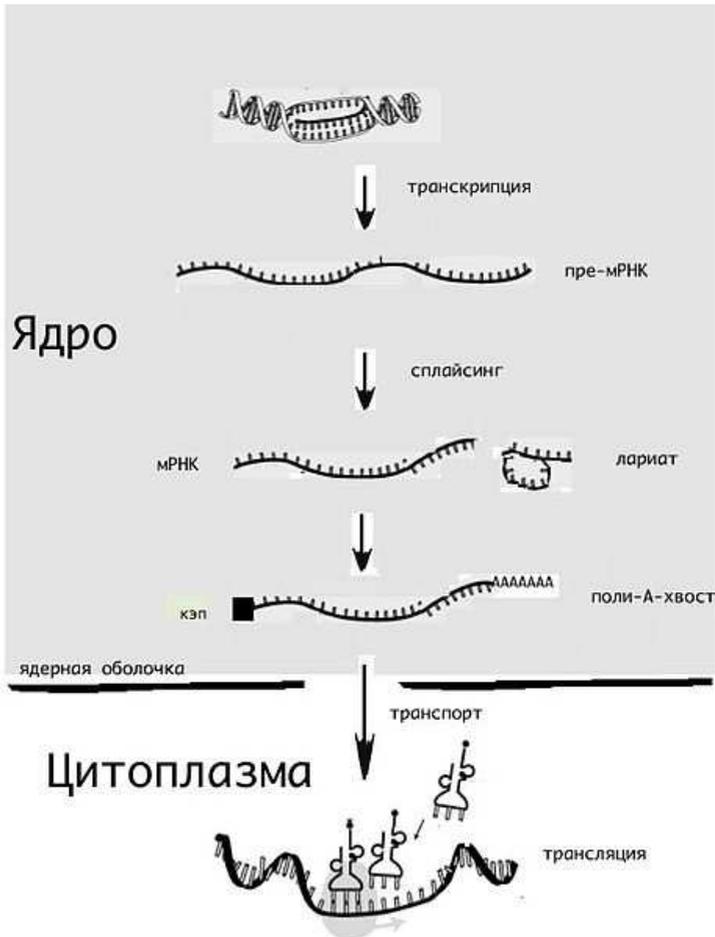
Эрвин Чаргафф

Интересно, что основная «молекула жизни» — ДНК — сама по себе мертва и оживляется только в процессах репликации и транскрипции при помощи особых ферментов — полимераз, которые обеспечивают ее копирование и прочтение.

А теперь о РНК.

Существует несколько типов РНК, имеющих различную вторичную и третичную структуры. Наибольшее биологическое значение имеют **матричная (информационная) РНК (мРНК)**, **транспортная РНК**

(тРНК), рибосомная РНК (рРНК), малая ядерная РНК (мяРНК) и малая интерферирующая РНК.

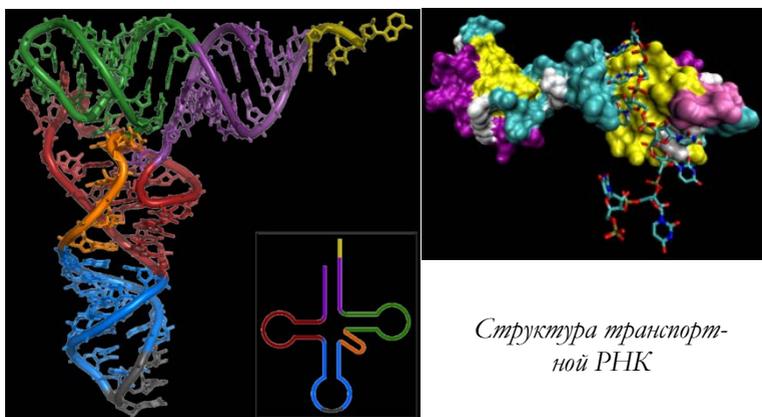


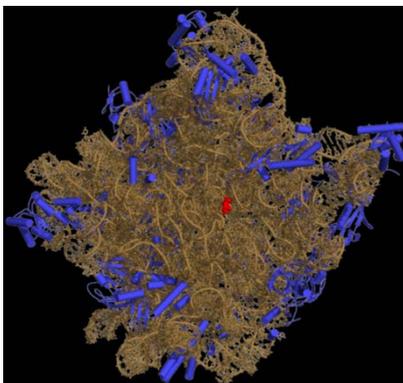
Основные этапы жизненного цикла мРНК эукариот

Матричная РНК (мРНК) комплементарна кодирующим последовательностям ДНК и содержит информацию об аминокислотной последовательности своего белкового продукта. Считывание мРНК происходит в

процессе трансляции — синтеза белка на основе мРНК. Каждой из 20 канонических (универсальных для живых организмов) аминокислот соответствует набор из трех *триплет-нуклеотидов* — *кодон*. Одной аминокислоте может соответствовать два или несколько кодонов — в этом заключается вырожденность генетического кода. Три кодона не кодируют аминокислот, поэтому синтез белка на них останавливается. Это стоп-кодона или нонсенс-кодона: УАГ (амбер), УГА (опал) и УАА (охра). Кроме содержащей кодона (транслируемой) области, зрелая мРНК содержит нетранслируемые области, которые регулируют стабильность молекулы и интенсивность считывания. Молекулы мРНК иногда имеют двуцепочечные участки — шпильки и псевдоузлы, — которые могут участвовать в регуляции трансляции.

Транспортная РНК (тРНК) имеет вторичную структуру, напоминающую лист клевера. На центральной петле находится антикодон — триплет, комплементарный кодону соответствующей данной молекуле тРНК аминокислоты. К противоположному концу молекулы тРНК прикрепляется аминокислота.





Большая рибосомная субчастица 50S.

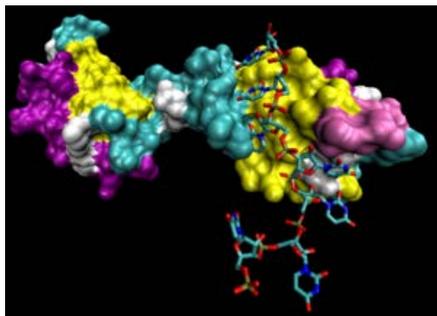
Рибосомная РНК (рРНК) входит в состав рибосом и выполняет каталитическую функцию при образовании *пептидных связей* между аминокислотными остатками в процессе трансляции. Малая частица рибосомы эукариот представляет собой рибонуклеопротеиновый комплекс на основе субъединицы

РНК с константой *седиментации* (скорости осаждения при центрифугировании) 40S (S — единица Сведборга), которая состоит из молекул 18S РНК. Основой большой частицы рибосомы является субъединица 60S, которая состоит из трех молекул рРНК — 28S, 5,8S и 5S. Рибосомная РНК составляет около 70% от общего количества РНК в клетке. Митохондрии имеют свои особые рибосомы, состоящие из 50S и 30S субъединиц (подобно бактериальным рибосомам).

Малая ядерная РНК (мяРНК) представлена молекулами с большим содержанием *уридина* длиной 100–300 нуклеотидов, которые входят в состав мелких рибонуклеопротеиновых гранул ядра. Функция этого типа РНК заключается в участии в созревании молекул мРНК.

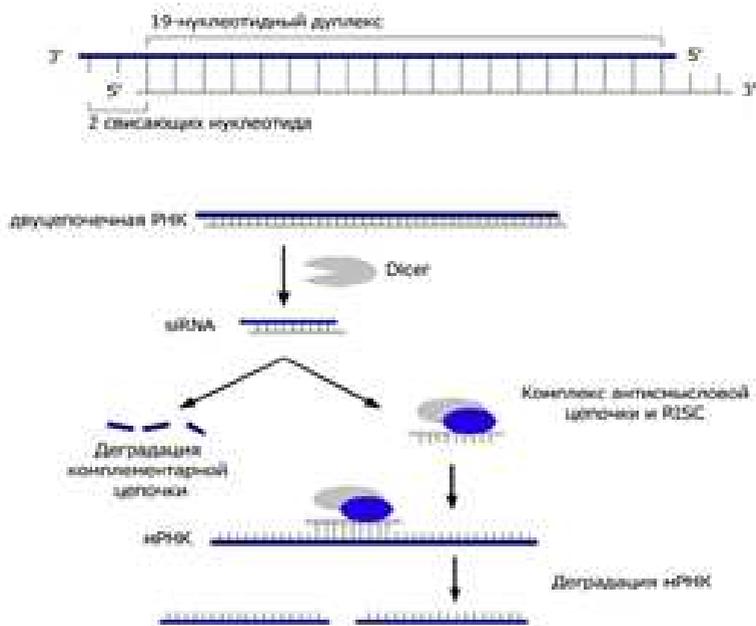
Малая интерферирующая РНК представлена короткими (20–25 нуклеотидов) двуцепочечными молекулами, которые, связываясь с отдельными мРНК по принципу комплементарности, могут подавлять синтез определенных белков и приводить соответствующую молекулу мРНК к деградации. В этом заключается

явление РНК-интерференции. Особое значение этот тип РНК имеет в онтогенезе — индивидуальном развитии организмов.



Малая ядерная РНК (мяРНК)

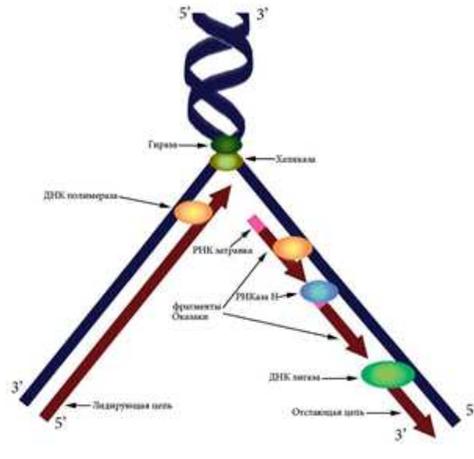
А теперь о репликации ДНК. Репликация ДНК — это процесс удвоения молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты с образованием идентичных дочерних молекул. У человека репликация происходит в фазе S клеточного цикла.



Синтез малых интерферирующих РНК

Репликацию ДНК осуществляет фермент ДНК-полимераза. Для протекания процесса репликации необходимо расплести двойную спираль ДНК, вращать макромолекулу и удерживать ее в расплетенном состоянии. Эти функции выполняют *гираза* (расплетение спирали), *хеликаза* (разделение нитей), и *ДНК-связывающие белки* (удержание). Точность репликации обеспечивается принципом комплементарности пар оснований и свойствами ДНК-полимеразы, благодаря которым этот фермент способен распознать и исправить ошибку. У эукариотических организмов в процессе репликации принимают участие несколько типов ДНК-полимераз. После удвоения происходит суперспирализация синтезированных молекул и дальнейшая компактизация ДНК. Процесс репликации требует затрат энергии.

В свое время мы знали три модели механизма репликации ДНК. Согласно **консервативному механизму** в результате репликации одна молекула ДНК



Репликационная вилка

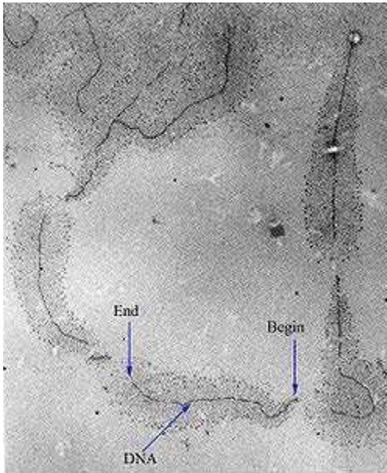
состоит только из родительских цепей, а другая — только из дочерних цепей. **Дисперсионная модель** предполагала, что все получившиеся в результате репликации молекулы ДНК состоят из цепей, одни участки которых вновь синтезированы, а другие взяты из

родительской молекулы ДНК. **Полуконсервативный механизм** репликации заключается в том, что каждая молекула ДНК состоит из одной цепи исходной родительской молекулы и одной вновь синтезированной цепи. Полуконсервативный механизм был доказан в 1958 г. Поскольку ДНК-полимераза не умеет начинать синтез новой нити на одонитевой матрице, а может только прикреплять новые нуклеотиды к уже имеющейся цепи, инициация репликации происходит путем образования небольшого участка ДНК-РНК при помощи фермента ДНК-праймазы. К 3'-концу РНК-затравки ДНК-полимераза добавляет новые нуклеотиды, а РНКаза II потом разрушает РНК в гибридных участках. Лигаза сшивает синтезированные фрагменты ДНК.

ДНК-полимераза может вести синтез только в направлении $5' \rightarrow 3'$, то есть присоединять новый нуклеотид к 3'-концу уже синтезированной части. Двунитевая структура ДНК предполагает необходимость синтеза в двух направлениях $5' \rightarrow 3'$ и $3' \rightarrow 5'$. Эта задача решается путем образования Y-образной структуры — *репликационной вилки*. При этом цепь $3' \rightarrow 5'$ является лидирующей — синтез на ней идет непрерывно, а цепь $5' \rightarrow 3'$ — отстающей, поскольку на ней синтез идет в отдельных участках — *фрагментах Оказаки*, каждый из которых начинается с новой РНК-затравки.

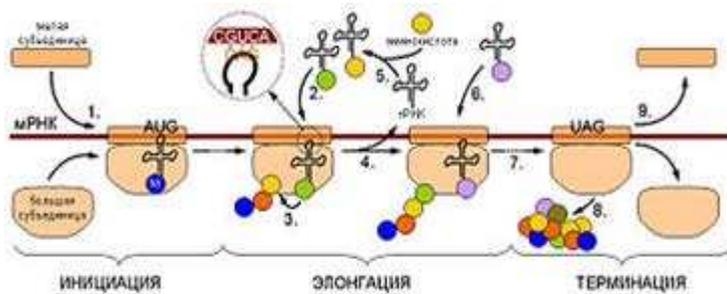
Теперь о транскрипции. **Транскрипцией называется синтез мРНК на матрице ДНК.** Процесс синтеза РНК протекает в направлении от 5'- к 3'- концу — по матричной цепи ДНК — ДНК-зависимая РНК-полимераза — фермент, осуществляющий транскрипцию, — движется в направлении $3' \rightarrow 5'$, прикрепляя новый *рибонуклеозидтрифосфат* к 3'-концу уже синтезированной молекулы РНК. **Инициация транскрипции** — сложный процесс, зависящий от последова-

тельности ДНК, находящейся вблизи транскрибируемой последовательности — *промотора* и от более удаленных от точки начала синтеза участков генома — *энхансеров* (активирующих транскрипцию) и *сайленсеров* (дезактивирующих транскрипцию). Во всех этих участках есть сайты связывания транскрипционных факторов — белков, регулирующих процесс транскрипции и входящих в состав транскрипционного комплекса. При переходе транскрипции от инициации к следующей стадии — *элонгации* — происходит диссоциация связей между РНК-полимеразой, промотором и факторами инициации транскрипции. В период элонгации в ДНК расплетено примерно 18 пар нуклеотидов. Примерно 12 нуклеотидов матричной нити ДНК образует гибридную спираль с растущей цепью РНК. По мере движения РНК-полимеразы по матрице впереди нее происходит расплетание двухцепочечной молекулы ДНК, а позади фермента двойная спираль ДНК восстанавливается. В этот момент из комплекса освобождается очередное звено растущей цепи РНК с матрицей



Транскрипция

и РНК-полимеразой. Все эти перемещения подразумевают относительное вращение РНК-полимеразы и ДНК. Поэтому, чтобы убрать такое вращение, движущуюся по ДНК РНК-полимеразу сопровождают *топоизомеразы*. На стадии элонгации в процессе транскрипции немаловажную роль играют также основные



Трансляция

элонгирующие факторы, которые необходимы для предотвращения преждевременной терминации матричного процесса. Следующая фаза процесса транскрипции называется *терминацией*. В этот момент растущий транскрипт освобождается и происходит диссоциация РНК-полимеразы и ДНК-матрицы. После завершения стадии терминации транскрипции происходит разрезание РНК, а затем к ее 3'-концу с помощью фермента полиА-полимеразы добавляется 100–200 оснований аденина, которые оказывают влияние на стабильность полученного транскрипта.

Созревание мРНК называется **процессингом**. Биологическое значение процессинга в эукариотической клетке заключается в возможности получения различных комбинаций *экзонов* гена, а значит, получения большего разнообразия белков, кодируемых одной нуклеотидной последовательностью ДНК. Кроме того, модификация 3'- и 5'-концов мРНК служит для регуляции ее экспорта из ядра, поддержания стабильности в цитоплазме и для улучшения взаимодействия с рибосомами. Еще до завершения транскрипции происходит *полиаденилирование* 3'-конца (разд. 6.3). К 5'-концу мРНК посредством трифосфатного моста присоединяется 7-метилгуанозин, соединяющийся в необычной пози-

ции 5'→5', и происходит *метилование рибоз* двух первых нуклеотидов. Этот процесс называется *эпифорацией*.

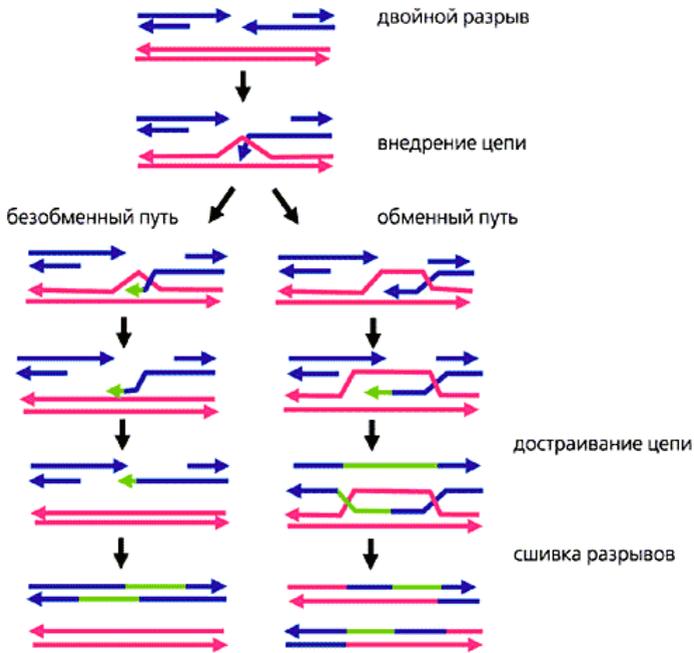
Процесс вырезания определенных нуклеотидных последовательностей из молекул РНК и соединения последовательностей, сохраняющихся в «зрелой» молекуле, в ходе процессинга РНК, называется **сплайсингом**. В ходе сплайсинга из мРНК участки, не кодирующие белок (*интроны*), удаляются, а *экзоны* — участки, кодирующие аминокислотную последовательность, соединяются друг с другом, и незрелая пре-мРНК превращается в зрелую мРНК, с которой синтезируются (транслируются) белки клетки. Для сплайсинга необходимо наличие специальных 3'- и 5'- последовательностей. Сплайсинг катализируется состоящим из РНК и белков большим комплексом, который называется *сплайсосомой*. Сплайсосома включает пять малых ядерных рибонуклеопротеидов (мяРНП) — U1, U2, U4, U5 и U6. РНК, входящая в состав мяРНП, взаимодействует с интроном и, возможно, участвует в катализе. Она принимает участие в сплайсинге интронов, содержащих в 5' сайте ГУ, и АГ в 3' сплайсинг-сайте. Иногда мРНК в процессе созревания могут подвергаться *альтернативному сплайсингу*, который заключается в том, что имеющиеся в составе пре-мРНК интроны вырезаются в разных альтернативных комбинациях, при которых вырезаются и некоторые экзоны. Некоторые из продуктов альтернативного сплайсинга пре-мРНК нефункциональны, как например, при определении пола у плодовой мушки дрозофилы, однако часто в результате альтернативного сплайсинга пре-мРНК одного гена образуются многочисленные мРНК и их белковые продукты. Сегодня нам известно, что **у человека 94% генов подвержено альтернативному сплайсингу (остальные 6% генов не содержат интронов)**. *Альтернативный сплайсинг у многоклеточных эукариот является*

ключевым механизмом увеличения разнообразия белков, не создавая избыточных копий гена, а также позволяет осуществлять тканеспецифическую и стадийспецифическую регуляцию экспрессии (проявления) генов.

Синтез белковых молекул из аминокислот на матрице мРНК при участии рибосом и тРНК называется **трансляцией**. Процесс происходит в цитоплазме на полисомах — комплексах, состоящих из мРНК и многих рибосом с прикрепленными молекулами тРНК. **Процесс состоит из инициации (узнавания рибосомой стартового кодона и начала синтеза), элонгации (синтеза белка) и терминации (узнавания стоп-кодона и отделения белкового продукта).**

Поскольку каждый кодон состоит из трех нуклеотидов, каждая последовательность может быть прочитана тройко — начиная с первого, второго либо третьего нуклеотида, иными словами, имеется три возможных рамки считывания. Стартовым кодоном почти всегда является АУГ. Рамки считывания, начинающиеся с этого кодона, называются открытыми. Для инициации рибосома сканирует мРНК, пока не найдет кодон АУГ. Обычно она воспринимает только те стартовые кодоны, которые находятся вблизи 5'-кэпа. Специальные белки — факторы инициации трансляции — участвуют в узнавании стартового кодона и присоединении инициаторной тРНК, содержащей антикодон УАЦ, соответствующий аминокислоте метионин. К этой тРНК метионин присоединен при помощи фермента аминоацил-тРНК-синтетазы. Вначале малая частица рибосомы (сама или в комплексе с тРНК) садится на мРНК, а затем к ней присоединяется большая частица, и происходит отсоединение факторов инициации трансляции. Собранный рибосома начинает элонгировать цепь. В ходе элонгации один белковый фактор переносит тРНК в аминоацильный центр рибосомы

(А-центр), а после формирования пептидной связи в пептидном центре (П-центре) второй фактор элонгации катализирует смещение рибосомы на один триплет. Когда рибосома доходит до одного из нонсенс-кодонов — УАГ (амбер), УГА (опал) или УАА (охра) — подходящей тРНК не обретаётся, и новая пептидная связь не образуется. Под действием специальных белковых факторов происходит отделение рибосомы от мРНК и освобождение готовой белковой молекулы.



Молекулярные механизмы тонкого опознавания и рекомбинации гомологичных хромосом.

Красным обозначена ДНК материнской хромосомы, синим — отцовской, зеленым — ДНК, достроенная в ходе репарации разрывов

Генетическая рекомбинация — процесс, при котором происходит разрыв молекулы нуклеиновой кислоты (обычно ДНК, но возможно и РНК) и соединение с другой молекулой ДНК. Рекомбинация может происходить как между сходными молекулами ДНК — *гомологичная рекомбинация*, так и между различающимися — *негомологичная рекомбинация*. У эукариот рекомбинация происходит в процессе мейоза в ходе кроссинговера и иногда в соматических клетках. *Процесс кроссинговера приводит к появлению потомков с комбинациями генов, отличными от родительских, и появлению новых химерных аллелей.* У организмов, имеющих адаптивную иммунную систему, имеется особая система рекомбинации, благодаря которой быстро образуется большое разнообразие *лимфоцитов*, способных узнавать новые *антигены*. В генной инженерии под рекомбинантной ДНК понимают молекулы, полученные в результате искусственно осуществленной рекомбинации молекул ДНК, часто принадлежащих разным видам. Лучшим примером такого подхода является получение *рекомбинантных белков*, нашедших свое применение в фармакологии и медицине. Этот метод очень важен для биомедицинских исследований, поскольку позволяет изучать эффекты определенных генов. В процессе рекомбинации задействовано множество различных ферментов, называемых *рекомбиназами*. В мейозе, в процессе кроссинговера, происходит рекомбинация между спаренными гомологичными хромосомами, унаследованными от каждого из родителей. В ходе профазы I все четыре хроматиды расположены достаточно близко друг от друга, и две хроматиды могут перекрещиваться одна с другой, и в этот момент может происходить обмен генетической информацией в гомологичных сайтах.

Репарация — исправление повреждений в молекулах ДНК, возникших из-за ошибок ДНК-полимеразы в процессе репликации или вследствие воздействия физических или химических агентов. Процессы репарации осуществляются специальными ферментными системами клетки.



Поврежденные хромосомы

Дефекты ферментов систем репарации приводят к развитию ряда наследственных заболеваний, таких как пигментная ксеродерма. Имеется по крайней мере две ферментные системы репарации — *прямая* и *эксцизионная*.

— при *прямой репарации* задействованы специфические ферменты, быстро (обычно в одну стадию) устраняющие соответствующее повреждение, восстанавливая исходную структуру нуклеотидов. Это наиболее простой путь устранения повреждений ДНК. Так действует, например, Об-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза, которая переносит метильную группу с азотистого основания на один из собственных остатков цистеина;

— *эксцизионная репарация* заключается в удалении (*эксцизии*) поврежденных азотистых оснований из ДНК с последующим восстановлением нормальной структуры молекулы.

Сами системы репарации включают следующие компоненты:

— фермент, способный узнавать измененные участки в цепи ДНК и делать надрез цепи вблизи повреждения;

— фермент, удаляющий поврежденный участок;

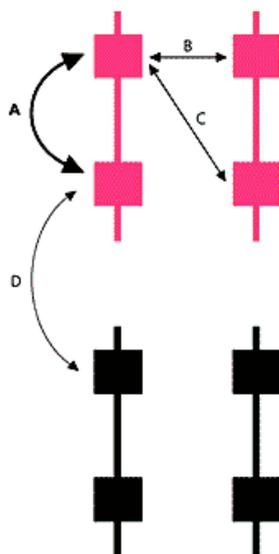
— фермент (ДНК-полимераза), синтезирующий соответствующий участок цепи ДНК взамен удаленного;

— фермент (ДНК-лигаза), восстанавливающий непрерывность полимерной цепи.

Добавим: существует и рекомбинационная репарация.

Генная конверсия — процесс, при котором информация последовательности

ДНК передается (переносится) с одной нити ДНК, которая остается неизменной, на другую нить ДНК, последовательность которой изменяется. Это один из механизмов генных мутаций. Генная конверсия может быть причиной неменделевского наследования. Такая конверсия одной аллели в другую происходит по причине репарации неправильно спаренных оснований в ходе рекомбинации. При конъюгации одной из четырех нитей с другой из гомологичной хромосомы репарация неправильно спаренных оснований может пройти по матрице другой хромосомы, что приводит к замене аллеля. В норме диплоидный организм несет по одному аллелю от каждого из родителей (соотношение гамет в мейозе 1A:1a у гетерозиготы). При конверсии это соотношение изменяется (3A:1a, 1A:3a, 5A:3a или 3A:5a).



Генная конверсия

Генные конверсии могут быть причиной наследственных заболеваний.

Полагаем, что следует еще сказать и о подвижных элементах генома, и о генных мутациях.

Мобильные генетические элементы (МГЭ) представляют собой участки ДНК, способные перемещаться по геному. К ним относятся:

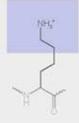
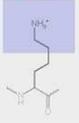
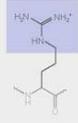
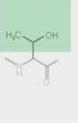
- **транспозоны;**
- **плазмиды;**
- **бактериофаги;**
- **интроны.**



Разнообразие окраски семян в этом кукурузном початке вызвано «прыжками» мобильного генетического элемента — транспозона

Для млекопитающих из всех МГЭ наиболее характерны транспозоны. **Транспозон — это последовательность ДНК, которая способна перемещаться внутри генома в результате процесса, который называется транспозицией.** Встраиваясь в геном, транспозоны могут вызывать различные мутации, в том числе и хромосомные перестройки. Транспозоны обычно состоят из двух прямых или инвертированных повторяющихся последовательностей ДНК, между

которыми находятся гены, необходимые для транспозиции. Иногда в составе центральной части транспозонов находятся гены, которые обеспечивают эволюционное преимущество для организма, содержащего мобильный элемент. Различают два класса транспозонов: к первому относят *ретротранспозоны*, перемещение которых по геному происходит путем обратной транскрипции, второй класс — ДНК-транспозоны, перемещающиеся путем прямого вырезания и вставки с использованием фермента *транспозазы*. Транспозоны могут играть важную роль в геноме организма — некоторые гены-регуляторы, обеспечивающие адекватную реакцию растений на изменения освещенности, появились в результате встраивания в их геном транспозонов. *Транспозоны могут быть причиной дестабилизации генома.* Не менее 80% мутаций являются следствием активности этих мобильных элементов. Выше было сказано о возможном влиянии происходящей с возрастом дерепрессии транспозонов на темп укорочения теломер, что определяет старение как биологический феномен. И, наконец, о мутации. **Мутация — это изменение генетического аппарата, которое может быть унаследовано дочерними клетками или потомками организма.** Мутации принято подразделять на **спонтанные** (самопроизвольно возникающие в течение всей жизни организма в условиях окружающей среды, являющихся нормальными для данного организма) и **индуцированные** (возникающие под воздействием неблагоприятных условий окружающей среды или в ходе экспериментов в лабораторных условиях). Частота возникновения спонтанных мутаций колеблется в пределах 10^{-9} — 10^{-12} на нуклеотид за клеточную генерацию. В живой клетке постоянно происходят такие процессы, как репликация ДНК, репарация ДНК и генетическая рекомбинация, в ходе которых постоянно

	Point mutations				
	No mutation	Silent	Nonsense	Missense	
				conservative	non-conservative
DNA level	TTC	TTT	ATC	TCC	TGC
mRNA level	AAG	AAA	UAG	AGG	ACG
protein level	Lys	Lys	STOP	Arg	Thr
					
				<small>basic</small>	<small>polar</small>

Три типа точечных мутаций

возникают мутации. К возникновению мутаций приводят спонтанные изменения химической структуры нуклеотидов, которые происходят при репликации. Так, например, при *дезаминировании* цитозина в одной из цепей ДНК образуется урацил. В этом случае вместо канонической пары оснований ГЦ появляется пара ГУ. В дальнейшем в процессе репликации в новую цепь комплементарно урацилу включается уже аденин, и образуется пара АУ, а в следующем цикле репликации она заменяется на каноническую пару АТ. Таким образом, происходит *транзиция* — точечная замена одного пиримидина на другой пиримидин. Аналогично происходит и замена одного пурина на другое пуриновое основание. Из всех рекомбинационных процессов мутации чаще всего происходят в ходе неравного кроссинговера. Как правило, неравный кроссинговер происходит в тех участках хромосом, где локализуется несколько копий одного и того же гена, возникших в результате дупликации или мультипликации и сохранивших высокую степень гомологии. В результате неравного кроссинговера в одной из хромосом появляется делеция некоторого

участка, а в другой — его дупликация. В течение жизни любой клетки довольно часто происходят спонтанные повреждения ДНК. Для того чтобы устранять эти повреждения, существуют особые ферментные системы — системы репарации. Если по каким-либо причинам в работе систем репарации происходит сбой, возникают мутации. Мутации могут появляться и в генах, кодирующих сами ферменты систем репарации, что приводит к резкому повышению (*мутаторный эффект*) или снижению (*антимутаторный эффект*) частоты мутаций других генов. У человека известно такое заболевание, как *пигментная ксеродерма*, при котором под действием ультрафиолетового облучения возникают дерматиты, а позднее и злокачественные новообразования кожи. Причиной данного заболевания является мутация, в результате которой нарушается работа системы репарации. Существенно увеличить частоту мутаций могут не только изменения в системах ферментов репарации клетки, но и многие другие факторы, которые называются мутагенными. Различают химические вещества (вызывающие мутации, например, *нитрозаметилмочевина*, *этиленмин* и др.), физические (ионизирующее и ультрафиолетовое излучения, высо-



Еще одна классификация мутаций

кая температура и т. д.) и биологические (*ретровирусы*, *ретротранспозоны*) мутагены. Генные мутации встречаются чаще, чем другие типы мутаций. Генные мутации представляют собой замены, делеции и вставки одного или нескольких нуклеотидов, транслокации, дупликации и инверсии различных частей гена. Мутация, затрагивающая только один нуклеотид, называется *точковой*. Замены одного нуклеотида другим называются *транзичиями* (замена пурина на пурин или пиримидина на пиримидин) или *трансерсиями* (замена пурина на пиримидин или наоборот). Последствия точковых мутаций могут быть различными: если в результате замены нуклеотида смысл кодона сохраняется из-за вырожденности генетического кода, то такая замена называется синонимической. Нуклеотидная замена может изменить смысл кодона и привести к замене соответствующего данному кодону аминокислотного остатка в полипептидной цепи (*миссенс-мутация*). В результате замены одного нуклеотида возможна также преждевременная *терминация трансляции* из-за образования бессмысленного кодона: амбер — УАГ, охра — УАА или опал — УГА. Подобные мутации называются *нонсенс-мутациями*. Возможны также мутации, приводящие к замене стоп-кодонов на смысловые. Из-за триплетности генетического кода, в случае, если происходит делеция или вставка числа нуклеотидов, не кратного трем, происходит сдвиг рамки считывания, обесмысливающий трансляцию.

Следует различать **первичную (прямую) мутацию** и **реверсию** или **обратную мутацию**, которая восстанавливает исходную структуру гена. Однако не всегда фенотипическая реверсия бывает обусловлена обратной мутацией. Подобное явление может быть обусловлено **супрессорной мутацией**, которая может произойти как в другой области того же самого гена (**интрагенная**

супрессорная мутация), так и в другом неаллельном гене (**экстрагенная супрессорная мутация**).

Некоторые мутации кардинально изменяют процессы, протекающие в клетке. Такая клетка, как правило, распознается системами контроля **гомеостаза (постоянства внутренней среды организма)**, происходит запуск программ **апоптоза (программируемой клеточной смерти)**, и клетка погибает. Если по каким-то причинам измененная клетка не была элиминирована, она дает начало новой популяции клеток с измененным генотипом и, как следствие, с новыми функциями. Если подобная мутация произошла в соматической клетке, то это может привести к развитию злокачественных или доброкачественных новообразований, если в генеративной клетке — к появлению новых организмов с совершенно иными свойствами.

Подавляющее большинство мутаций приводят к снижению жизнеспособности организмов и клеток вплоть до их гибели. Однако очень редко происходят мутации, которые приводят к появлению у мутантных особей полезных признаков и оказывают положительное влияние на приспособленность к условиям среды. Такие мутации являются средством адаптации клеток и организмов к условиям окружающей среды и называются адаптационными. Мутации, затрагивающие «молчащие» участки генома и синонимические нуклеотидные замены обычно не имеют фенотипического проявления — их можно обнаружить только с применением современных молекулярно-биологических методов. Принимая во внимание тот факт, что подавляющее большинство мутаций являются спонтанными, частоту их возникновения можно считать величиной постоянной. На этом основано изучение мутаций в «молчащих» генах с целью исследования филогении (путей эволюции) различных видов, в том числе и человека. Результаты исследований мутаций, затрагивающих митохондриальный геном и наследующихся исключительно по ма-

теринской линии, а также мутаций, локализующихся в Y-хромосоме, которые наследуются только по мужской линии, находят широкое применение в эволюционной биологии и этногенетике.

Вопросы и задания по материалам Темы 9

1. Что такое нуклеиновые кислоты?
2. Из чего они состоят?
3. Расскажите о правиле Чаргаффа.
4. Дайте представление о типах РНК.
5. Что такое *транскрипция*?
6. Что такое *процессинг*?
7. Расскажите о *сплайсинге*.
8. Что такое *трансляция*?
9. Дайте представление о *генетической рекомбинации*.
10. Что такое *репарация*?
11. Как вы понимаете *генную конверсию*?
12. Подготовьте сообщения о типах и видах *мутаций*.
13. Установите соответствие между понятиями, содержащимися в следующих столбцах. Для этого рядом с цифрой первого столбца поставьте букву соответствующего понятия из второго столбца.
 1. хромосома а) транзиция
 2. репликация б) теломера
 3. мутация в) РНК-затравка
14. Определите правильность следующей фразы:
15. Интроны — это нетранслируемые участки мРНК, которые вырезаются при ее созревании.
16. Установите соответствие между понятиями, содержащимися в следующих столбцах. Для этого рядом с цифрой первого столбца поставьте букву соответствующего понятия из второго столбца.
 1. трансляция а) доминирование
 2. трансдукция б) рибосома
 3. аллель в) вирусы

17. Исключите лишнее понятие в приведенном ряду.
Укажите обобщающее слово данного ряда:
РНК-полимераза, репликация, ДНК-полимераза, фрагменты Оказки, топоизомераза, рибосома.

Примерная тематика семинаров по Модулю III

Носители наследственной информации — ядро и митохондрии.

Митоз и мейоз как уникальные процессы.

Особенности созревания половых клеток человека.

Овогенез и сперматогенез.

Структура, функции, состав хромосомы.

Методы исследования хромосом.

Геномная гибридизация.

ДНК — структура, состав.

РНК — структура, состав.

Правила Чаргаффа.

Процессы, происходящие в ДНК и РНК.

Изменения генетического аппарата.

Литература:

1. Агол В. И., Богданов А. А., Гвоздев В. А. и др.; под ред. А. С. Спирина. Молекулярная биология: Структура и биосинтез нуклеиновых кислот. — М.: Высшая школа, 2010.
2. Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика. — М.: Мир, 2007.
3. Леруа А. М. Мутанты. — М.: Астрель, Corpus, 2000.

Интернет-ресурсы:

www.genes.net

http://www.labogen.ru/20_student/manual.html

<http://www.mif-ua.com/articles/category/genetika>

Модуль IV. Молекулярная генетика и геном

Тема 10. Геномика, транскриптомика, протеомика

История формирования геномики.
Структурная и функциональная геномика.
Сравнительная геномика.
Наука о транскриптоме.
Изучение белков.

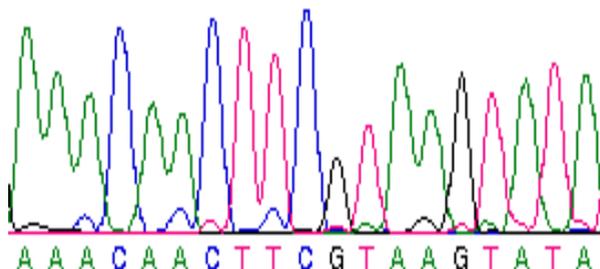
Геномика — направление молекулярной генетики, изучающее структурно-функциональную организацию генов и геномов живых организмов. Геномика создавалась как особое направление в период создания первых проектов по секвенированию⁴¹ геномов некоторых видов живых организмов в 80–90-х гг. прошлого века. Первым был полностью секвенирован геном бактериофага Ф-Х174 (5 368 п. н.). Это произошло в 1977 г., затем в 1995 г. был секвенирован геном бактерии *Haemophilus influenzae* (1,8 млн п. н.). После этого были получены полные сиквенсы геномов еще нескольких видов, включая геном человека (2001 г. — первый черновой вариант, 2003 г. — первый завершённый релиз). Последний по времени

⁴¹ **Секвенирование** биополимеров (белков и нуклеиновых кислот — ДНК и РНК) — определение их аминокислотной или нуклеотидной последовательности (от лат. *Sequentum* — последовательность). В результате секвенирования получают формальное описание первичной структуры линейной макромолекулы в виде последовательности мономеров в текстовом виде. В результате секвенирования перекрывающихся участков ДНК, получают последовательности участков генов, целых генов, тотальной мРНК и даже полных геномов организмов

релиз — 37.1 — опубликован в августе 2009 г. В нем аннотировано 34533 гена. Развитие геномики стало возможным не только благодаря совершенствованию биологических и физико-химических методов, но и в связи с появлением более мощной вычислительной техники, которая позволила работать с огромными массивами данных, и, конечно, более совершенного программного обеспечения.

Для секвенирования применяют методы Эдмана, Сэнгера и другие. В настоящее время для секвенирования генов чаще применяют метод Сэнгера с дидезоксирибонуклеозидтрифосфатами (ddNTP). Обычно до начала секвенирования производят амплификацию участка ДНК, последовательность которого требуется определить, при помощи ПЦР. Секвенирование полного генома обычно осуществляют при помощи технологий Next-generation sequencing.

Метод Эдмана (Edman degradation) — один из ранних методов определения первичной последовательности (секвенирования) пептидов. Разработан в 1950–1956 годах шведским биохимиком Пером Виктором Эдманом. Суть метода заключается в обработке исследуемого пептида определенным набором реагентов, что приводит к отщеплению одной аминокислоты с N-конца последовательности. Циклическое повторение реакции и анализ



Графическое представление результатов секвенирования ДНК

продуктов реакций дают информацию о последовательности аминокислот в пептиде. Метод Эдмана был широко распространен во второй половине XX века. В настоящее время практически не применяется из-за многих присущих ему недостатков (неколичественное протекание реакции, множественные побочные процессы).

Дезоксинуклеотидный метод, или метод «обрыва цепи», был разработан Ф. Сэнгером в 1977 году и в настоящее время широко используется для определения нуклеотидной последовательности ДНК (в 1980 г. Сэнгер был удостоен Нобелевской премии по химии). При секвенировании по Сэнгеру происходит гибридизация синтетического олигонуклеотида длиной 17–20 звеньев со специфическим участком одной из цепей секвенируемого участка. Этот олигонуклеотид является *праймером*, поставляющим 3'-гидроксильную группу для инициации синтеза цепи, комплементарной матрице. Раствор с *праймером* распределяют по четырем пробиркам, в каждой из которых находятся четыре дезоксинуклеотида, dATP, dCTP, dGTP и dTTP (один из них — меченный радиоактивным изотопом) и один из четырех 2',3'-дидезоксинуклеотидов (ddATP, ddTTP, ddGTP или ddCTP). Дидезоксинуклеотид включается по всем позициям в смеси растущих цепей, и после его присоединения рост цепи сразу останавливается. В результате этого в каждой из четырех пробирок при участии ДНК-полимеразы образуется уникальный набор олигонуклеотидов разной длины, включающих праймерную последовательность. Далее в пробирки добавляют формамид для расхождения цепей и проводят электрофорез в полиакриламидном геле на четырех дорожках. Проводят радиоавтографию, которая позволяет «прочитать» нуклеотидную последовательность секвенируемого сегмента ДНК. В более современном варианте дидезоксинуклеотиды метят четырьмя разными флуоресцентными красителями и проводят ПЦР в одной пробирке. Затем во время электрофореза в полиакриламидном геле луч лазера в определенном месте геля возбуждает флуоресценцию красителей, и детектор определяет, какой нуклеотид в настоящий момент мигрирует через гель. Современные приборы используют для секвенирования ДНК капиллярный электрофорез.

Протяженность геномов у живых организмов измеряется миллиардами пар оснований (**геном человека состоит из 3 млрд п. н.**), что предполагает необходимость

применения больших компьютерных мощностей для адекватной обработки содержащейся в них информации.

Структурная геномика — раздел геномики, изучающий структуру генов и геномов — особое внимание здесь уделяется внутреннему строению гена, составу и расположению регуляторных последовательностей, особенностям молекулярной организации хромосом и хромосомных районов, общим принципам структурирования последовательностей геномов. Ученые используют комбинации экспериментальных и моделирующих подходов. Принципиальное различие между структурной геномикой и традиционным структурным предсказанием — это то, что структурная геномика пытается определить структуру каждого белка, закодированного геномом, вместо того, чтобы сосредоточиться на одном определенном белке.

Структурная геномика занимается созданием и сравнением различных типов геномных карт и крупномасштабным секвенированием ДНК. **Проект по изучению человеческого генома (Human Genome Project)** и менее известная **Программа по изучению растительных геномов (Plant Genome Research Program)** являются самыми масштабными исследованиями структурной геномики. Кроме картирования и секвенирования геномов, в задачи структурной геномики входят идентификация, локализация и составление характеристик генов.

В результате осуществления частных и государственных проектов по структурной геномике были созданы **карты геномов** и расшифрованы последовательности ДНК большого количества организмов, в том числе сельскохозяйственных растений, болезнетворных бактерий и вирусов, дрожжей, необходимых для приготовления некоторых продуктов питания и производства пива, азотфиксирующих бактерий, малярийного плазмодия и переносящих его комаров, а также микроорганизмов, используемых человеком в самых разнообразных промышленных процессах. Кроме того, весной 2003 года был завершен Проект по изучению генома человека, черновые варианты которого были готовы уже к 2000 году. Благодаря тому, что генетический код универсален и все живые организмы способны расшифровывать генетическую ин-

формацию других организмов и осуществлять заложенные в ней биологические функции, любой ген, идентифицированный в ходе того или иного геномного проекта, может быть использован в широком спектре практических приложений. Знание полной или частичной последовательности нуклеотидов определенных генов служит для исследователей источником очень полезной информации, даже если тонкости функционирования генов остаются неизученными. Например, информация об отдельных генах и кодируемых ими белках может следующее:

- помочь селекционерам не наугад, а целенаправленно изменять свойства растений и убеждаться в наличии желаемых признаков, не дожидаясь появления плодов (последнее особенно важно для селекции деревьев);

- использоваться для выделения специфических рекомбинантных молекул или микроорганизмов, уникальных с биохимической точки зрения;

- применяться для идентификации генов, участвующих в осуществлении сложных процессов, контролируемых множеством генов, а также зависящих от влияния окружающей среды;

- применяться для обнаружения микробных заражений клеточных культур.

Функциональная геномика изучает механизмы работы генов и других функционально активных элементов генома. Процессы экспрессии генов и ее регуляции при помощи близких и удаленных элементов генома находятся в центре внимания этой дисциплины.

Секвенирование геномов, идентификация и картирование генов, несомненно, являются выдающимися достижениями, но представляют собой всего лишь первый этап геномной революции. Информация о нуклеотидной последовательности гена и его положении в геноме не будет иметь практического значения, если мы не знаем, какие функции выполняет ген, как осуществляется его регуляция и как его активность сказывается на других генах. Занимающееся этими вопросами исследовательское направление, известное нам теперь как функциональная геномика, дает возможность ориентироваться в сложных структурах генома

изучаемого организма, постигать его закономерности и содержащуюся в нем информацию.

Исследования показали, что геномы млекопитающих содержат приблизительно одинаковое количество генов, которое в некоторых случаях даже меньше количества генов в геномах менее сложных, чем млекопитающие, организмов. Однако для понимания различий между видами основную роль играет не знание количества генов, а понимание того, как они различаются по составу и функциям, знание химических и структурных различий в генах, которые и лежат в основе различий организмов.

Эволюционный анализ постепенно становится основным приемом выяснения функций и взаимодействий генов в пределах генома. Молекулярные эволюционисты пользуются методами сравнительной геномики и биоинформатики для анализа количества мутаций, которые последовательности нуклеотидов в ДНК претерпевают в процессе эволюции. Полученные данные позволяют исследователям идентифицировать функционально важные области генов и создавать молекулярную временную шкалу видовой эволюции.

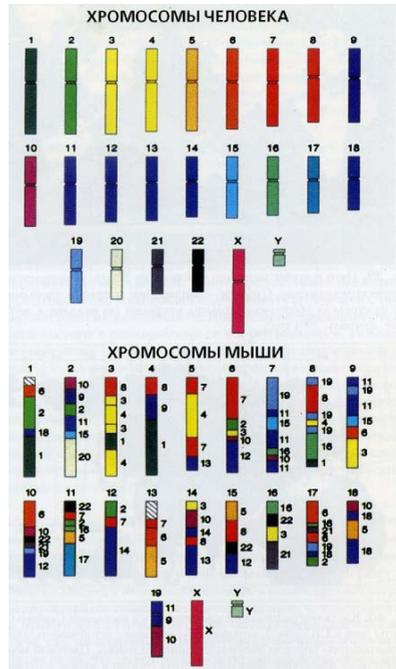
Как пример:

— плодовая мушка дрозофила (*Drosophila melanogaster*) давно является признанной моделью для изучения закономерностей наследования генов. К достоинствам дрозофилы относятся ее неприхотливость, доступность и короткий цикл развития. В результате огромного количества исследований, в которых объектом изучения были дрозофилы, получена масса полезной информации, которая в настоящее время доступна научной общественности. Так, например, исследователи Центра эволюционной функциональной геномики (Center for Evolutionary Functional Genomics) Аризонского института биодизайна (Arizona Biodesign Institute) создали информационную базу «FlyExpress», основанную на интернет-технологиях и использующую современные приемы обработки изображений и информации, которая позволяет ученым быстро анализировать экспрессию генов дрозофилы по изображению эмбрионов.

Сравнительная (эволюционная) геномика — раздел геномики, предметом которого являются эволюционные отношения генов и геномов.

Вопросы *гомологии* (общности происхождения двух или более структур), *эволюционного консерватизма и дивергенции* (расхождения в процессе эволюции) — вот главное в этом разделе. Получение полных последовательностей геномов позволяет пролить свет на степень различий между геномами разных живых организмов.

Какими бы уникальными мы ни казались сами себе, в нашей ДНК есть довольно много сходства не только с обезьянами и мышами, но даже с маленьким червем *C. elegans* и мухой дрозофилой. Можно сильно удивиться, но у нас около 50% генов сходны с таковыми у червя. У человека и мыши еще больше одинаковых генов, хотя в эволюции они разошлись уже около 100 миллионов лет назад. В геноме человека на сегодняшний день обнаружено лишь около 300 генов, которых нет у мыши, а общее их число примерно одинаковое. Таким образом, около 99% генов человека соответствуют генам мыши, причем, примерно 80% из них почти полностью идентичны. Кроме того, до 90%



Не правда ли много похожего?

генов, ответственных за возникновение различных заболеваний, у человека и мыши сходны. Есть, разумеется, и небольшие различия. Так, у мыши гораздо больше генов, отвечающих за обоняние.

Что же касается наших ближайших родственников, то здесь различия еще меньше. Согласно последним данным, в целом, геном человека отличается от генома шимпанзе всего лишь максимум на 5%! Удивительно, но некоторые группы генов (например, гены, ответственные за формирование тела организма) у человека сродни аналогичным группам у биологических видов, возникших еще пятьсот-шестьсот миллионов лет тому назад, во времена так называемого Кембрийского биологического взрыва. Сейчас с нетерпением ожидается тот момент, когда учеными будет полностью секвенирован геном шимпанзе. После этого в сравнительной геномике должен начаться новый очень важный этап. В результате такого сравнения могут быть обнаружены функционально важные мутации, специфические для человека как вида, что в свою очередь откроет новые пути для медицины. Безусловно, эти данные будут также способствовать более полному пониманию процесса эволюции человека.

Транскриптомика — наука о транскриптоме. Транскриптомом называют совокупность всех транскриптов, которые синтезируются в одной клетке или группе клеток (в том числе мРНК и некодирующие РНК). Понятие «транскриптом» может обозначать полный набор транскриптов, синтезируемых в данном организме, или специфический набор транскриптов (молекул РНК), представленный в клетках определенного типа. Если геном у всех клеток одной линии, как правило, одинаков, то транскриптом может быть весьма изменчив и зависит от условий окружающей среды. Понятие «транскриптом» отражает профиль экспрес-

сии генов в данный момент времени, поскольку включает в себя все транскрипты данной клетки. Наиболее часто в экспериментах по изучению транскриптома используют биочипы (метод *ДНК-микроаррей*, позволяющий анализировать уровни транскрипции десятков тысяч генов одновременно) и полимеразную цепную реакцию в реальном времени, которая позволяет давать точную количественную оценку экспрессии отдельных генов.

Подробнее о задачах транскриптомики:

— исследование структуры и динамики транскриптома, лежащих в основе формирования второго уровня фенотипа — протеома клеток, тканей и пр. Но некоторые задачи транскриптомики, в то же время, являются и задачами функциональной геномики — в той мере, в какой информация, необходимая для формирования структуры транскриптома, закодирована в геноме и может быть выявлена при его изучении. Задачи функциональной геномики, пересекающиеся с задачами транскриптомики, заключаются в выявлении и исследовании условий для формирования характерной для клеток определенных типов структуры транскриптома, предопределенной генетическими программами развития, т. е. зашифрованными в геноме сигналами. Эти условия реализуются через взаимодействие клеточной биохимической машины с наследуемыми вместе с геномом регуляторными сигналами:

— **транскрипции** (*промоторы, сайленсеры, энхансеры, граничные элементы/инсуляторы, сигналы завершения синтеза РНК-полимеразой и т. д.*);

— **сплайсинга** (*сайты сплайсинга, регуляторы альтернативного сплайсинга, транс-сплайсинга*);

— **пост-транскрипционных процессов** (*сайты взаимодействия с miRNA или siRNA, редактирования, цитоплазматической локализации и т. д.*).

Собственные задачи транскриптомики состоят в выявлении и изучении не зависящих от геномных сигналов факторов, влияющих на формирование структуры и динамики транскриптома, и, в конечном счете, протеома. Применение методов биоинформатики на уровне анализа транскриптома — при исследовании структуры транскриптов и их дифференциального временного и пространственного распределения в клетках и организмах, позволяет: реконструировать коды, заключенные в геноме (кооперация с геномикой); выявлять информацию в виде сигналов и кодов, необходимую для формирования протеома (кооперация с протеомикой). Сегодня существует несколько распространенных методов для широкомасштабного исследования транскриптома — «серийный анализ экспрессии генов» — *Serial analysis of gene expression (SAGE)*, «прочитанные фрагменты экспрессированных последовательностей» — *Expressed Sequence Tags (ESTs)*, «Массовое одновременное секвенирование характерных фрагментов» *Massively Parallel Signature Sequencing (MPSS)*. Правда, заметим, только метод ДНК-биочипов или ДНК-микроматриц (*DNA microarray, DNA biochip, oligonucleotide microarray, cDNA microarray*) является средством общегеномного и высокопродуктивного исследования транскриптома.

ДНК-биочипы — это миниатюризированные матрицы или подложки, на которых в определенном порядке распределены фрагменты ДНК, соответствующие отдельным генам или их частям. Такие организованные микроматрицы позволяют проводить эксперименты по одновременному анализу структуры и экспрессии тысяч генов с помощью параллельной гибридизации. Высокоразвитые методы преобразования результатов этих экспериментов в цифровые данные и методы компьютерной обработки последних обеспечивают возможность анализировать и сопоставлять экспрессию таких массивов генов во множестве экспериментальных условий.

Протеомика — это наука, изучающая белки и их взаимодействия в живых организмах. Здесь исследуется биосинтез, посттрансляционные модификации, взаимодействие белков друг с другом и с другими веществами. Мы знаем, что белки служат для выполнения огромного числа функций в организме:

— **энзимная (ферментная)** — многие белки служат катализаторами биохимических реакций, протекающих в живых организмах;

— **транспортная** — некоторые белки, такие как гемоглобин, трансферрин и пр. переносят различные вещества от одних клеток, тканей и органов к другим;

— **структурная** — белки входят в состав подавляющего большинства структурных компонентов клеток и тканей живых организмов. Например, коллаген и эластин обеспечивают фиброзную основу соединительных тканей у животных;

— **резервная (запасная)** — некоторые белки (например, казеин) являются главным источником аминокислот для организмов детенышей млекопитающих;

— **регуляторная** — гормоны, принимающие участие в регуляции многих процессов, протекающих в живом организме, по своей химической природе являются белками;

— **рецепторная** — есть белки, встроенные в мембраны клеток, которые распознают химические сигналы, передаваемые другими клетками;

— **моторная** — сократимые белки (например, миозин) играют большую роль в движении мышц;

— **защитная** — белками являются антитела, которые защищают организм от болезней.

Белки синтезируются через посредника — рибонуклеиновую кислоту (РНК), структура которой определяется последовательностью ДНК. Процесс реализации генетической информации о структуре белка или

РНК называется, напомним, *экспрессией*. Молекулы белков представляет собой высокомолекулярные органические вещества, состоящие из одной или нескольких аминокислотных цепочек. Порядок, в котором выстраиваются аминокислоты, диктуется последовательностью нуклеотидов в ДНК.

Преимуществом протеомики перед геномикой является тот факт, что наличие какого-либо гена в геноме не означает, что с него производится транскрипция, а наличие транскрипта не означает, что с него происходит трансляция (даже если происходит, то транскрипт не позволяет однозначно говорить о структуре белка, его созревании и локализации) — для ответа на эти вопросы и необходим арсенал современной протеомики. Если говорить о практическом значении протеомики, то стоит отметить следующее:

- обнаружение биомаркеров биологических процессов (биомаркер — молекула, наличие или отсутствие которой позволяет сделать вывод об протекании определенного клеточного процесса, или определить тип клетки. Нередко в роли биомаркеров выступают белки, например, белок Oct-4 позволяет идентифицировать эмбриональные стволовые клетки;

- сравнение протеомов здорового и больного человека позволяет выявить конкретные белки, потенциально вовлеченные в развитие болезни, которые в дальнейшем могут стать мишенями для новых лекарственных препаратов. Кроме того, если такие белки уже известны, анализ протеома может использоваться как *метод ранней диагностики*. Анализ протеома дает больше информации, чем сравнение уровня экспрессии по мРНК, ибо учитывает еще и посттрансляционные модификации и альтернативный сплайсинг.

Исследование протеома позволяет подтверждать наличие предсказанных при помощи поиска открытых

рамок считывания белков в клетке, обнаруживать варианты альтернативного сплайсинга.



Современный гибридный масс-спектрометр с линейной ионной ловушкой нового поколения

Добавим — существует понятие сравнительная *протеомика* — сравнение протеомов двух организмов (необязательно близкородственных) позволяет выявить как общие для этих двух организмов белки, так и белки, которые обуславливают различия их фенотипов. Такой анализ может давать информацию, полезную для понимания эволюционного процесса, и

иногда это позволяет определить ранее неизвестные функции белков. Например, при помощи сравнительной протеомики были выявлены белки *Nilaparvata lugens*, вовлеченные в процессы, связанные с размножением, чья экспрессия изменяется в ответ на обработку инсектицидами.

Да, следует помнить и знать, что одним из важнейших инструментов протеомики является *масс-спектрометрия белков* — метод, позволяющий установить количественный и качественный состав в исследуемом образце, будь то очищенный и выделенный белок или клеточный *лизат*.

Наиболее крупное достижение последних лет — **картирование генома человека**. Напомним: по данным последнего релиза (37.1 от августа 2009 г.) в аутосомах находится 32593 генов, в половых хромосомах — 2003 гена и в митохондриях — 37 генов. Количество

белков в человеческом организме примерно в десять раз больше количества генов. По оценкам большинства авторов, их насчитывается более 300 000, а число белок-белковых взаимодействий и вовсе не поддается подсчету.

Многие болезни сегодня могут быть прослежены до изменений, происходящих на уровне белков. К примеру, известно, что при *серповидноклеточной анемии* аномальный белок гемоглобин вызывает изменение формы красных кровяных телец. Аномальные эритроциты имеют серповидную форму. Серповидноклеточная анемия обусловлена мутацией, приводящей к замене *глутаминовой кислоты* на *валин* в *бета-цепи* гемоглобина (гемоглобин S). Это заболевание является классическим примером приспособительного значения мутаций — гетерозиготы по замене глутаминовой кислоты на валин в бета-цепи гемоглобина более устойчивы к малярии, поэтому частота ее встречаемости выше в географических районах распространения малярийного плазмодия.

Часто после синтеза (трансляции), для того чтобы выполнять определенные функции в организме, белки требуют модификации. Например, белки, которые вызывают образование кровяных тромбов, остаются неактивными до тех пор, пока не претерпевают соответствующих изменений. Следовательно, неправильная посттрансляционная модификация также является фактором неправильного функционирования белков. Причина многих заболеваний человека — модификации белков и изменения характера их взаимодействий. Результаты исследований в области протеомики в последние годы все чаще применяются в биофармакологии, которая получила благодаря этому надежный теоретический фундамент. Сегодня более 95% всех имеющихся на рынке лекарственных средств оказыва-

ют свое действие именно на белки. Системные подходы протеомики помогают гораздо эффективнее идентифицировать и оценивать новые целевые белки, и, следовательно, ускорить разработку новых диагностических систем и терапевтических средств и сделать их более эффективными.

И еще: *клонирование нуклеиновых кислот* — получение большого числа копий интересующей последовательности в форме воспроизводимых в живых организмах структур — *вирусов, плазмид, искусственных хромосом*. Введение в организм чужеродных генов обычно используют для получения продукта этого гена — РНК или, чаще всего, белка. Принципиально возможно применение этого метода для генной терапии. Клонировать можно и отдельные фрагменты генома, и мРНК — в последнем случае применяют специальный фермент — *обратную транскриптазу*, которая позволяет получить ДНК копию с РНК-матрицы. Полученные путем обратной транскрипции молекулы ДНК называют комплементарной ДНК (кДНК). Их и лигируют⁴² в векторы. Клоны, полученные из отдельных тканей, хромосом или геномов, группируют в *тканеспецифические, хромосомспецифические или геномные библиотеки*.

Вопросы и задания по материалам Темы 10

1. Что такое *геномика*?
2. Подготовьте сообщения о методах Сэнгера и Эдмана.
3. Чем занимается *структурная геномика*?
4. Что представляет собой *функциональная геномика*?

⁴² **Лигирование** — процесс соединения двух линейных молекул нуклеиновых кислот посредством фосфодиэфирных связей, осуществляется с участием фермента ДНК лигазы.

5. Чем занимается *сравнительная геномика*?
6. Дайте представление о *транскриптомике*.
7. Подготовьте сообщения о методах исследования транскриптома.
8. Что изучает *протеомика*?

Тема 11. Геномные библиотеки

Гридированные геномные библиотеки.

Клонирование генов.

Геномные банки.

Возможность быстрого получения препаративных количеств ДНК, протяженных (более 30 т.п.н.) фрагментов генома является необходимым условием большинства экспериментов по молекулярно-генетическому и цитогенетическому анализу геномов. Гридированные геномные библиотеки, имеющие адресное указание индивидуальных клонов, позволяют получать протяженные фрагменты ДНК, содержащие интересующую исследователей последовательность, и широко используются для анализа генома с использованием различных подходов.

Первая генетическая система для масштабного клонирования протяженных фрагментов генома была создана в 1987 г. Она была основана на искусственных хромосомах дрожжей (YACs), включающих центромеру, теломеры, автономно-реплицирующиеся последовательности, сайт клонирования и гены селективных маркеров. Система позволяла клонировать нуклеотидные последовательности до 1000 т.п.н. Поскольку в начале 90-х гг. проводилось *секвенирование генома человека*, такие системы были быстро востребованы и использованы для создания геномных библиотек. Однако существенные недостатки такого рода библиотек — высокий уровень *химеризма* (когда в одном клоне объединены разные участки генома), *нестабильность геномной вставки* и *трудность приготовления препаративных количеств клонированных последовательностей ДНК* — не позволили их использовать в качестве основного инструмента геномного клонирования.

Большое количество *тандемных* (ориентированных в одном направлении) повторов генома млекопитающих приводило в дрожжевой системе к *сайт-специфической рекомбинации* и потере фрагментов вставки, либо к образованию химерных клонов, клонов, содержащих фрагменты ДНК из разных областей генома-донора. Цитологически химерные клоны выявляются при гибридизации *in situ* вследствие локализации в двух и более сайтах.

Поскольку *прокариотические системы рекомбинации* оставляют меньше вероятности нежелательных обменов (а эписомы прокариот отличаются относительной стабильностью и могут существовать в суперскрученной форме), бактерии оказались более привлекательными как организмы-хозяева для геномных клонов. Плазмидные векторы не только проще хромосомных эукариотических векторов (не содержат центромеры, теломеров — конструирование библиотек с ними менее трудоемко), но и позволяют существенно упростить процедуру выделения клонированной ДНК из основанных на них клонов путем полного разрушения хромосомной ДНК.

Первые геномные банки с использованием клеток кишечной палочки *Escherichia coli* были основаны на группе векторов — производных *фага лямбда*. Существуют фаговые векторы традиционной структуры, представляющие собой молекулы ДНК, способные только к литическому расщеплению *in vitro*. Космидные векторы формально являются дефектными фагами — плазмидами разных типов, содержащими *cos-участки фага лямбда* и не способными к *лизису* (растворению, разрушению клеток и их систем, в том числе микроорганизмов, под влиянием различных агентов, например, ферментов, бактериолизин, бактериофагов, антибиотиков и других агентов, обладающих литическим

действием). Наконец, фагмидный (фаг + плазида) вектор, существенной особенностью которого является способность к литическому развитию *in vivo*, поддерживается в виде плазмиды. Все подобные конструкции широко используются для получения клонотек и банков генов. Их общим недостатком является довольно большое число клонов (до 10^6), необходимое для уверенного представления любого фрагмента генома млекопитающих или птиц при сравнительно небольшом размере вставки — 20–40 т. п. н.

Особо стоит упомянуть *космиды* — *плазмиды, содержащие сегмент ДНК фага λ с соединенными липкими концами (cosсайты)*. Важной чертой большинства космидных векторов для клонирования является их способность включать вставки до 45 т. п. н. Если кольцевую космидную ДНК разрезать по какому-то уникальному сайту, смешать с фрагментами ДНК, содержащими липкие концы, и произвести отжиг, то образуются длинные *конкатемеры* (молекулы, состоящие из крупных повторяющихся блоков). При смешении этих конкатемеров с

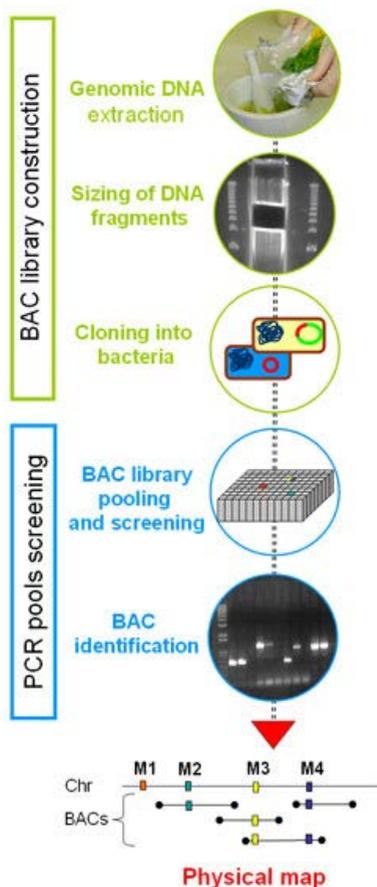


Пластиковые кюветы с алюминиевыми электродами, используемые для электропорации

белками, осуществляющими упаковку фага λ , они разрезаются по *cos*-сайтам, и ДНК упаковывается в головку фага. Этот процесс позволяет отобрать вставки большой протяженности, так как для того чтобы ДНК упаковывалась в головку фага, расстояние между *cos*-сайтами должно быть 38–52 т. п. н. Такая смесь может содержать фрагменты вовсе без вставки

или с несколькими повторяющимися вставками, что отражается на качестве полученной библиотеки и затрудняет ее применение для геномного анализа. *Реципиентные клетки* приобретают упакованные космиды в результате инфицирования «фальшивыми» фаговыми частицами, причем этот процесс более эффективен, чем *трансфекция* (процесс введения нуклеиновой кислоты в клетки человека и животных невирусным методом) плазмидной ДНК. Попав в клетку-хозяина, рекомбинантная ДНК амплифицируется и сохраняется в виде плазмиды. Полученные рекомбинантные клоны могут быть гридированы — выращены на платах с указанием координат каждого клона. Получение отпечатков (реплик) на нитроцеллюлозных или других фильтрах для переноса клонов с последующим разрушением клеточных стенок бактерий и отмыванием белков позволяет проводить скринирование таких библиотек при помощи обычной дот-блот ДНК-ДНК гибридизации. Недостатком космидных геномных библиотек является относительно (по сравнению с искусственными хромосомами дрожжей) небольшая величина вставки (до 45 т. п. н.) и, следовательно, большой объем библиотеки (для геномов млекопитающих около 2×10^5 клонов). Для того чтобы совместить преимущества космидных библиотек (высокая стабильность ДНК-клонов, относительно низкий уровень химеризма, простота конструирования, удобство выделения ДНК) и дрожжевых библиотек (большая длина вставки и компактность всей библиотеки), были разработаны две системы клонирования — на основе искусственных хромосом бактерий (ВАС) и искусственных хромосом фага P1 (РАС). Впервые РАС вектор (pСУРАС-1) был использован для переноса рекомбинантной ДНК в клетки *E. coli* при помощи *электропорации* (создания пор в бислоистой липидной мембране под действием электрического по-

ля) — разделенные при помощи пульс-электрофореза фрагменты геномной ДНК человека были упакованы в головки частиц бактериофага P1. Заражение такими фаговыми частицами штамма *E. coli*, экспрессирующего рекомбиназу Cre, привело к возникновению *эписомных* копий генома рекомбинантных фаговых частиц. Полученная геномная библиотека содержала 15000 клонов со средним размером вставки 130–150 т. п. н. Тридцать четыре клон были гибридизованы на митотических

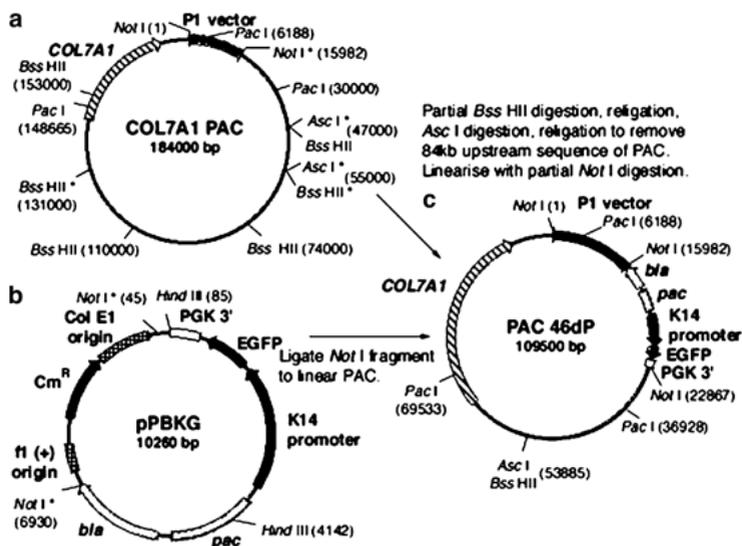


Конструкция BAC-библиотеки

хромосомах методом FISH, при этом не было выявлено ни одного случая химеризма. Продолжительное культивирование бактерий не выявило нестабильности вставки на примере 20 клонов.

Искусственные хромосомы бактерий (BACs) основаны на F-факторе (факторе **фертильности** — способности половозрелого организма производить жизнеспособное потомство) — низкокопийной плазмиде, которая существует в бактериальных клетках в суперкрученной кольцевой форме и может включать вставку до 500 т. п. н. Репликация фактора фертильности жестко контролируется

клеточными механизмами, что существенно снижает уровень рекомбинации в эписомах этого рода. Кроме того, геномная ДНК вида-донора находится практически все время в суперскрученном состоянии, следовательно, вероятность нежелательных обменов между фрагментами вставки теоретически приближается к нулю. Первая такая библиотека была получена на основе вектора рVAC108L, включающего фактор фертильности и cosN-сайт. Размер вставки варьировал от 10 до 300 т. п. н., составляя в среднем 100 т. п. н. Стабильность вставки (по признаку сохранения профиля рестрикционных фрагментов) подтверждена в течение 100 поколений бактериальных клеток. Проверка клонов на химеризм методом гибридизации *in situ* позволила обнаружить только один случай обмена из 28 случайно выбранных трансформантов. Дальнейшие работы с использованием этой библиотеки также показали низкую частоту транслокаций. Следует отметить меньшую длину клонированных фрагментов в системах искусственных хромосом бактерий по сравнению с дрожжевыми и основанными на бактериофаге P1. Однако указанные выше недостатки дрожжевых систем не позволяют им конкурировать с бактериальными. Преимуществом VAC-библиотек перед PAC-библиотеками является относительная простота их конструирования — исключается использование бактериофагов, перенос донорной ДНК проводится при помощи обычной трансформации.



Конструкция PAC-библиотеки

Таким образом, оптимальными системами для клонирования протяженных геномных последовательностей более 50 т.п.н. признаны искусственные хромосомы бактерий, а для фрагментов менее 50 т. п. н. (которые имеют преимущества для использования в некоторых исследованиях геномов) космиды.

Вопросы и задания по материалам Темы 11

1. Что такое гридированные геномные библиотеки?
2. На чем была основана первая генетическая система для масштабного клонирования протяженных фрагментов генома?
3. Расскажите о недостатках первых геномных библиотек.
4. Что такое космиды?
5. Что такое электропорация?
6. В чем заключается разница между ВАС-библиотеками и PAC-библиотеками?

Тема 12. Полимеразная цепная реакция

Принципы ПЦР.

Секвенирование ДНК. Методы секвенирования.

Сборка сиквенсов.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) применяется при необходимости многократного увеличения малых концентраций отдельных фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК) в биологическом материале (образце). Применение ПЦР настолько многообразно, что одно перечисление способов приложения этого метода может занять огромное место в тексте. Сегодня любую последовательность ДНК можно получить в препаративных количествах, зная только по 20–30 нуклеотидов на ее границах.

Принцип полимеразной цепной реакции заключается в многократном избирательном копировании (*амплификации*) определенного участка ДНК, проводимом *in vitro* с помощью особой ДНК-полимеразы (например, полимеразы *taq*), выделенной из экстремально термофильных бактерий. Особая термостабильность этого фермента позволяет проводить денатурацию двунитевой ДНК при 95°C без потери активности. Условия реакции подбираются так, чтобы амплифицировался только заданный фрагмент ДНК и только в том случае, если он присутствует в исследуемом образце. После *денатурации* ДНК короткие (18–30 н. п.) синтетические олигонуклеотиды, называемые праймерами, гибридизуются ДНК-матрицей согласно принципу комплементарности пар оснований, что обуславливает специфичность ПЦР. Температура на этой стадии 50–65°C (точная температура зависит от последовательностей праймеров и исходя из их нуклеотидного состава). Эта стадия называется отжиг или гибридиза-

ция. Каждый из праймеров *комплементарен* участку одной из цепей двуцепочечной матрицы и ограничивает начало и конец амплифицируемого фрагмента. Затем температуру доводят до 72°C, то есть, оптимума для работы таq-полимеразы. Это уже стадия полимеризации. Денатурацию, отжиг и полимеризацию (каждая проводится от нескольких секунд до полутора минут) повторяют 20–35 раз. Таким образом, число копий амплифицируемого фрагмента увеличивается в 2ⁿ раз, где n — число циклов. Затем реакционную смесь *инкубируют* несколько минут при 72°C, чтобы полимераза смогла достроить недополимеризованные участки — стадия *элонгации*. Заключительная стадия — хранение — проходит при 4°C. Визуализацию результатов обычно проводят путем электрофореза в *агарозном геле* с окраской ДНК флуорохромом этидиум бромид.

Для анализа экспрессии генов применяют РТ-ПЦР — полимеразную цепную реакцию на матрице кДНК, полученной путем обратной транскрипции мРНК. С использованием специальных приборов ПЦР можно наблюдать в режиме реального времени.

Существует несколько вариантов проведения такой реакции.

Один из них — ПЦР, в которой в реакционную смесь, помимо традиционных компонентов, добавляют *интеркалирующий краситель SYBR GREEN*. Сканирующий луч измеряет уровень флуоресценции красителя, связывающегося только с двунитевой ДНК, который прямо пропорционален числу копий амплифицированного фрагмента. Определение номера цикла, на котором уровень флуоресценции достоверно превысит фоновый (точки Ct), позволяет проводить количественные сравнения ДНК в различных образцах. Поскольку для каждого фрагмента существуют своя температура денатурации (плавления), наличие только одного пика на

кривой плавления свидетельствует о специфичности реакции. Отличие ПЦР от процесса репликации, проходящего в клетках живых организмов, состоит в том, что полимеразная цепная реакция позволяет амплифицировать сравнительно короткие участки ДНК (не более 3000 пар оснований). При использовании смеси нескольких полимераз, например, *Taq* и *Pvu*, при определенных условиях возможна амплификация фрагментов ДНК длиной 20–40 т. п. н., однако эти фрагменты все равно значительно короче хромосомной ДНК эукариотической клетки.

О секвенировании ДНК мы уже говорили. Теперь подробнее: **секвенирование нуклеиновых кислот — определение их первичной нуклеотидной последовательности.** В настоящее время для секвенирования широко используется *дидезоксинуклеотидный метод*, или *метод «обрыва цепи»*, разработанный Сэнгером в 1977 г. До начала секвенирования производят ПЦР-амплификацию участка ДНК, последовательность которого требуется определить, с использованием в качестве предшественников молекулы дидезоксинуклеозидтрифосфатов (ддНТФ). При дидезоксисеквенировании происходит гибридизация синтетического олигонуклеотида-праймера длиной 17–25 п.н., поставляющего 3'-гидроксильную группу для инициации синтеза цепи, комплементарной матрице, со специфическим участком одной из цепей секвенируемого фрагмента. Раствор с праймером распределяют по четырем пробиркам, в каждой из которых находятся четыре дезоксинуклеотида — дАТФ, дЦТФ, дГТФ и дТТФ (один из них — меченый радиоактивным изотопом) — и один из четырех 2', 3'-дидезоксинуклеотидов (ддАТФ, ддТТФ, ддГТФ или ддЦТФ). Затем проводят один цикл амплификации. Дидезоксинуклеотид включается по всем позициям в смеси растущих цепей, и после его присоединения рост цепи

сразу останавливается. В результате этого в каждой из четырех пробирок образуется уникальный набор полинуклеотидов разной длины. В четырех пробирках можно найти последовательности ДНК, различающиеся на 1 нуклеотид. Далее в пробирки добавляют формамид для денатурации фрагментов ДНК и проводят электрофорез в полиакриламидном геле на четырех дорожках. После разделения фрагментов ДНК проводят *радиоавтографию*, которая позволяет «прочитать» нуклеотидную последовательность секвенируемого сегмента ДНК. Сейчас дидезоксинуклеотиды метят четырьмя разными флуоресцентными красителями и проводят ПЦР в одной пробирке. Затем во время электрофореза в полиакриламидном геле луч лазера в определенном месте геля возбуждает флуоресценцию красителей, и детектор определяет, какой нуклеотид в настоящий момент мигрирует через гель. Современные приборы используют для секвенирования ДНК капиллярный электрофорез.

Итак, **секвенирование нуклеиновых кислот — это определение их первичной нуклеотидной последовательности.** Процесс подготовки проб: фрагменты ДНК, которые необходимо «прочитать» многократно копируются, затем нарезаются на короткие отрезки, которые будут служить матрицей для комплиментарных цепочек ДНК и очищаются.

Задачи генетического анализа:

— расшифровка абсолютно неизвестных последовательностей ДНК, например, генома какого-нибудь нового вида (секвенирование *de novo*);

— обнаружение индивидуальных отличий конкретного образца от обобщенной последовательности, которая в общих чертах уже известна (*ресеквенирование*);

— анализ генетических полиморфизмов, включая однонуклеотидные (*SNP-типирование*);

— анализ эпигенетических модификаций ДНК, например, профиля метилирования;

— анализ профиля экспрессии отдельных клеток секвенированием кДНК, полученной из тотальной мРНК клетки, например, для диагностики вирусных и раковых заболеваний и др.

Классификация генетических анализаторов.

По гомогенности пробы:

— *гомогенная проба* (очищенный раствор молекул НК, полученных из одного источника, одинаковой структуры и практически одинаковой длины) — *классические секвенаторы*;

— *негомогенная проба* (библиотека молекул НК, которые могут отличаться по длине, по структуре и могут быть получены из различных источников) — *NGS — секвенаторы*.

По длине прочтений:

— короткие чтения;

— средние чтения;

— длинные чтения.

По используемой технологии:

— метод Маскама и Гилберта (химический);

— технология по методу Сэнгера;

— метод пиросеквенирования;

— технология *454*;

— технология *ionTorrent*;

— технология *SOLiD*;

— технология *Solexa*;

— технология *WildFire*.

По количеству отдельных чтений за запуск.

По количеству одновременно анализируемых образцов (мультиплексирование).

По времени, необходимому на запуск.

По дополнительным требованиям.

По стоимости секвенатора.

По стоимости одного запуска.

По стоимости анализа отдельной пробы.

По методам генетического анализа.

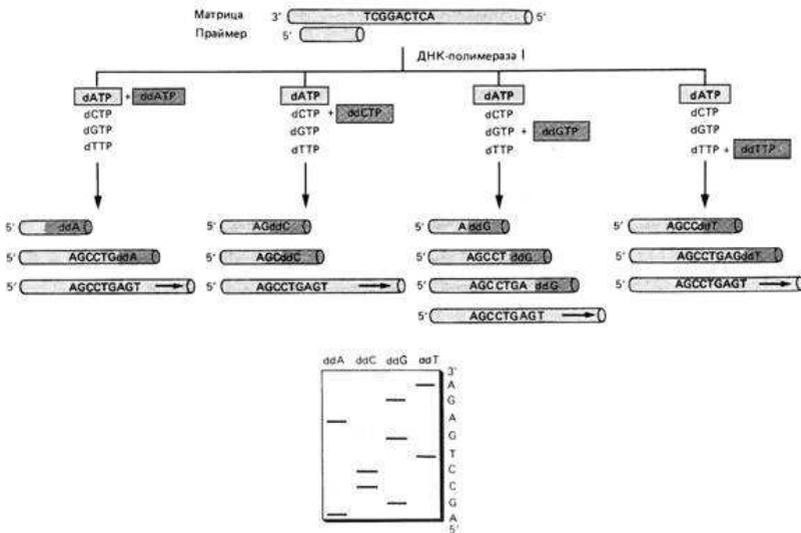
Методы секвенирования.

Метод Маскама и Гилберта (химический) — один из методов, основанных на химической деградации ДНК. Он был предложен в 1976 году Максамом и Гилбертом и назван их именем.

Суть метода сводится к следующему: один из концов фрагмента ДНК метят с помощью изотопа фосфора ^{32}P . В последнее время вместо радиоактивной вводят флюоресцирующую метку. Ее можно «цеплять» и к нуклеотидам, причем для каждого типа нуклеотидов подбирать различную окраску. Препарат меченой ДНК делят на четыре порции и каждую из них обрабатывают реагентом, специфически разрушающим одно или два из четырех оснований, причем условия реакции подбирают таким образом, чтобы на каждую молекулу ДНК приходилось лишь несколько повреждений. Разрушение идет в 2 этапа. На первом этапе происходит модификация азотистого основания и последующее выщепление его. На втором этапе производят гидролиз ДНК в местах выщепления оснований. Пуриновые основания модифицируются диметилсульфатом. Адениновые остатки метилируются по третьему атому азота, гуаниновые — по положению N7. Если такую модификацию обработать 0,1 М HCl при 0°C, то выщепляется метиладенин. При последующей инкубации в щелочной среде (0,1 М NaOH) при температуре +90°C происходит разрушение сахарофосфатной связи в местах выщепления оснований. Обработка поврежденных молекул пиперидином приводит к гидролизу ДНК по остаткам метилгуанина. Пиримидиновые основания модифицируются гидразином. В бессолевой среде модифицируется и цитозин, и тимин, в присутствии 2 М NaCl модифицируется только цитозин. При дальнейшей обработке пиперидином происходит расщепление ДНК по точкам модификации. Можно использовать и другие реакции химической модификации оснований и расщепления по ним молекул ДНК. В результате получается набор меченых фрагментов, длины которых определяются расстоянием от разрушенного основания до конца молекулы. Фрагменты, образовавшиеся во всех четырех реакциях, подвергают электрофорезу в четырех соседних дорожках; затем проводят радиоавтографию, и те фрагменты, которые содержат радиоактивную метку, оставляют

отпечатки на рентгеновской пленке. По положению отпечатков можно определить, на каком расстоянии от меченого конца находилось разрушенное основание, а зная это основание — его положение. Так набор полос на рентгеновской пленке определяет нуклеотидную последовательность ДНК. Аналогично наблюдают флюоресцентное окрашивание. Если для каждого из четырех нуклеотидов был подобран свой цвет флюоресцентной метки, то при электрофорезе их наносят на 1 дорожку. Тогда расположение нуклеотидов отмечено штрихами разного цвета, а процедуру считывания легко автоматизировать.

Классический метод Сэнгера (ферментативный).



Ферментативный метод секвенирования ДНК

Метод секвенирования НК путем *обрыва цепи* основан на синтезе новой ДНК-цепи на анализируемой ДНК-матрице с участием ДНК-полимеразы в присутствии праймера и смеси дезоксирибонуклеотидтрифосфатов (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) и на случайном обрыве синтезируемой цепи при встраивании одного из меченных разными флуоресцентными красителями ди-

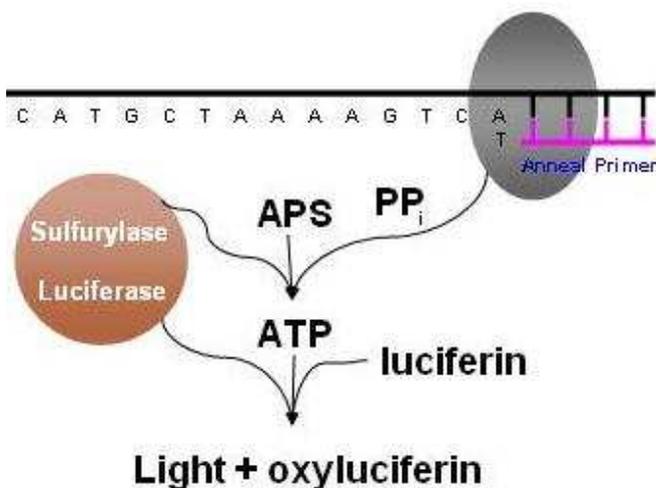
дезоксинуклеотидов (ddATP, ddGTP, ddCTP, ddTTP). Поскольку *обрыв цепи* происходит статистически, то получается весь набор ДНК-фрагментов, отличающихся между собой по длине всего на один нуклеотид. Затем полученная смесь ДНК-фрагментов обрабатывается формамидом для расхождения цепей и подвергается капиллярному электрофорезу в полиакриламидном геле, в результате чего фрагменты распределяются по длине. Сканирование лазером, возбуждающим флуоресценцию красителей, которыми были помечены ди-дезоксинуклеотидфосфаты, позволяет определить последовательность нуклеотидов исходной молекулы НК.

Реакционная смесь, по Сэнгеру, состоит из цепи ДНК, нуклеотидную последовательность которой надо определить, короткого фрагмента меченой ДНК, комплементарной концевому отрезку этой цепи (затравка), одного из четырех ddNTP и соответствующего dNTP в строго определенном соотношении (чтобы они конкурировали), а также остальных трех dNTP. Готовят четыре смеси, каждая из которых содержит один из четырех ddNTP. В каждой из пробирок образуется набор меченых фрагментов разной длины. Длина их зависит от того, в каком месте в цепь включен дефектный нуклеотид. Полученные меченые фрагменты ДНК разделяют в полиакриламидном геле (с точностью до одного нуклеотида), проводят радиоавтографию и по картине распределения фрагментов в четырех пробах устанавливают нуклеотидную последовательность ДНК. В настоящее время определение точной нуклеотидной последовательности любого сегмента ДНК умеренной длины — вполне разрешимая задача. Уже определена последовательность нескольких сотен генов про- и эукариот. Зная последовательность гена и генетический код, легко определить аминокислотную последовательность кодируемого им белка. Раньше для определения структуры белка приходилось делать тщательный и весьма трудоемкий анализ выделенного и очищенного белка. Сейчас часто бывает проще определить структуру белка через нуклеотидную последовательность, чем с помощью прямого секвенирования. Если секвенирование белка занимает месяцы и даже годы, то ДНК удастся секвенировать за несколько недель. Определение последовательности ДНК привело также к тому, что были обнаружены области, которые не кодируют белки, но принимают

участие в регуляции экспрессии генов и репликации ДНК. В 1996 году был секвенирован геном дрожжей, в 1998 г. — геном арабидопсиса, в 2000 году — геном человека, однако в данном случае речь идет только об установлении последовательности нуклеотидов, так как генетическая структура и функции отдельных участков генома еще не идентифицированы — это более сложная задача.

Сразу вслед за разработкой быстрых методов секвенирования появились быстрые и простые методы синтеза сравнительно длинных олигонуклеотидов с определенной, заранее заданной последовательностью. Теперь за три-четыре дня можно синтезировать последовательность из 12–20 нуклеотидов. Автоматизация этой процедуры еще более облегчает и ускоряет синтез. Появились приборы — ДНК-синтезаторы, которые выполняют эту работу за несколько часов. В классических секвенаторах для анализа используется гомогенная проба. Обычно до начала секвенирования производят амплификацию участков ДНК, последовательность которых требуется определить, при помощи ПЦР. В результате получается гомогенная проба одинаковых ДНК-фрагментов. Негомогенность исходной пробы, или ошибки в ходе ПЦР-реакции могут привести к тому, что не удастся однозначно определить генетическую структуру молекулы нуклеиновой кислоты.

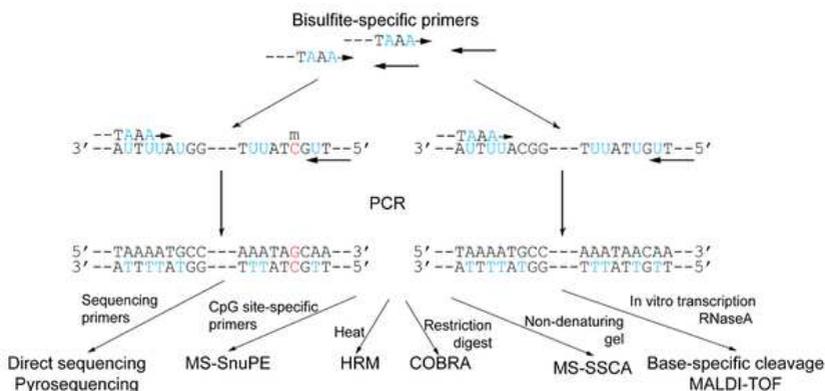
Метод пиросеквенирования.



Система реакций пиросеквенирования

Метод секвенирования НК основан на синтезе новой ДНК-цепи на *иммобилизированной* анализируемой ДНК-матрице с участием ДНК-полимеразы в присутствии праймера при последовательном добавлении каждого дезоксинуклеотидтрифосфата (dATP, dGTP, dCTP, dTTP). При встраивании нуклеотида *стехиометрически* высвобождается пирофосфат (PPi). Пирофосфат (PPi) ферментом АТР-сульфурилазой в присутствии аденозин-5'-фосфосульфата (dATP α S) превращается в АТР, которая является *топливом* для фермента люциферазы, превращающей люциферин в оксилуциферин с испусканием света. Свет регистрируется камерой и далее анализируется компьютерной программой. Невстроенные нуклеотиды подвергаются деградации ферментом апиразой, и реакция начинается с новым нуклеотидом. Добавим: метод разработан шведским ученым П. Ниреном и др. (1985–1990).

Бисульфитный метод.

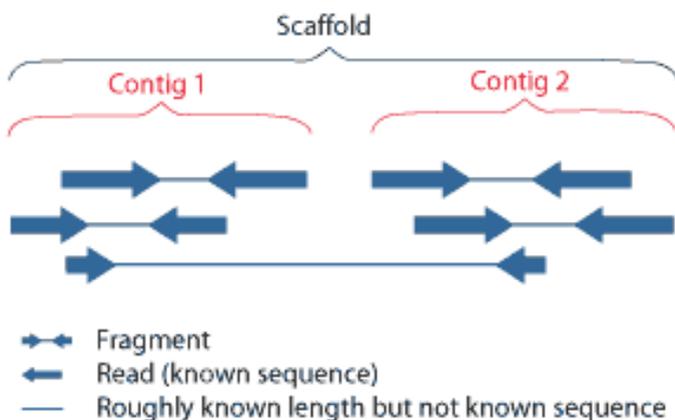


Бисульфитный метод

Метод для определения паттерна (профиля) метилирования ДНК, основанный на бисульфитной обработке ДНК, превращающей остатки цитозина в остатки

урачила, но не затрагивающей метилированные остатки 5-метилцитозина. Дальнейший анализ сводится к различению однонуклеотидных полиморфизмов, и к разделению цитозинов и тиминов в прочитанных последовательностях.

Что касается *сборки сиквенсов*, то отметим здесь метод дробовика (шотган-секвенирование/клонирование), который может применяться для сборки сиквенсов протяженных фрагментов ДНК, в том числе, хромосом и геномов — ДНК случайным образом фрагментируют. Полученные мелкие сегменты секвенируют обычными методами, например, методом Сэнгера. Новые последовательности перекрывающихся случайных фрагментов ДНК собирают с помощью специальных программ в одну большую последовательность. Существенную трудность при сборке представляют повторяющиеся последовательности ДНК, так как они имеют участки перекрывания с большим числом фрагментов. Для геномов прокариот и низших эукариот метод дробовика оказался подходящим. Геном человека содержит огромное количество (больше половины) разного типа повторяю-



Перекрывающиеся фрагменты образуют контиги

щихся последовательностей. Поэтому для получения совершенной сборки необходимо применение протяженных геномных клонов.

Сборка при помощи протяженных геномных клонов проводится в несколько этапов. Вначале необходимо создать несколько геномных библиотек с покрытием 5–10 эквивалентов генома. Затем клоны организуют в *контиги*. **Контиг — это совокупность взаимно перекрывающихся геномных клонов.** Для сборки контигов обычно используют геномный *фингерпринтинг*. Этот метод подразумевает разрезание ДНКклонов специальными ферментами — *рестриктазами* и *блотгибридизацию* по Саузерну с использованием в качестве зондов *минисателлитных* последовательностей (небольших повторов с повторяющейся единицей 7 и более нуклеотидов, имеющих свыше 1000 сайтов локализации в геноме человека). В результате получается индивидуальный набор гибридизующихся с зондом фрагментов для каждого клона. При этом совпадение длин нескольких фрагментов двух клонов свидетельствует о наличии участка перекрывания. Попарное определение участков перекрывания позволяет получить контиг, соответствующий достаточно протяженному участку хромосомы. Затем методом FISH определяют локализацию контигов на хромосоме. Протяженные геномные клоны фрагментируют с использованием рестриктаз. Полученные последовательности длиной 500–700 п. н. встраивают в плазмидные векторы. Эта процедура называется *субклонированием*. Затем субклонированные последовательности секвенируют и при помощи компьютерных программ собирают сиквенс всего геномного клона. Объединив сиквенсы геномных клонов, получают сиквенсы контигов, а объединив последние — сиквенсы хромосом. Следует отметить, что некоторые районы хромосом, состоящие почти исключительно из повторов (например, центромерные районы), технически не поддаются клонированию и секвенированию и образуют пробелы (гэпы) на картах геномов.

Вопросы и задания по материалам Темы 12

1. Что такое полимеразная цепная реакция и когда она применяется?
2. Расскажите об основных принципах полимеразной цепной реакции.

3. Что такое *секвенирование нуклеиновых кислот*?
4. Что представляют собой задачи генетического анализа?
5. Дайте представление о классификации генетических анализаторов.
6. Подготовьте сообщения о методах секвенирования (по выбору).
7. Что такое *сборка сиквенсов*?
8. Что такое *контиг*?

Тема 13. Системная биология и биоинформатика: принципы, подходы, перспективы

История новых направлений науки.
Новые подходы в биологии.
Системность как свойство и принцип.
Биология и прикладная математика.

Системная биология — междисциплинарное научное направление, образовавшееся на стыке биологии и теории сложных систем, и ориентированное на изучение взаимодействий в живых системах. Добавим, очень активно развивающееся научное направление. Системная биология — наука, изучающая саморегуляцию и целостность живых существ и занимающаяся выявлением функциональной организации всего живого, начиная с молекулярного уровня, поднимаясь через биологические каскады (петли обратной связи, триггеры) до масштаба тканей и выше. Фактически, системная биология — разделом физиологии, использующий инструментарий информатики и теории сложных систем, математики, физики и химии.

Впервые термин появился в 1993 году, но широкое распространение получил после 2000-го года. Сегодня везде говорят, что в системной биологии используется новый подход: *холизм* вместо *редукционизма*.

Холизм (от др.-греч. ὅλος — целый, цельный) — в широком смысле, особая позиция в философии и вообще науке, исходящая из *качественного своеобразия и приоритета целого по отношению к его частям*.

Онтологический принцип холизма: целое всегда есть нечто большее, чем простая сумма его частей. С холистической позиции, весь мир — единое целое, а выделяемые отдельные явления и объекты имеют смысл только как часть общности. В связи с этим,

представителями холизма делался вывод, что развитие мира должна направлять некая внешняя по отношению к нему сила.

В гносеологии холизм опирается на принцип: познание целого должно предшествовать познанию его частей.

Редукционизм (от лат. *reductio* — возвращение, приведение обратно) — методологический принцип, согласно которому сложные явления могут быть полностью объяснены с помощью законов, свойственных явлениям более простым (например, социологические явления объясняются биологическими или экономическими законами). Редукционизм абсолютизирует принцип редукции (сведения сложного к простому и высшего к низшему), игнорируя появление **эмерджентных свойств** в системах более высоких уровней организации. Хотя обоснованная редукция может быть плодотворной (пример — планетарная модель атома).

Современная системная биология обращает внимание на эмерджентные **свойства, то есть свойства биологических систем, которые невозможно объяснить только с точки зрения свойств ее компонентов**. Отсюда: задачами системной биологии являются исследование и моделирование свойств сложных биологических систем, которые нельзя объяснить суммой свойств ее составляющих. Для биологов, медиков, генетиков важно, что это еще и та область исследований, которая посвящена изучению взаимодействий между составляющими биологических систем, исследованию того, как эти взаимодействия приводят к появлению функций и характеристик систем (например, взаимодействие *метаболитов* и *ферментов* в метаболических системах).

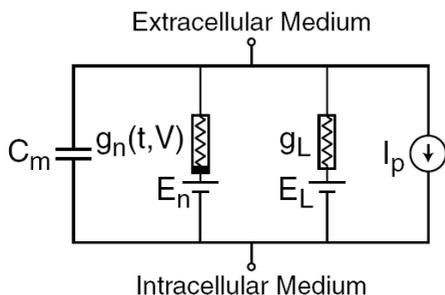
Системная биология для сбора численных данных использует такие уже известные нам методики как транскриптомика, *метабономика*, протеомика и др.



Карл Людвиг фон Бергаланфи

Одним из основателей системной биологии можно считать Людвиг фон Бергаланфи⁴³, создателя общей теории систем, автора книги «Общая теория систем в физике и биологии», опубликованной в 1950 году.

Одной из первых численных моделей в биологии является модель британских нейрофизиологов и лауреатов нобелевской премии (в области физиологии и медицины за 1963 год) Ходжкина и Хаксли. В 1952 году они создали математическую модель, объясняющую распространение потенциала действия вдоль аксона нейрона [в гигантском аксоне кальмара]. Их модель описывала



Основные компоненты модели Ходжкина-Хаксли

механизм распространения потенциала как взаимодействие между двумя различными молекулярными компонентами: каналами для калия и натрия, что как раз и можно рассчитать как начало вычислительной системной биологии.

⁴³ **Карл Людвиг фон Бергаланфи** (1901–1972) — австрийский биолог. Первооснователь обобщенной системной концепции под названием «Общая теория систем». Постановщик системных задач в сфере разработки математического аппарата описания типологически несходных систем. Исследователь изоморфизма законов в различных сегментах научного знания.

Первая работа по системной биологии, как самостоятельной дисциплине, была представлена системным теоретиком Михайло Месаровичем⁴⁴ в 1966 году на международном симпозиуме в Институте технологии в Кливленде (США, штат Огайо) под названием «Системная теория и биология».

В 60–70-х годах двадцатого века был разработан ряд подходов для изучения сложных молекулярных систем: теория контроля метаболизма, теория биохимических систем. Успехи молекулярной биологии в свое время привели к некоторому падению интереса к моделированию биологических систем. Тем не менее, рождение функциональной геномики в 1990-х годах привело к доступности большого количества



Михайло Месарович

данных высокого качества, что совместно с бумом в развитии вычислительной техники, позволило создавать более реалистичные модели. В 1997 году группа Масару Томита⁴⁵ опубликовала первую численную модель метаболизма целой (гипотетической) клетки. В течение 1990-х годов появляются концепции, модели и новые термины: *системная медицина* (апрель 1992), *системная биоинженерия* (июнь 1994) и *системная генетика* (ноябрь 1994).

В течение 2000-х годов, когда создавались первые институты системной биологии в Сиэтле и Токио, си-

⁴⁴ **Михайло Месарович** (род. 1928 г.) — сербский ученый, один из основателей теории систем.

⁴⁵ **Масару Томита** (род. 1957) — японский ученый, специалист в области молекулярной биологии и компьютерных систем.

системная биология вступила в свои права, будучи вовлеченной в различные геномные проекты, обрабатывая и интерпретируя данные из протеомики, метаболомики, помогая в интерпретации новых биоинформативных экспериментов.

Для верификации создаваемых моделей системная биология сегодня работает с самыми различными типами экспериментальных данных, описывающих как отдельные составляющие, так и системы в целом. Зачастую в качестве исходной информации для формулировки гипотез и выводов используются данные, полученные в других областях биологии: биохимии, биофизики, молекулярной биологии. Тем не менее, существует и ряд специфических методов, прочно ассоциируемых именно с системной биологией. Эти методы характеризует большое количество экспериментальных измерений и одновременное детектирование многих характеристик, что стало возможным с появлением современных автоматизированных потоковых методик экспериментов. Напомним:

— **геномика** — высокопроизводительные методы секвенирования ДНК, включая изучение вариабельности в различных клетках одного организма;

— **эпигеномика/эпигенетика** — изучение факторов транскрипции, не кодируемых в ДНК (метилирование ДНК, и т. д.);

— **транскриптомика** — измерение экспрессии генов, используя ДНК-микрочипы и другие методы;

— **интерферомика** — измерение взаимодействия транскрибируемых РНК;

— **протеомика/транслатомика** — измерение уровня белков или пептидов с использованием двумерного гель-электрофореза, масс-спектрометрии или многомерных методик измерения белков;

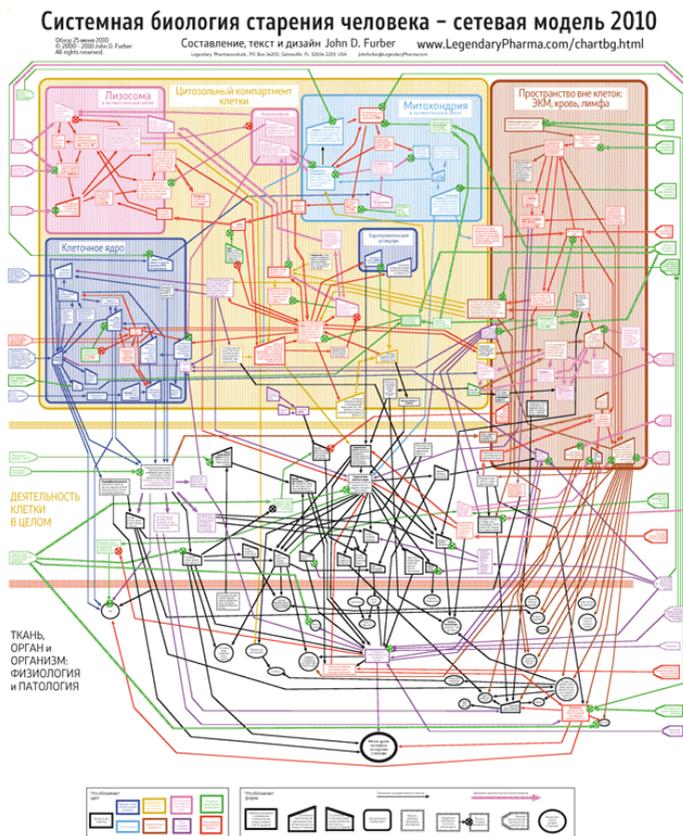
— **метабомика** — измерение концентраций так называемых малых молекул, метаболитов;

— **гликомика** — измерение уровня углеводов.

— **липидомика** — измерение уровня липидов.

Надо сказать, что существуют и методы, позволяющие измерять динамику характеристик во времени и взаимодействие между компонентами:

— **интерактомика** — измерение взаимодействий между молекулами (например, измерение белок-белковых взаимодействий: PPI);



Системная биология старения человека

— **флаксомика** — измерение динамики потоков и концентраций во времени (как правило, метаболитов);

— **биомика** — системный анализ биома.

Вообще исследования в области системной биологии сегодня заключаются, в основном, в разработке механистической модели сложной биологической системы, то есть модели, сконструированной на основе количественных данных об элементарных процессах, составляющих систему. Из-за сложности объекта изучения, большого количества параметров, переменных и уравнений, описывающих биологическую систему, современная системная биология немислима без использования компьютерных технологий — для решения систем нелинейных уравнений, изучения устойчивости и чувствительности системы, определения неизвестных параметров уравнений по экспериментальным данным. Инновационные компьютерные технологии оказывают существенное влияние на развитие системной биологии. В частности, использование исчисления процессов, автоматических средств поиска информации в публикациях, вычислительная лингвистика, разработка и наполнение общедоступных баз данных.

В рамках системной биологии ведется работа над созданием собственных программных средств для моделирования и универсальных языков для хранения и аннотации моделей. В качестве примера можно привести SBML, CellML (расширения XML для записи моделей), а также SBGN (язык графического представления структуры взаимодействий элементов биологических систем). Наш разговор, как видим, приблизился к **биоинформатике**, или **вычислительной биологии** — одному из разделов биологии, предметом которого являются молекулярные процессы (только исследования проводятся не *in vitro*, а *in silico* — не в пробирке, а при помощи компьютеров).

Итак, *под биоинформатикой понимают любое использование компьютеров и программного обеспечения для анализа биологических данных*. Но на практике часто это понятие сужается и включает в себя только использование компьютеров для обработки экспериментальных данных по структуре биологических макромолекул (белков и нуклеиновых кислот) с целью получения биологически значимой информации.

В биоинформатике, конечно же, используются методы прикладной математики, статистики и информатики. Исследования в области биоинформатики и системной биологии зачастую пересекаются: основные усилия исследователей, работающих в области биоинформатики, направлены на изучение геномов, анализ и предсказание структуры белков, предсказание взаимодействий различных белков друг с другом и другими молекулами, а также реконструкция процессов эволюции.

Биоинформатика помогает ученым [используя последовательности ДНК], прогнозировать структуры и возможные функции кодируемых ими белковых молекул и связывает геномные и протеомные проекты. Кроме того, следует отметить и роль биоинформатики в процессе маркировки генов и других объектов в последовательности ДНК.

Методы биоинформатики активно используются биологами-эволюционистами для решения целого ряда задач:

- изучение эволюции большого числа организмов, включая эволюцию молекул ДНК, а не только строения или физиологии;

- сравнение целых геномов, что позволяет изучать такие явления, как дупликация генов, горизонтальный перенос генов и предсказывать бактериальные специализирующие факторы;

- построение компьютерных моделей популяций с целью предсказания поведения систем во времени.

Вопросы и задания по материалам Темы 13

1. Что такое системная биология?
2. Что такое биоинформатика?
3. Дайте представление о *хололизме*.
4. Расскажите о *редукционизме*.
5. В чем причины появления вышеперечисленных наук (отраслей науки)?
6. В чем заключается их интегративность и междисциплинарность?
7. Заполните пропуски в следующих утверждениях:
 - с целью размножения (амплифицирования) и получения в чистом виде тех или иных генов, фрагменты эукариотической ДНК могут быть встроены в специально подготовленные бактериальные вирусы или плазмиды, называемые _____.
 - Отдельная колония бактерий, которая содержит плазмиду с включенным в нее фрагментом ДНК человека или другого живого организма, называется _____; набор таких бактерий, представляющий весь геном человека или другого живого организма, составит _____.
 - Считается, что мутации, не наследуемые согласно правилам Менделя, проявляют _____ и локализованы, по-видимому, в генах органелл.
 - В генах высших эукариот короткие сегменты кодирующей ДНК, которые называются _____, обычно разделены длинными последовательностями некодирующей ДНК, которые называются _____.

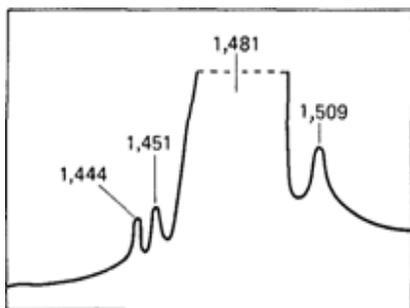
Тема 14. Геном человека: молекулярная структура и организация

Последовательности ДНК.

Гетерогенность.

Паралогия и ортология.

Последовательности, однократно представленные в геноме, являются уникальными. Больше половины генома человека представлено повторяющимися в разной степени последовательностями или повторами. Они могут быть более или менее равномерно распределены по геному (*дисперсные повторы*) или быть приуроченными к отдельным районам хромосом (*консолидированные повторы*). К числу последних относят так называемые *сателлиты* — последовательности, которые при центрифугировании в *градиенте* плотности составляют отдельный пик. Их назвали сателлитами (спутниками) именно потому, что соответствующий им пик сопутствует основному. У человека, как и у всех млекопитающих, сателлитная ДНК обогащена АТ-парами и имеет меньшую плавучую плотность по сравнению с тотальной ДНК. В прицентромерных районах всех хромосом человека присутствует альфасателлитная ДНК или альфаидная ДНК, имеющая длину повторяющейся



Сателлитная ДНК человека.

единицы 171 п. н. Она является основным структурным компонентом центромеры и формирует *прицентромерный гетерохроматин*. Некоторые различия по нуклеотидной последовательности в раз-

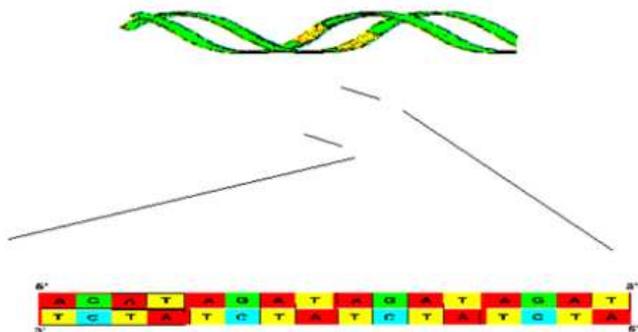
ных хромосомах позволяют использовать альфоидную ДНК в качестве хромосомоспецифического зонда для FISH (например, при пренатальной диагностике на интерфазных клетках). Встречается и индивидуальный полиморфизм числа повторов альфоидной ДНК, не имеющий фенотипического проявления. Бета-сателлитная ДНК, имеющая длину повторяющейся единицы 68 п.н., присутствует в центромерных районах HSA 1, 9, 13, 14, 15, 21, 22 и Y.

Сателлиты представляют собой *тандемные повторы* — повторяющиеся единицы следуют друг за другом и одинаково ориентированы. В инвертированных повторах единицы ориентированы в противоположных направлениях.

Кроме классических сателлитов в геноме человека присутствуют **мини- и микросателлиты**.

Минисателлиты — *тандемные повторяющиеся последовательности с единицей 10–60 п. н., имеющей центральный мотив ГТТЦАГТА*Г*. Они локализованы более чем в 1500 сайтах и отличаются значительной вариабельностью из-за часто происходящего неравного кроссинговера, что, собственно, характерно для всех тандемных повторов. При блот-гибридизации по Саузерну фрагментированной ДНК с минисателлитными зондами выявляется индивидуальный рисунок — геномный отпечаток, который может быть использован для идентификации личности и установления отцовства

Микросателлиты — *короткие тандемные повторы с длинной повторяющейся единицы 1–6 п. н.* Отличаются значительным полиморфизмом и большим числом равномерно распределенных по геному локусов (около 100000). Эти обстоятельства сделали микросателлиты универсальными маркерами для генетического картирования, идентификации личности, установления родства. Поскольку микросателлиты имеют приемлемую

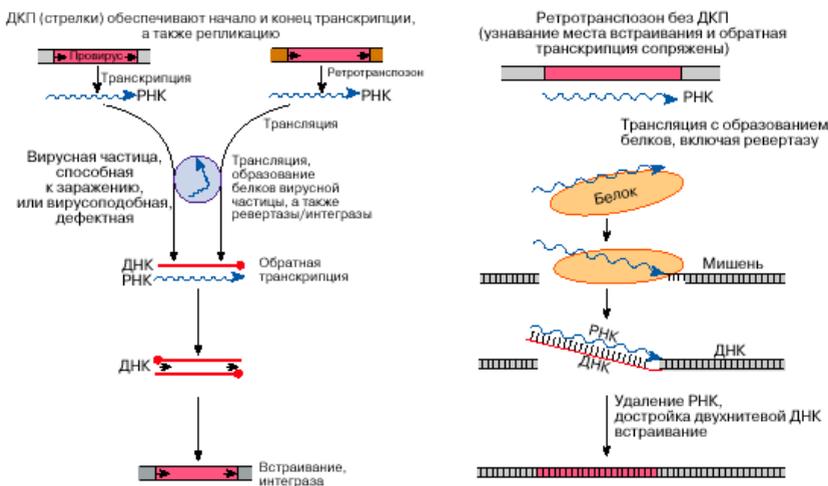


Организация тандемного повтора из четырех азотистых оснований на участках комплементарных цепей ДНК

для ПЦР-амплификации длину и с двух сторон фланкированы уникальной ДНК (где можно расположить индивидуальные праймеры), процедура определения аллелей таких полиморфных маркеров достаточно проста и поддается автоматизации. Используя разные флуорохромы, можно одновременно в одной пробирке анализировать полиморфизм сразу нескольких микросателлитных локусов. Анализ длин амплифицированных фрагментов обычно проводят при помощи капиллярного электрофореза с лазерным сканированием, что позволяет выявить различия до одного нуклеотида.

К консолидированным повторам относят также гены рРНК, образующие *кластеры* (группы повторяющихся единиц) в районах вторичной перетяжки короткого плеча хромосом группы D (HSA 13–15) и группы G (HSA 21 и 22).

В отличие от консолидированных повторов дисперсные повторы расположены поодиночке, в разных участках генома. Одна и та же повторяющаяся единица может находиться в тысячах различных сайтов. К дисперсным повторам относят гены транспортной РНК,



Перемещения транспозонов

транспозоны и *псевдогены*, не содержащие *интронов* копии генов, возникшие, в основном, путем обратной транскрипции. Из числа транспозонов в геноме человека наиболее широко представлены *длинные интерсперсные повторы (LINE)* — 850000 копий и 21% генома, *короткие интерсперсные повторы (SINE)* — 1500000 копий и 13% генома, *ретротранспозоны с длинными концевыми повторами (LTR)* — 443000 копий и 8% генома, и ДНК-транспозоны — 300000 копий и 3% генома. К группе LINE относят последовательности длиной около 5 т. п. н., которые содержат промотор, узнаваемый РНКполимеразой II, ген обратной транскриптазы и иногда гены РНКазы H. На 3'-конце находится сигнал полиаденилирования (AATAAA) и полиА-хвост. У человека имеется только одно семейство повторов LINE — L1.

Короткие интерсперсные повторы SINE представляют собой последовательности до 500 п. н. и содержат

обратные транскрипты фрагментов тРНК, рРНК и мРНК. У приматов, в том числе и у человека, значительная часть SINE представлена Alu-повторами, имеющими длину 280 п. н. и не содержащими генов.

Неоднородность распределения по геному ГЦ- и АТ-обогащенных районов, то есть композиционная гетерогенность ДНК — одна из наиболее важных характеристик молекулярной организации геномов. Более сорока лет назад Бернард и сотрудники (см. выше) при исследовании генома мыши *Mus musculus* обнаружили, что комплекс ДНК и серебра может быть разделен с помощью равновесного центрифугирования в градиенте плотности Cs_2SO_4 по частоте сайтов на молекуле ДНК, связавших серебро. Это открытие позволило с высокой точностью разделять ДНК на фракции. Дальнейшее изучение этих фракций ДНК привело к открытию четкой композиционной гетерогенности ДНК. Композиционно гомогенные сегменты ДНК, принадлежащие к небольшому числу семейств, различающихся по плавучей плотности, были названы *изохорами*. Фракционирование ДНК по *плавучей плотности* при центрифугировании фрагментов ДНК в градиенте Cs_2SO_4 (или сахарозы) было выявлено у большого числа видов животных. Это отражает гетерогенность ДНК по нуклеотидному составу: АТ-богатые последовательности обладают большей плавучей плотностью, чем ГЦ-богатые. Относительные количества ДНК в семействах *изохор* формируют так называемый композиционный изохорный паттерн генома (также он называется геномным фенотипом), т. е. характерный «рисунки» из изохор, являющийся специфичным для каждого отряда или семейства. У человека были выявлены два «легких» семейства изохор: L1 (1,698 г/см³) и L2 (1,700 г/см³), и три «тяжелых»: H1 (1,704 г/см³), H2 (1,708 г/см³) и H3 (1,712 г/см³). У че-

ловека семейства L1 и L2 составляют свыше 62% всего генома; H1 — 22%, H2 — 9%, семейство H3 составляет около 3% генома.



Повторяющиеся последовательности генома человека

Наибольшее значение с точки зрения структурно-функциональной организации генома имеет вопрос о связи различных семейств изохор с кодирующими последовательностями ДНК и особенностями их экспрессии. В первых исследованиях этого вопроса было показано, что большинство из 40 взятых в анализ генов человека расположены в ГЦ-богатых семействах. Впоследствии локализация *in silico* (путем компьютерного анализа) более 14000 генов человека привела исследователей к тому же самому выводу, позднее подтвержденному на еще больших выборках кодирующих последовательностей.

Привлечение дополнительного критерия — процентного содержания гуанина или цитозина в третьем положении кодона (ГЦ3-уровень) — помимо молярного

отношения ГЦ и АТ (ГЦ-уровень), и статистический анализ последовательностей ДНК из геномных баз данных человека и шпорцевой лягушки (*Xenopus laevis*) позволили установить, что гены *домашнего хозяйства*.

— преимущественно локализованы в ГЦ-богатых семействах изохор;

— не составляют большинства генов в ГЦ-богатых семействах изохор;



*Шпорцевая лягушка
(Xenopus laevis)*

— являются не менее ГЦ₃-обогащенными, чем тканеспецифические гены.

Повышенное содержание кодирующих последовательностей, более высокий уровень рекомбинации, большое число ГЦ-обогащенных коротких *интерсперсных повторов* (SINE) в тяжелых

изохорах, в то время как в легких локализовано значительно меньше генов, ниже уровень рекомбинации и находятся почти исключительно ГЦ-обедненные длинные интерсперсные повторы (LINE), дает основание говорить об **изохорах как структурно-функциональных единицах организации генома**. Границы между тяжелыми и легкими изохорами на примере исследованного в отношении композиционного состава на молекулярном уровне кластера генов *гистосовместимости* (MHC) человека являются более чем композиционными структурами — *временные границы репликации в фазе S клеточного цикла практически точно соответствуют физическим границам локализации изохор*.

Композиционное картирование — это изучение распределения по длине хромосом различных семейств

изохор. Особый интерес представляет соотнесение композиционных и цитогенетических карт хромосом, выявление приуроченности фракций изохор к морфологическим (центромера, теломера) и цитохимическим (G/R-блоки) маркерам. Не побоимся повториться: различают **«хромосомное» композиционное картирование** (методом гибридизации *in situ* различных фракций изохор на хромосомах в присутствии конкурирующей ДНК, которая позволяет почти полностью исключить неспецифическую гибридизацию повторов) и **«молекулярное»** — путем локализации генов во фракциях изохор методом ПЦР или блот-гибридизации по Саузерну.

У млекопитающих неоднородное распределение разных семейств изохор. Самые «тяжелые» изохоры H3 расположены в T-дисках (преимущественно прителомерные R-диски, с наиболее ярко выраженными структурно-функциональными характеристиками этой группы), которые характеризуются наибольшей концентрацией генов, особенно генов домашнего хозяйства и онкогенов. Наблюдается общая тенденция приуроченности легких фракций к G-дискам (относительно инертные, *позднореплицирующиеся*, выявляемые при окрашивании красителем Гимзы), где значительно ниже концентрация генов, чем в R-дисках (обратные G-дискам, *раннореплицирующиеся*, относительно функционально активные) и расположены преимущественно тканеспецифические гены, а тяжелых изохор — к R-дискам. Так, у человека T-диск представлены самым тяжелым семейством изохор H3 и частично семействами H2 и H1, R'-диск (R-диск за исключением из их числа T-дисков) — семейством H1 с минорным участием семейств H2 и H3 и семействами легких изохор L1 и L2, а G-диск — семействами L1 и L2 с минорным компонентом H1. У домового мыши мажорным компонентом T-дисков являются изохоры семейства H2, R'-диск представлены преимущественно изохорами семейства H1 с незначительным участием L1 и L2, а G-диск — почти исключительно семействами легких изохор L1 и L2. В интерфазных ядрах — относительно друг друга полярное расположение наиболее легких и наиболее тяжелых фракций изохор, что, по всей видимости, отражает близость ГЦ-богатых теломерных районов интерфазных хромосом.

Считается, что в ходе ранней эволюции часто происходили дубликации генов, что привело к быстрой дивергенции и специализации ферментативных реакций, определивших разнообразие жизненных форм на Земле. Увеличение размеров геномов, возникновение новых ферментативных реакций, формирование *цитоскелета*, появление комплексных путей метаболизма понимается как прямые следствия генной дубликации.

Понятие «**гомология**» применяют по отношению к двум структурам или последовательностям (нуклеотидным или аминокислотным), которые развились из одной предковой структуры или последовательности. Чтобы классифицировать различные типы гомологии, принято использовать термины «**ортология**» и «**паралогия**».

Ортологическими называются структуры или последовательности двух различных организмов, которые произошли из одной предковой структуры или последовательности, совсем не обязательно сохраняя функции их предшественника. Поскольку проследить эволюцию структур или последовательностей на практике не всегда представляется возможным, обычно эволюционный консерватизм структур или последовательностей служит основанием для того, чтобы считать их ортологическими. Пример ортологии — β -цепи *глобина* человека и домового мыши.

Понятие «паралогия» относится к структурам или последовательностям, возникшим в результате дубликации. Обычно это понятие применяют к гомологичным структурам или последовательностям в пределах одного генома. Например, β -цепь *глобина* человека является паралогом α -цепи *глобина* и *миоглобина* человека, поскольку они все произошли в результате последовательных дубликаций. Для серий паралогичных районов, которые могут считать-

ся происшедшими от одного предкового района, предложен термин «паралогон».

Копаралогам называются гены, принадлежащие к одному паралогону, независимо от того, являются ли они между собой паралогами или нет. **Общий предок районов, входящих в один паралогон, называется «протопаралогон».**

Каждый ген должен быть представлен четырьмя гомологичными последовательностями в любом геноме. Процессы дивергенции и специализации существенно изменяют структурные и функциональные характеристики гомологов, а дупликации и делеции — их число. Наличие большого числа паралогичных нуклеотидных последовательностей, представленных двумя или тремя генами, свидетельствует о возможной массовой потере генов после двух раундов дупликации в соответствии с вышеизложенной гипотезой. Локализация в паралогонах и сходство последовательностей двух или нескольких молекул ДНК может служить основанием для поиска их общего предшественника, как это показано на примере генов семейства WNT (гомологов *wingless-type* генов дрозофилы) человека.

Вопрос о том, насколько физическая кластеризация (локализация в одном хромосомном районе) отражает функциональную кластеризацию нуклеотидных последовательностей и, следовательно, возможна ли *коэволюция функциональноспециализированных районов хромосом*, обсуждается в течение нескольких последних лет. Активация отдельных районов хромосом в определенных клеточных линиях может быть объяснением природы паралогичных районов. Например, гены *ацетилхолинэстеразы* и *тироглобулина* имеют гомологию нуклеотидных последовательностей и расположены вблизи от генов нейропептида Y (HSA 7) и панкреатического полипептида Y (HSA 17) соответственно. Таким образом, два гена из паралогичного района хромосомы 7 экспрессируются в клетках нервной системы, а два гена соответствующего района хромосомы 17 — в

клетках иммунной системы. Анализ распределения генов, кодирующих белки, вовлеченные в различные функциональные комплексы, по длине хромосом человека позволяет установить соответствие некоторых паралогонов блокам генов, вовлеченных в один каскад реакций. Таким образом, паралогия может быть связана с функциональной специализацией отдельных районов хромосом.

В настоящее время известно 15 паралогонов человека (серий паралогических районов, имеющих происхождение от одного предкового района), которые включают более 1700 генов, что составляет около 5% от общего числа генов человека. Большинство генов, входящих в паралогоны, представляют обширные семейства, такие как *иммуноглобулины*, *ольфакторные рецепторы*, *антигены гистосовместимости (антитела)* и т. д.

На основании паралогии картирование генома может проводиться быстрее — зная локализацию одного представителя семейства генов и паралогию этого хромосомного района другим районам, можно предсказать три наиболее вероятных сайта локализации другого представителя того же генного семейства. Зная локализацию двух или трех генов семейства, можно предсказать соответственно два или один возможный район локализации.

Наряду с традиционными морфологическими подходами к изучению эволюционных отношений и механизмов данные сравнительного картирования хромосом позволяют делать выводы о путях эволюции — в этом случае участки хромосом разных организмов можно рассматривать как морфологические структуры, которые могут проявлять отношения гомологии и аналогии между собой. Быстрый прогресс геномного картирования, преимущественно на различных видах млекопитающих, позволил применить указанный подход и

выявить неожиданно высокий уровень эволюционного консерватизма хромосомных районов. Среди животных наиболее подробно феномены ортологии изучены в геномах человека и домового мыши. Выявлено 202 района ортологии, которые включают более 1800 кодирующих последовательностей. Наиболее детальная информация об эволюционном консерватизме хромосомных районов может быть получена при сравнении полностью секвенированных геномов или хромосом различных видов. В этом случае становится возможным выявление точек разрыва ортологии хромосомных районов с точностью до нуклеотида. Сравнение полной нуклеотидной последовательности хромосомы 16 домового мыши (хромосомы мыши *Mus musculus* обозначают ММУ, например, ММУ 16) и генома человека позволило охарактеризовать на молекулярном уровне эволюционный консерватизм ММУ 16 и HSA 3, HSA 8, HSA 12, HSA 16, HSA 21, HSA 22. Хромосома 16 была выбрана для сравнения, поскольку было известно, что есть протяженный участок ее гомологии (около 25 млн пар оснований) с хорошо охарактеризованной хромосомой 21 человека. В отношении кодирующих последовательностей ДНК с неизвестной функцией (ESTs) принят критерий ортологичности — более 80 % гомологии нуклеотидной последовательности на протяжении более 100 пар оснований. В данной работе показан эволюционный консерватизм локализации 11 822 кодирующих последовательностей со средним значением идентичности нуклеотидной последовательности 88,1 % и средней длиной ортологичных генов 198 пар оснований. В среднем на каждые 8 тыс. пар нуклеотидов приходился один консервативный маркер.

Помимо, безусловно, большого значения для теоретической биологии феномен ортологии оказался очень

полезен для картирования геномов, поскольку, основываясь на консерватизме изучаемых районов, можно экстраполировать данные по картированию генома, более изученного в этом отношении вида на менее изученный. Поскольку в настоящее время наиболее изученным видом является человек, выявление ортологии нуклеотидных последовательностей и хромосомных районов любого вида позвоночных животных и человека имеет особое значение.

Вопросы и задания по материалам Темы 14

1. Что такое *дисперсные повторы*?
2. Что такое *консолидированные повторы*?
3. Что такое *сателлиты*?
4. Расскажите о *мини и микросателлитах*.
5. Что представляют собой *изохоры*?
6. Подготовьте сообщения о *картировании*.
7. Подготовьте сообщения о *гомологии*.

Примерная тематика семинаров по Модюлю IV

История формирования геномики как научной отрасли современного знания за рубежом и в нашей стране.

Структурная геномика: история, проблематика.

Сравнительная геномика: сущность, задачи, структура.

Понятие о транскриптоме.

Изучение белков как особая область генетики.

Создание геномных библиотек.

Клонирование генов: этические и медицинские проблемы.

Геномные банки.

Принципы ПЦР.

Секвенирование ДНК.
Анализ методов секвенирования.
Сиквенсы и сборка сиквенсов.
Новые подходы в биологии — системная биология
и биоинформатика.
Системность как свойство и принцип.
Биология и прикладная математика.
Последовательности ДНК — общее представление.
Гетерогенность.
Паралогия и ортология в генетике.

Литература:

1. Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика. В 3-х томах. Пер. с англ. Том 1. Том 2. Том 3. — М.: Мир, 1988.
2. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки. В 5-ти томах. Пер. с англ. — М.: Мир, 1986.
3. Алиханян С. И., Акифьев А. П., Чернин Л. С. Общая генетика. Учебник для вузов. — М.: Высшая школа, 1985.
4. Гершензон С. М. Основы современной генетики. Учебник для вузов. — Киев: Наукова думка, 1979.
5. Инге-Вечтомов, С. Г. Генетика с основами селекции: учебник для студентов вузов / С. Г. Инге-Вечтомов. — 2-е издание, перераб. и доп. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2010.
6. Клаг У., Камингс М. Основы генетики. — М.: Техносфера, 2007.

Интернет-ресурсы:

<http://gslc.genetics.utah.edu/>
<http://www.mblab.gla.ac.uk/dictionary/>
<http://helios.bto.ed.ac.uk/bto/glossary/ab.htm#a>
<http://www.e-cell.org/>
<http://www.agbiotechnet.com>

Модуль V.

Основы медицинской генетики: наследственные болезни и диагностика наследственных заболеваний человека

Тема 15. Наследственные патологии

Общее понятие, классификации.

Хромосомные болезни.

Генные болезни.

Печальное многообразие видов нарушений.

Использование молекулярных маркеров.

Патология вообще — это любое отклонение от нормального течения биологических процессов — обмена веществ, роста, развития, размножения.

Можно уточнить иначе: патология — болезненное отклонение от нормального состояния или процесса развития. К патологиям относят процессы отклонения от нормы, процессы, нарушающие гомеостаз, болезни, дисфункции (патогенез). *В биологии* патология относится к исследованию структурных и функциональных изменений в клетках, тканях и органах при заболеваниях. *В медицине* патология — часто синоним заболевания.

Наследственная патология — отклонение от нормы с установленным фактом наследования, то есть передачи от поколения к поколению.

Следует различать **врожденную патологию** — присутствующую от рождения индивидуума — от **наследственной патологии**.

Врожденная патология может быть обусловлена и генетической природой, и воздействием факторов внешней среды — недостатком питательных веществ

и кислорода во время внутриутробного развития, родовыми травмами, инфекциями.

Чуть забегаая вперед, скажем: при семейных заболеваниях повторяемость той или иной патологии у членов семьи обычно является результатом влиянием внешней среды. Но, отметим — семейные случаи, так же, как и врожденные, могут быть обусловлены наследственными и ненаследственными факторами. Термином «семейный» мы пользуемся еще и в тех случаях, когда просто, к сожалению, неизвестно, является ли заболевание генетически детерминированным или оно обусловлено другими причинами.

Установление в соответствии с требованиями генетического анализа факта наследования аномального признака является единственным основанием признака наследственного характера патологии.

Итак, термин «наследственный» означает связь с наследственными структурами организма. Наследственным заболеванием называется такое патологическое состояние, которое вызывается мутацией, — стойкое изменение наследственной структуры, передающееся потомкам. Наследственное заболевание может быть и семейным, и врожденным, то есть проявиться у нескольких членов семьи и быть выраженным/замеченным уже при рождении. Но, важно знать: многие наследственные заболевания могут проявиться только в процессе развития организма, а иногда и в пожилом возрасте.

В настоящее время *медицинская и клиническая генетика* располагают целым рядом методов получения информации для выявления закономерностей, свойственных наследственным заболеваниям.

Каждый тип наследственной передачи признаков имеет свои характерные закономерности, которые необходимо четко понимать. На основе полученных достоверных данных **[при сборе родословной]** создается база для проведения генетического анализа. Цель подобного анализа заключается в следующем:

— дать оценку, является ли заболевание у *пробанда* единственным или встречается у нескольких членов семьи и носит ли однотипный характер по своим проявлениям;

— выделить лиц, имеющих сходные признаки, но нуждающихся в дополнительных исследованиях;

— установить тип наследования заболевания;

— оценить клинический прогноз и характер течения заболевания у *пробанда*;

— определить лиц, нуждающихся в медико-генетическом консультировании для установления степени риска медико-генетического прогноза;

— разработать план лечебных, диагностических и профилактических мероприятий для всех лиц, установленных в процессе генетического анализа.

В результате проведенного генетического анализа можно встретиться с разной группой наследственных болезней — **генными, хромосомными, мультифакториальными или связанными с однотипными неблагоприятными факторами внешней среды**. Не исключено, что проведенный анализ откроет новые типы заболеваний, которые открыты впервые!

Существует два типа классификации наследственной патологии. Первый (принятый преимущественно в России) — *клинический* тип. Согласно этому типу классификации существует четыре группы заболеваний:

— группа I — **собственно наследственные болезни**: хромосомные и генные заболевания (*синдромы Эдвардса и Патау, фенилкетонурия, муковисцидоз*);

— группа II — **болезни с выраженной наследственной предрасположенностью**, в патогенезе которых проявление наследственных факторов определяется действием специфических внешних обстоятельств (*артериальная гипертензия, сахарный диабет, подагра*);

— группа III — **заболевания, которые определяются преимущественно факторами внешней среды**, но в патогенезе которых некоторую роль играют наследственные факторы (*глаукома, атеросклероз, рак молочной железы*);

— группа IV — **болезни, к которым наследственность, на первый взгляд, не имеет отношения** (*пищевые отравления, переломы, ожоги*).

Отметить, употребление «спорадические» заболевания — они не имеют прямого отношения к наследственности. Спорадические случаи наблюдаются у отдельных индивидуумов, но могут быть обусловлены и редким сочетанием аллелей или возникшей *de novo* мутацией.

Вторая система классификации — *генетическая* — является общепринятой в зарубежной науке (в последнее время находит все более частое применение у нас). Согласно этой системе выделяют пять групп:

— группа I — **генные болезни, определяемые мутациями в определенных генах**. Это преимущественно моногенные признаки с аутосомно-доминантным, аутосомно-рецессивным, сцепленным с полом доминантным, сцепленным с полом *рецессивным, голландрическим* (*передача наследственной информации от отцов*) и *митохондриальным* типом наследования;

— группа II — **хромосомные болезни, т. е. геномные и хромосомные мутации**;

— группа III — **болезни с наследственной предрасположенностью**, в патогенезе которых играют роль средовые и наследственные факторы, имеющие моногенный или полигенный тип наследования (миопия, патологическое ожирение, язва желудка);

— группа IV — **генетические болезни соматических клеток**, зачастую связанные со злокачественными новообразованиями (*ретинобластома, опухоль Вильмса, некоторые формы лейкемии*);

— группа V — **болезни генетической несовместимости матери и плода**, которые развиваются в результате иммунной реакции матери на антигены плода

(несовместимость по резус-фактору и некоторым другим эритроцитарным системам антиген-антитело).

Наследственные заболевания могут начать свое проявление в разном возрасте. Характер манифестации (времени проявления первых симптомов болезни) является специфическим для разных форм наследственной патологии. Как правило, для наследственных заболеваний характерно хроническое (продолжительное) прогрессивное (с нарастанием степени выраженности симптомов) течение.

А теперь подробнее.

Хромосомные болезни



*Микроцефалия — головка
при рождении 28 см
(норма — 32)*

К этой группе относят заболевания, вызванные аномалиями числа или структуры хромосом. Около 1% новорожденных имеют аномальный кариотип, а среди мертворожденных встречаемость aberrаций числа или структуры хромосом — 20%.

Общими характерными чертами хромосомных болезней являются: низкий вес при рождении, задержка развития,

низкий рост, микроцефалия, микрогнатия, нарушения остеогенеза, аномальное расположение глаз (см. выше).

Генные болезни

Таковыми называют *патологические состояния, причиной которых являются генные мутации*. Чаще всего это понятие применяют к моногенным заболеваниям. Для этой группы характерна гетерогенность — одинаковые заболевания могут быть вызваны мутациями в разных ге-

нах. Общими принципами развития патологии на уровне генов могут быть следующие:

- выработка аномального белкового продукта;
- отсутствие нормального белка;
- недостаточное количество нормального белка;
- избыток нормального белкового продукта.

По характеру нарушений гомеостаза (постоянства внутренней среды организма) выделяют следующие группы генных болезней:

Болезни аминокислотного обмена

Это самая многочисленная группа наследственных болезней обмена веществ. Почти все они наследуются по *аутосомно-рецессивному* типу. Причина заболеваний — недостаточность того или иного фермента, ответственного за синтез аминокислот.

Фенилкетонурия (выше мы говорили) — нарушение превращения фенилаланина в тирозин из-за резкого снижения активности фенилаланингидроксилазы — аутосомно-рецессивное заболевание. Проявляется в возрасте 2–4 месяцев, первые симптомы — вялость, судороги, экзема, «мышинный» запах (запах кетонов). Постепенно развиваются тяжелые поражения головного мозга, приводящие к резкому снижению интеллекта вплоть до идиотии. Если с первых дней жизни полностью исключить (или существенно ограничить количество) фенилаланин из рациона больного ребенка до полового созревания, симптомы не развиваются. Болезнь обусловлена мутациями в гене *PAH*, который кодирует фенилаланин-4-гидроксилазу. Ген *PAH* локализован в HSA12q24.1. Описано несколько десятков мутаций этого гена в разных популяциях. Существуют диагностические системы на основе ПЦР, которые позволяют выявлять гетерозиготное носительство. В последнее время разрабатываются новые подходы к лечению фенилкетонурии: заместительная терапия фенилаланинлиазой — растительным

ферментом, который катализирует расщепление фенилаланина на безвредные метаболиты, и генная терапия путем встраивания в геном нормального гена фенилаланингидроксилазы.

Алкаптонурия — аутосомно-рецессивное нарушение обмена тирозина и накопления в тканях организма (суставные хрящи, сухожилия) гомогентизиновой кислоты. Манифестация происходит в детском возрасте. Первый симптом — потемнение мочи.



Алкаптонурия

Часто развивается мочекаменная болезнь и пиелонефрит. Накопление продуктов распада гомогентизиновой кислоты приводит к поражению суставов (в первую очередь коленных и тазобедренных). Отмечается потемнение и повышенная хрупкость соединительной ткани. Характерно потемнение склер и ушных раковин. Мутации в гене *HGD* — оксидазы гомогентизиновой кислоты — являются причиной этого заболевания. Этот ген содержит 14 экзонов и локализован в HSA3q21-23. Описано около 100 различных миссенс-мутаций, мутаций типа сдвига рамки считывания и изменения сайта сплайсинга, которые связаны с этим заболеванием.

Глазо-кожный альбинизм первого типа — отсутствие или существенный недостаток пигмента кожи, волос, радужной и пигментной оболочек глаза. Заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования. Проявляется в различной степени депигментации кожи, волос, радужной и пигментной оболочек глаза, снижением остроты зрения, светобоязни, нистагме,



Вполне замечательный ребенок-альбинос...

частых солнечных ожогах. Различные миссенс-мутации, мутации типа сдвига рамки считывания и нонсенс мутации в гене тирозиназы (TYR, HSA11q24) ответственны за это заболевание.

Нарушения обмена углеводов

Галактоземия — отсутствие или существенное снижение активности фермента галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы и накопление в крови галактозы и ее производных, которые оказывают токсическое действие на центральную нервную систему, печень и хрусталик глаза. В первые дни и недели жизни наблюдаются желтуха, увеличение печени, *нистагм*, гипотония мышц, рвота. Со временем развивается катаракта, отставание в физическом и умственном развитии. Для таких больных характерна *непереносимость молока*. Болезнь имеет *аутосомно-рецессивный тип наследования*. Несколько форм этого заболевания обусловлены различными мутантными аллелями гена *GALT* (галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы), локализованного в районе HSA9p13. Миссенс-мутации в разной степени снижают активность фермента, что определяет разную степень выраженности симптомов заболевания. Например, *галактоземия Дурте* протекает почти бессимптомно, отмечается только склонность к расстройствам печени. *Болезнь Гирке (гликогеноз I типа, гликогеновая болезнь I типа)* — неспособность превращения глюкозо-6-фосфата в глюкозу, которая приводит к нарушению

как синтеза, так и разложения гликогена. Депонирование гликогена происходит, а обратный процесс нет. Развивается *гипогликемия*. Накопление избыточного количества гликогена в печени и почках приводит к печеночной и почечной недостаточности. Тип наследования — аутосомно-рецессивный. Причина заболевания — мутация в гене *G6PC*, который кодирует фермент глюкозо-6-фосфатазу. Описано 14 мутантных аллелей этого гена, которые связаны с болезнью Гирке. Существуют молекулярногенетические тесты для выявления гетерозиготного носительства и пренатальной диагностики этого заболевания.

Нарушения липидного обмена

Болезнь Ниманна-Пика типов А и В — снижение активности фермента кислой лизосомальной *сфингомиелиназы*, который кодируется геном *SMPD1* (HSA11p15.4-r15.1). Тип наследования — аутосомно-рецессивный. Нарушение липидного метаболизма приводит к накоплению липидов в печени, легких, селезенке, нервных тканях. Характерна дегенерация нервных клеток, нарушение деятельности нервной системы, повышенный уровень холестерина и липидов в крови. Тип А *летален* в раннем детском возрасте. Тип В протекает более мягко, больные, как правило, доживают до взрослого состояния. Разные типы обусловлены разными мутациями в гене *SMPD1*.

Болезнь Гоше (гликозилцерамидный липидоз) — накопление глюкоцереброзидов в клетках



Пациентка с болезнью Гоше

нервной и ретикулоэндотелиальной системы, обусловленное дефицитом фермента глюкоцереброзидазы, которая кодируется геном *GBA* (HSA1q21). Относится к группе лизосомных болезней накопления. Некоторые формы заболевания проявляются в тяжелых поражениях печени, селезенки, нервной и костной тканей.

Наследственные болезни пуринового и пиримидинового обмена

Синдром Леша-Нихена — сцепленное с полом рецессивное заболевание, при котором резко возрастает содержание мочевой кислоты во всех жидкостях тела.



Синдром Леша-Нихена

Последствием этого является задержка развития, умеренная умственная отсталость, приступы агрессивного поведения с самоповреждением. В основе этого заболевания лежит недостаточность ферментативной активности *гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы* по причине мутаций в гене *HPRT1* (HSAXq26-q27.2). На сегодня описано несколько мутаций в том же гене, следствием которых является подагра (нарушение пуринового обмена и отложение мочекислых соединений в тканях).

Нарушения обмена соединительной ткани

Синдром Марфана («паучьи пальцы», арахнодактилия) — поражение соединительной ткани вследствие мутации в гене *FBN1* (HSA15q21.1), ответственном за синтез фибриллина. Наследуется по аутосомно-доминантному типу. Клиническая полиморфность заболевания объясняется большим числом мутантных аллелей, каждый из которых может проявляться в гетерозиготном состоянии.

Для больных характерен высокий рост, астеническое телосложение (непропорционально длинные конечности), арахнодактилия (длинные тонкие пальцы), слабость связочного аппарата, отслойка сетчатки глаза, подвывих хрусталика, пролапс митрального клапана.

Мукополисахаридозы — группа заболеваний соединительной ткани, связанных с нарушением обмена кислых гликозаминогликанов (*мукополисахаридов*), вызванных недостаточностью некоторых лизосомных ферментов. Эти заболевания относят к лизосомным болезням накопления. Они проявляются в различных дефектах костной и соединительной тканей.

Мукополисахаридоз типа I (синдром Хурлера) — аутосомно-рецессивное заболевание, возникающее в результате дефицита фермента альфа-L-идуронидазы из-за мутаций в гене *IDUA* (HSA4q16.3). Это приводит к накоплению белково-углеводных комплексов и жиров в клетках организма. В результате у больных наблюдается малый рост, существенная задержка умственного



Синдром Марфана

развития, увеличение печени и селезенки, пороки сердца, помутнение роговицы, деформация костей и огрубение черт лица.

Мукополисахаридоз типа II (синдром Хантера) — сцепленное с полом рецессивное заболевание, которое обусловлено дефектом фермента *идуронатсульфотазы* из-за мутации в гене IDS (HSAXq28). Веществами накопле-



Синдром Хантера

ния являются *дерматан-* и *гепарансульфаты*. Характерны грубые черты лица, скафоцефалия (данный термин в переводе с греческого означает *голова в форме судна ладьи*. Термин выбран потому, что при классическом варианте данной патологии голова похожа на ладью), шумное дыхание, низкий грубый голос, частые острые респираторные вирусные инфекции. В возрасте 3–4 лет появляются нарушения координации движений — походка становится неуклюжей, дети при ходьбе часто падают. Для больных характерны эмоциональная лабильность и агрессивность. Наблюдаются также прогрессирующая тугоухость, узелковые поражения кожи спины, остеоартриты, поражения роговицы.



Человечество верит, что мукополисахаридозы будут побеждены...

Мукополисахаридоз типа III (синдром Санфилиппо, болезнь Санфилиппо) — заболевание, вызванное накоплением гепарансульфата. Для него характерна генетическая гетерогенность — существуют четыре типа этой болезни, вызванные мутациями в четырех разных генах, кодирующих ферменты, участвующие в метаболизме накапливаемого вещества. Первые симптомы болезни в виде нарушений сна появляются у детей старше трех лет. Постепенно развивается апатия, отмечается

задержка психомоторного развития, нарушения речи, черты лица становятся грубыми. Со временем дети перестают узнавать окружающих. Для больных характерна задержка роста, контрактуры суставов, *гипертрихоз*, умеренная *гепатоспленомегалия*. В отличие от синдромов Хурлера и Хантера при болезни Санфилиппо преобладает умственная отсталость, а поражения роговицы и сердечно-сосудистой системы отсутствуют.

Фибродисплазия (оссифицирующий миозит, параоссальная гетеротопическая оссификация, болезнь Мюнхеймера) — заболевание соединительной ткани, связанное с ее прогрессирующим окостенением в результате мутации в гене ACVR1 (HSA2q23-q24), который кодирует рецептор активина А. Тип наследования — аутосомно-доминантный. Заболевание проявляется врожденными дефектами развития — прежде всего искривленными большими пальцами стоп и нарушениями в шейном отделе позвоночника на уровне позвонков с2 — с7. За-



Фибродисплазия

болевание имеет прогрессивный характер, приводит к значительным нарушениям функционального состояния опорно-двигательного аппарата, глубокой инвалидизации больных и смерти преимущественно в детском и моло-

дом возрасте. Болезнь еще называют «болезнь второго скелета», так как там, где в организме должны происходить штатные противовоспалительные процессы, начинается рост кости.

Нарушения циркулирующих белков

Гемоглинопатии — наследственные нарушения синтеза гемоглобина. Различают две группы гемоглинопатий. Для первой характерно изменение первичной структуры белка глобина, что может сопровождаться нарушениями его стабильности и функции (например, *серповидноклеточная анемия*). При гемоглинопатиях второй группы структура гемоглобина остается нормальной, снижена лишь скорость синтеза глобиновых цепей (например, *β -талассемия*).

Нарушения обмена веществ в эритроцитах

Наследственный *сфероцитоз* — врожденная недостаточность липидов оболочки эритроцитов. Для заболевания характерен аутосомно-доминантный или аутосомно-рецессивный тип наследования в зависимости от мутации гена SPGA1 (HSA1q21), который кодирует эритроцитарный α -1 спектрин. Аномалия этого белка приводит к повышению концентрации ионов натрия

внутри эритроцита и проникновению в него избытка воды из-за повышения осмотического давления. Вследствие этого образуются сферические эритроциты — сфероциты, которые в отличие от двояковогнутых нормальных эритроцитов не обладают способностью изменять форму в узких участках кровотока, например, при переходе в синусы селезенки. Это приводит к замедлению продвижения эритроцитов в синусах селезенки и отщеплению части мембраны эритроцита с образованием *микросфероцитов*. Разрушенные эритроциты поглощаются макрофагами селезенки. *Гемолиз* эритроцитов приводит к *гиперплазии* клеток пульпы и увеличению селезенки. Одним из основных клинических симптомов является желтуха. Основными симптомами наследственного сфероцитоза являются увеличение селезенки (обычно выступает из-под подреберья на 2–3 см) и желтуха. Иногда наблюдаются признаки замедленного развития, нарушения лицевого скелета, башенный череп, седловидный нос, высокое стояние неба, нарушения расположения зубов, узкие глазницы.

Наследственные болезни обмена металлов

Болезнь Коновалова-Вильсона (гепатоцеребральная дистрофия) — аутосомно-рецессивное нарушение метаболизма меди, приводящее к тяжелейшим поражениям центральной нервной системы и внутренних органов. Заболевание обусловлено низким или аномальным синтезом церулоплазмينا (белка, транспортирующего медь) из-за недостаточности ферментативной активности медьпереносящей АТФазы. Мутации (их описано около 200) в гене АТР7В (HSA13q14-q21) приводят к изменениям β -полипептида этого фермента, что является генетической основой этой патологии. Основную роль в патогенезе играет нарушение обмена меди, ее накопление в нервной, почечной, печеночной тканях и роговице, вследствие чего происходит токсическое по-

вреждение медью данных органов. В печени формируется крупноузловой или смешанный цирроз. В почках страдают *проксимальные канальцы*. В головном мозге поражаются в большей степени базальные ганглии, зубчатое ядро мозжечка и черная субстанция.

Нарушения всасывания в пищеварительном тракте

Муковисцидоз, или кистозный фиброз (см. выше) — ауто-сомнорецессивное заболевание, характеризующееся поражением желез внешней секреции, тяжелыми нарушениями функций органов дыхания и желудочно-кишечного тракта. Причиной являются мутации гена CFTR (HSA7q31.2), который кодирует трансмембранный регулятор кистозного фиброза. Заболевание характеризуется поражением желез внешней секреции, тяжелыми нарушениями функций органов дыхания и желудочнокишечного тракта.

Непереносимость лактозы (гиполактазия) — ауто-сомно-рецессивное патологическое состояние плохого усвоения лактозы (молочного сахара), генетической основой которого являются мутации в регуляторной и кодирующей областях гена LCT (HSA2q21), который кодирует *лактазу*. Этот фермент экспрессируется преимущественно в ресничных клетках кишечника и отвечает за расщепление лактозы на галактозу и глюкозу. Основными симптомами лактазной недостаточности являются метеоризм, боли в животе, диарея, рвота. У детей лактазная недостаточность может проявляться хроническими запорами, беспокойством и плачем после еды. В разных популяциях человека частоты мутантных аллелей варьируют от 1 до 100%.

Гормональные нарушения

Тестикулярная феминизация (синдром Морриса) — сцепленное с полом рецессивное заболевание, когда при мужском карิโอ типе (46, XY) проявляется женский

фенотип. Экспрессивность варьирует. При неполной феминизации гонады развиваются по мужскому типу, но некоторые половые признаки соответствуют женскому полу с разной степенью выраженности — гипертрофированный клитор, неполное закрытие шва мошонки, мошонкообразные большие половые губы, укороченное влагалище. При полной феминизации основным симптомом является отсутствие менструаций и полового оволосения при хорошо развитых молочных железах и женском фенотипе. Причиной заболевания являются различные мутации в гене AR (HSAxq11-q12), который кодирует рецептор андрогена.

Андрогенитальный синдром (женский псевдогермафродитизм) — эндокринное нарушение с аутосомно-рецессивным типом наследования, при котором больная имеет наружные половые органы мужского типа и женскую гормональную структуру. У больных увеличен клитор, который становится похож на мужской половой член с одним уrogenитальным отверстием, отсутствует наружный вход во влагалище, малые половые губы отсутствуют, большие губы похожи на «разрубленную» мошонку. При этом внутренние половые органы могут иметь нормальный вид. Генетической основой заболевания являются мутации гена CYP21 (HSA6q21.3), который кодирует фермент 21-гидроксилазу группы цитохрома P450, участвующий в синтезе гормонов альдостерона и кортизола.

Итак, значительная часть наследственных болезней и болезней с наследственной предрасположенностью имеют **немоногенную природу**. Их можно отнести к количественным признакам — тем, которые имеют непрерывный ряд изменчивости и могут быть измерены — например, рост, вес, длина конечностей. Аллели большого числа генов вносят вклад в проявление таких признаков, поэтому их называют полигенными. Про-

следить их наследование и выявить гены, аллели которых участвуют в патологических процессах, сегодня можно при помощи генетических маркеров. Выявление сцепленного наследования (ассоциации) фенотипических признаков с генетическими маркерами позволяет найти районы хромосом, оказывающие решающее влияние на изучаемые процессы (позиционное клонирование), и получить надежные системы для молекулярной диагностики (молекулярное маркирование). В настоящее время наиболее распространенными маркерами в генетике человека являются **микросателлитные локусы** и **мононуклеотидные полиморфные сайты — SNP**.

Анализ экспрессии генов (всех или группы) на биочипах в тканях, имеющих отношение к определенному наследственному заболеванию, в норме и патологии часто позволяет выявить гены-кандидаты для изучаемой болезни. Хромосомную локализацию последовательностей ДНК, влияющих на количественный признак (QTL), можно определить на основе совместного наследования с несколькими близкорасположенными маркерами. Если удастся найти маркеры, ограничивающие QTL с двух сторон, то на основе данных геномного секвенса (см. выше) можно составить список генов, являющихся позиционными кандидатами для QTL изучаемого заболевания. При одновременном использовании анализа экспрессии и исследования ассоциаций заболевания с молекулярными маркерами можно определить наиболее вероятные гены-кандидаты, которые окажутся в обоих списках.

Степень восприимчивости к определенным лекарственным препаратам и эффективность их применения варьируется в широких пределах. При одном и том же заболевании подходящий для конкретного индивидуума препарат часто можно подобрать только методом

проб и ошибок. Кроме потери времени такой подход иногда наносит непоправимый вред здоровью. Сейчас для большого количества лекарственных средств разработаны системы маркеров на основе SNP, позволяющие *a priori* предсказать реакцию индивидуального организма на то или иное химическое вещество. Ассоциации отдельных аллельных вариантов ДНК-маркеров с особенностями биохимических реакций являются основой индивидуальной терапии

Вопросы и задания по материалам Темы 15

1. Что такое патология?
2. Что такое наследственная патология?
3. Каким образом следует анализировать данные для диагностики наследственных заболеваний?
4. Дайте общее представление о классификациях наследственных патологий.
5. Подготовьте сообщения о хромосомных болезнях (по выбору).
6. Подготовьте сообщения о генных болезнях (по выбору).
7. Как вы понимаете термин *немоногенная природа*?
8. Расскажите о генетических маркерах.
9. Что такое *микросателлитные локусы*?
10. Подготовьте сообщения о современных методах лечения наследственных и генетических болезней.

Тема 16. Диагностика хромосомных и наследственных болезней

Формы хромосомных патологий.

Способы и приемы.

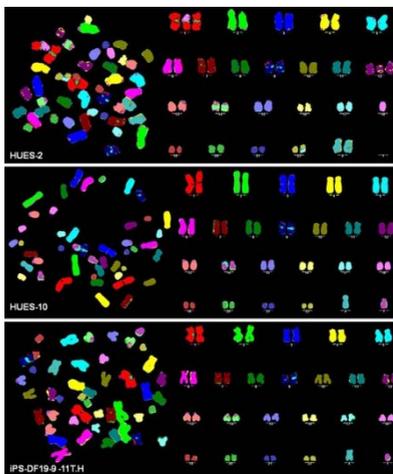
Пренатальная диагностика.

Методы и методики диагностики.

Прямой метод молекулярно-генетической диагностики.

Хромосомные патологии, как вы поняли, по своему фенотипическому проявлению чрезвычайно разнообразны и, что важно помнить, зачастую симптомы разных патологий перекрывают друг друга. Порой, когда мы имеем дело с ребенком с множественными пороками развития, только непосредственный анализ хромосомного набора способен помочь поставить точный диагноз. И даже в случае абсолютной уверенности в диагнозе крайне важно точно, насколько можно, установить форму хромосомной патологии у пробанда: *полная, мозаичная, транслокационная*, так как от этого напрямую будут зависеть рекомендации семье и риск повторного рождения ребенка с данной патологией. Стандартный анализ хромосомного набора носит название *кариотипирование*. Материалом для исследования служит венозная кровь. Поскольку эритроциты не содержат ядра, то для кариотипирования выделяют ядросодержащие клетки — лимфоциты. Пробоподготовка образца для последующего анализа под микроскопом занимает около 3 дней. Основные этапы на пути получения препарата хромосом отражены на рисунке (как правило, анализа 11 метафазных пластинок бывает достаточно для определения формулы хромосомного набора человека). Заметим: процесс пробоподготовки и анализа хромосом очень трудоемок. Иногда, правда,

стандартного кариотипирования с G-окраской бывает недостаточно — чтобы установить природу сложной хромосомной перестройки или обнаружить небольшой клон клеток с аномальным кариотипом при слабовыраженном мозаицизме, требуется либо полная цветовая визуализация каждой хромосомы, либо анализ огромного количе-



Результаты FISH-анализа

ства клеток (до нескольких тысяч). Именно для этих целей был разработан уже упомянутый выше FISH-метод, который с помощью специальных молекулярных зондов со специфичными цветовыми метками позволяет визуализировать интересующую нас область той или иной хромосомы и с использованием специального программного обеспечения проанализировать наличие аномалии на большом количестве интерфазных ядер. Также возможна одновременная окраска всех хромосом, такой метод получил название многоцветного FISH-анализа. Но, как мы уже сказали, чтобы начать цитогенетическое исследование, необходимо определить показания к нему, и это будут:

задержка психоречевого и/или физического развития у ребенка;

врожденные пороки развития (особенно множественные пороки) у ребенка;

бесплодие —

- первичное (в том числе отсутствие или нарушение менструального цикла)
- вторичное (невынашивание беременности: спонтанные выкидыши, неразвивающиеся беременности);
- мертворождение;
- множественные *стигмы дизэмбриогенеза*;
- случаи рождения детей с умственной отсталостью, хромосомной аномалией или врожденными пороками развития в родословной.

Итак, для выявления хромосомных болезней используются цитогенетические методы исследования, которые позволяют увидеть под микроскопом [с использованием различных специфических окрасок] тонкую организацию хромосом человека и ее нарушения, которые и приводят к появлению хромосомных болезней. В настоящее время, кроме традиционных методов исследования хромосом, все шире начинают применяться *молекулярно-цитогенетические методы* исследования, которые дают возможность выявлять такие небольшие изменения хромосом, которые не видны при использовании обычных методов исследования.

Расскажем подробнее:

— **биохимические** — некоторые из наследственных болезней характеризуются выраженными биохимическими изменениями, которые связаны с нарушениями определенного метаболического пути. Эта группа заболеваний объединена в особый класс, называемый наследственные нарушения обмена веществ (НБО). Диагностика НБО включает качественный и количественный анализ различных метаболитов в образцах биологических жидкостей, определение активности ферментов в культуре клеток или лейкоцитах периферической крови. Многие из этих исследований довольно сложные и проводятся с помощью таких

высокотехнологичных методов как высокоэффективная жидкостная хроматография, хроматомасс-спектрометрия, тандемная масс-спектрометрия и т. д.;

— **молекулярно-генетические** — самые современные в исследовании генетического материала клеток человека, который представлен дезоксирибонуклеиновой (ДНК) и рибонуклеиновой (РНК) кислотами. Используемые сегодня молекулярно-генетические методы позволяют разрезать нуклеиновые кислоты, размножать их отдельные участки с помощью полимеразной цепной реакции, изучать их тонкую структуру, вплоть до последовательности нуклеотидов, составляющих нуклеиновые кислоты, и, таким образом, выявлять изменения, которые называются мутациями, в генах человека;

— **синдромологические** — большинство наследственных заболеваний характеризуется поражением многих органов и систем и разнообразной клинической симптоматикой. Кроме того, некоторые признаки у больных с наследственными заболеваниями не являются собственно патологическими и обычно врачи не обращают на них внимание. Дело в том, что большинство наследственных заболеваний встречается, как мы уже сказали, достаточно редко, и это не позволяет накопить опыт диагностики наследственных заболеваний. Задача в том, чтобы, используя имеющиеся знания о проявлении наследственных болезней, детально обследовав больного и членов его семьи, постараться поставить диагноз наследственного синдрома. Во многих случаях используются компьютерные программы, которые содержат описания и фотографии больных с различными наследственными синдромами — POSSUM и Oxford Medical Databases, содержащие описания нескольких тысяч наследственных синдромов.

Пренатальная диагностика врожденных и наследственных болезней — комплексная отрасль медицины, которая сегодня быстро развивается, используя и ультразвуковую диагностику (УЗИ), и оперативную технику (*хорионбиопсию, амнио- и кордоцентез, биопсию мышц и кожи плода*), и лабораторные методы (цитогенетические, биохимические, молекулярно-генетические). В настоящее время пренатальная диагностика осуществляется в I и II триместрах беременности, то есть, в периоды, когда в случае выявления патологии еще можно прервать беременность. На сегодня возможна диагностика практически всех хромосомных синдромов и около 100 наследственных болезней, биохимический дефект при которых установлен достоверно.

И еще подробнее — **инвазивные методы исследования в пренатальной диагностике.**

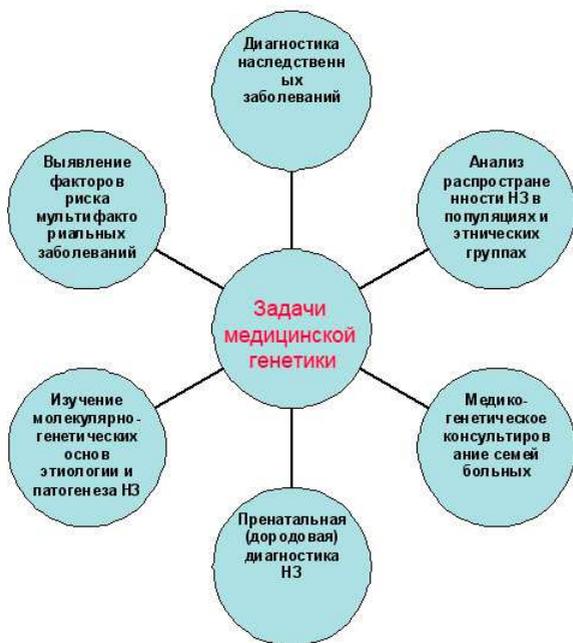
Амниоцентез — прокол плодного пузыря с целью получения околоплодной жидкости и *смущенных* клеток. Из амниотической полости забирают 8–10 мл жидкости. Основным источником диагностического материала при амниоцентезе являются клетки. Их обязательно культивируют (это длится 2–4 недели) и для цитогенетических, и для биохимических исследований.

Кордоцентез — взятие крови из пуповины. Образцы крови являются объектом для цитогенетических (культивируются лимфоциты), молекулярно-генетических и биохимических методов диагностики наследственных болезней. Кордоцентез используют для диагностики хромосомных болезней, гематологических наследственных болезней (*гемоглобинопатии, коагулопатии, тромбоцитопении*), иммунодефицитов, гематологического статуса при резус-сенсibilизации, внутриутробных инфекций.

Фетоскопия (введение зонда и осмотр плода) — метод визуального обследования плода для выявления врожденных пороков развития. Используется редко. Для фетоскопии требуется введение зонда в амниотическую полость, что может вызвать осложнения беременности. Выкидыши отмечаются в 7–8% случаев фетоскопии.

Неинвазивные методы исследования в пренатальной диагностике.

Основным является ультразвуковое исследование (УЗИ), которое необходимо проводить всем беременным. Можно применять как просевной и как уточняющий метод. Это позволяет предупредить рождение 1–3 детей (с 1000 новорожденных) с серьезными врожденными пороками развития, что составляет примерно 30% всех детей с такой патологией.



Цель и задачи медицинской генетики

Все, о чем мы выше говорили, конечно же, относится непосредственно, к области медицинской генетики, знание основ которой необходимы и нам.

Резюмируем этот материал:

основной целью медицинской генетики является изучение роли генетических составляющих в этиологии и патогенезе различных заболеваний человека. Эти болезни делятся на два класса: собственно наследственные, куда входят хромосомные и генные заболевания, и болезни с наследственной предрасположенностью, которые называют *мультифакториальными заболеваниями*.

Хромосомными являются болезни, вызванные нарушением числа, либо структуры хромосом.

Генные болезни обусловлены присутствием мутаций в генах.

Моногенными называются болезни, обусловленные присутствием мутаций в одном гене.

В этиологии мультифакториальных заболеваний наряду с действием неблагоприятных внешних факторов существенное влияние оказывают состояния не одного, а многих генов. Количество этих генов, формирующих наследственную предрасположенность к заболеванию, иногда исчисляется десятками или даже сотнями.

Суммарная частота наследственных заболеваний достигает 1,5%, из них на долю хромосомных болезней приходится 0,5% и на долю моногенных — до 1%. К мультифакториальным относятся большинство наиболее распространенных болезней человека.

Два принципиально новых, современных положения в диагностике наследственных болезней обеспечены прогрессом молекулярной медицины и генетики человека: точность диагностики (до уровня мутаций) и ранние сроки (до клинического проявления, в том

числе на пренатальной стадии развития). Широкое применение лабораторных методов диагностики наследственных болезней началось в 50-х годах XX века, когда стал повышаться интерес к наследственной патологии и расширились возможности клинических лабораторий. Медицинская генетика взяла на вооружение многочисленные методы биохимических, иммунологических, гематологических, цитогенетических исследований, а в 70-х годах — и молекулярно-биологических. Это обусловило формирование клинической генетики как медицинской дисциплины и ее интенсивное развитие.

Лабораторная диагностика наследственных болезней в основе своей может быть направлена на идентификацию одной из *трех ступеней болезни*:

- 1) выявление этиологического звена;
- 2) идентификация первичного продукта гена;
- 3) регистрация специфических метаболитов измененного обмена.

Выявление этиологического звена болезни — с генетической точки зрения — характеристика генотипа или определение конкретной мутации у конкретного больного. Современные методы позволяют идентифицировать все три типа мутаций: *геномные, хромосомные и генные*. Эти цели достигаются с помощью цитогенетических или молекулярно-генетических методов.

В основе всех методов молекулярно-генетической диагностики наследственных болезней лежит технология рекомбинантных ДНК или генная инженерия. Методики получения рекомбинантных ДНК революционизировали разработку многих разделов общей и прикладной генетики, в том числе медицинской. Предпосылками для создания стройной системы генной инженерии были ранее изученные свойства нуклеиновых кислот и ферменты, осуществляющие их синтез:

— редупликация ДНК осуществляется конвариантно. Вновь синтезируемая цепь нуклеиновой кислоты является комплементарной *старой* цепи;

— при нагревании до 60–95°C или при воздействии основаниями (щелочами) двухцепочечная молекула ДНК превращается в одноцепочечную форму. Этот процесс называется денатурацией ДНК. При понижении температуры или восстановлении рН среды до физиологического уровня происходит воссоединение нитей (обязательно комплементарных!) в двухцепочечную молекулу. Этот процесс называется ренатурацией или отжигом ДНК;

— молекула ДНК может быть *разрезана* в строго определенных местах (специфических сочетаниях 4–6 нуклеотидов) соответствующими ферментами-рестриктазами (эндонуклеазами), которые получают из разных видов микроорганизмов;

— с помощью ферментов ДНК- и РНК-полимераз осуществляется синтез комплементарных цепей на матричной цепи при наличии в растворе нуклеотидов. В случае синтеза одноцепочечной ДНК на основе РНК молекулы необходим фермент, называемый обратной транскриптазой или ревертазой;

— концы молекулы ДНК могут быть соединены друг с другом с помощью фермента ДНК-лигазы. Это позволяет создавать рекомбинантные молекулы ДНК, т. е. происходящие из двух организмов.

Генно-инженерные технологии сегодня широко используются в диагностике наследственных болезней, главным элементом является анализ ДНК. Для медико-генетических целей применяются следующие молекулярные методы:

- блоттинг по Саузерну;
- рестрикционное картирование;
- секвенирование ДНК;

— выявление мутаций путем просеивающих подходов;

— Нозерн-блоттинг (регистрация мРНК);

— направленный мутагенез.

Многочисленные диагностические приемы выявления мутаций можно разделить на две группы: прямые и косвенные. Прямая диагностика мутаций возможна с использованием нескольких методов:

— определение нуклеотидной последовательности (секвенирование);

— аллельспецифическая гибридизация с синтетическими олигонуклеотидными зондами;

— химическое и ферментативное расщепление ДНК в местах неправильных спивок оснований;

— регистрация изменения электрофоретической подвижности мутантных молекул ДНК;

— трансляция белкового продукта *in vitro*.

Косвенное выявление мутаций применяется в тех случаях, когда нуклеотидная последовательность еще неизвестна и вместе с тем имеется информация об относительном положении гена на генетической карте, т.е. речь идет о диагностике с помощью метода сцепления генов. Технологические приемы в косвенной диагностике те же самые, что и в прямой диагностике (получение ДНК, рестрикция, электрофорез и т. д.), но к этому добавляется математический анализ сцепления признаков. Возможности косвенных подходов достаточно большие благодаря обнаружению в геноме человека широкого полиморфизма в некодирующих участках ДНК. Расположенный вблизи изучаемого гена или внутри его полиморфный участок может служить маркером патологических мутаций, наследуемых от родителей. Таким образом, разработано достаточно много молекулярно-генетических методов диагностики наследственных болезней, нашедших широкое приме-

нение для их диагностики. Для распознавания каждой болезни лучше использовать сразу несколько методов диагностики.

Вопросы и задания по материалам Темы 16

1. Дайте представление о хромосомных патологиях.
2. Какие показания необходимо учитывать для того, чтобы провести цитогенетическое исследование?
3. Дайте представление о биохимических методах исследования.
4. Что собой представляют молекулярно-генетические методы?
5. Что такое синдромологические методы исследований?
6. Подготовьте сообщения о пренатальной диагностике врожденных и наследственных болезней.
7. Подготовьте сообщения об использовании генно-инженерных технологий в генетике и медицине.
8. Что такое прямая и косвенная диагностика мутаций?

Тема 17. Генетические факторы нарушений физического и умственного развития

Нарушения опорно-двигательного аппарата.

Наследственные формы глухоты и тугоухости.

Генетика и детская слепота.

Генетические факторы расстройств речи.

Интеллектуальные нарушения, эмоционально-личностные расстройства и девиантное поведение.

Данная тема связана с подробным рассмотрением ряда генетических нарушений в состоянии здоровья человека.

Для многих хромосомных болезней характерны микро- и макроцефалия, деформация грудной клетки и позвоночника, шеи и другие аномалии **опорно-двигательного аппарата** (см. выше). Такая группа заболеваний, как *дисплазия соединительной ткани (ДСТ)* (синонимы: *гипермобильный синдром, наследственная коллагенопатия, врожденная соединительнотканная недостаточность*), насчитывает около 200 генетически гетерогенных и клинически полиморфных патологических состояний, обусловленных нарушением развития соединительной ткани в эмбриональном и постнатальном периодах. Для таких заболеваний характерны дефекты волокнистых структур и основного вещества соединительной ткани, которые приводят к различным морфофункциональным нарушениям висцеральных и локомоторных органов с прогрессирующим течением. В основе их лежат мутации генов, прямо или опосредованно ответственных за синтез и пространственную организацию коллагена.

Отметим *дифференцированную и недифференцированную дисплазию соединительной ткани*.

Дифференцированная ДСТ включает в себя синдромы *несовершенного остеогенеза, Элерса-Данлоса, Марфана (см. выше), Стиклера, эластической псевдоксантомы, гарголизма и др.*

Недифференцированная ДСТ — определяющий вариант ДСТ с клиническими проявлениями, не укладывающимися в структуру наследственных синдромов (объединенных под общим названием «гипермобильность»).

Подробнее о некоторых (постараясь не повторяться).



Несовершенный остеогенез

Несовершенный остеогенез (НО) — группа аутосомно-доминантных заболеваний, связанных с недостатком коллагена или с его качественным несовершенством. Поскольку коллаген является основным белком костной ткани, для этой группы заболеваний характерна ломкость и деформации костей. Известно восемь типов НО с разной степенью поражения костной и соединительной ткани, большинство из ко-

торых вызваны различными мутациями в генах α -1- и α -2-цепей коллагена первого типа — COL1A1 (HSA 17q21.31-q22) и COL1A2 (HSA 7q22.1).

Синдром Элерса-Данлоса (гиперэластичность кожи, несовершенный десмогенез Русакова) — группа заболеваний, вызванных повреждением или недостатком коллагена типов I, III и V. При этих болезнях повреждаются суставы, кожа и кровеносные сосуды, характерны свободные, сильно гнущиеся суставы, гладкая или эластичная, легкоповреждающаяся кожа, неправильное

заживление ран и формирование шрамов, маленькие и хрупкие кровеносные сосуды. Все типы синдрома затрагивают суставы, вызывая их гиперподвижность, что позволяет больным выходить за пределы нормального диапазона движений.



Синдром Элерса-Данлоса

Типы I и II (*классические*) — аутосомно-доминантные заболевания соединительной ткани, для которых характерна гладкая, сильно эластичная, легкоранимая кожа, уродливые или необычайно обширные шрамы, гиперподвижные суставы, тенденция к вывихам, склонность к развитию грыжи или смещению любого внутреннего органа. Молекулярно-генетической основой этих типов синдрома являются мутации в генах COL5A1 (HSA 9q34.2-q34.3), COL5A2 (HSA2q31) и COL1A1 (HSA 17q21.31-q22).

Тип III (*гиперподвижность*) имеет аутосомно-доминантный тип наследования, проявляется в наличии свободных, нестабильных суставов, плоскостопии, высоком и узком небе, раннем начале остеопороза, поражениях сердца. Причиной являются мутации в гене COL3A1 (HSA 2q31).

Тип IV (*сосудистый*) наследуется по аутосомнодоминантному типу. Для него (кроме общих для синдрома симптомов) характерна хрупкость стенок сосудов оболочек органов и нежной кожи, склонность к разрывам и образованию аневризмы. Так же, как и в случае гиперподвижности, этиологической причиной являются мутации в гене COL3A1 (HSA 2q31).

Остальные типы синдрома Элерса-Данлоса встречаются достаточно редко, наследуются по аутосомно-доминантному, аутосомно-рецессивному или X-сцепленному рецессивному типу, могут быть связаны с мутациями в генах цепей различных коллагенов или ферментов, участвующих в синтезе коллагена и сборке коллагеновых волокон.

Ахондроплазия — аутосомно-доминантная карликовость из-за недоразвития длинных костей. Средний рост больных мужчин — 131 см, больных женщин — 123 см. При ахондроплазии отмечается существенное укорочение конечностей при нормальной длине тела, относительная макроцефалия, короткие пальцы, седловидный нос. Интеллект, как правило, не поврежден. Молекулярно-генетической причиной этого заболевания являются мутации в гене FGFR3 (HSA4p16.3), который кодирует рецептор-3 фактора роста фибробластов.

Миотоническая дистрофия (болезнь Шнайнерта) — многосистемное наследственное заболевание, основным симптомом которого является запаздывание расслабления мышц после их сокращения. Это аутосомно-доминантное заболевание с манифестацией в возрасте 20–40 лет. Первые признаки заболевания отмечаются в мышцах лица, шеи, рук и ног. Отмечаются опущение

век глаз (птоз), слабость мышц лица и речевых мышц, нарушения. Наряду с этим характерны катаракты, гипогонадизм, кисты яичника, прогрессирующая умственная отсталость. Болезнь вызвана экспансией тринуклеотидных повторов ЦТГ 3'-фланкирующем районе гена *протеинкиназы миотонической дистрофии DMPK* (HSA19q13.2-q13.3).

Дистрофия Дюшенна — сцепленная с полом рецессивная прогрессирующая мышечная дистрофия. Первые признаки заболевания проявляются в



Итальянский художник XVI века очень точно изобразил большого ахондроплазией

возрасте 1–3 лет слабостью мышц тазового пояса. Для этого заболевания характерны симметричная атрофия мышц в сочетании с сердечно-сосудистыми, костно-суставными и психическими нарушениями (рис. 122). Костно-суставные нарушения при дистрофии Дюшенна характеризуются деформациями позвоночника, стоп, грудины. Этиологическая причина заболевания — различные мутации в гене DMD (HSAХр21.2), который кодирует аподистрофин 1.

Теперь о **наследственных формах глухоты и тугоухости.**

Микротия с атрезией наружного слухового прохода и проводящей тугоухостью — наследственное заболевание с невыясненной генетической природой — для него характерны отсутствие или существенная деформация ушной раковины и отсутствие просвета слухового канала.



Односторонняя микротия

Показано достоверное различие конкордантности по этому признаку у однояйцовых и разнояйцовых близнецов.

Синдром Ушера — аутосомно-рецессивное заболевание, которое проявляется во врожденных нарушениях слуха различной степени, прогрессирующей пигментной дегенерации сетчатки, приводящей к постепенному сужению полей зрения и слепоте, и иногда потере чувства равновесия. В мире 5–6% от общего числа людей с любыми нарушениями слуха и 50% слепоглохих страдают этим синдромом. Клинический полиморфизм определяется генетической гетерогенностью —

известно 12 локусов, связанных с разными типами этого заболевания. Наиболее известна форма синдрома Ушера, вызванная мутациями гена MYO7A (HSA11q13.5), который кодирует миозин 7А.

Синдром Крузона (черепно-лицевой дизостоз) — аутосомно-рецессивное заболевание, вызванное преждевременным срастанием венечного и сагитального швов черепной коробки. Для синдрома характерно западание глазниц и костей щек, выпученные глаза, вдавленное переносье, выступающая челюсть. У большинства больных отмечаются нарушения слуха. Фенотип, свойственный этому синдрому, развивается по причине мутаций в гене FGFR2 (HSA10q26), кодирующем рецептор 2 фактора роста фибробластов.

Синдром Тричера-Коллинза — аутосомно-доминантное заболевание с характерными изменениями лицевого черепа (небольшими размерами рта, подбородка, ушей) косоглазием и колобомой век. Характерны аномалии наружного слухового прохода и тугоухость. Этиологической причиной являются мутации в гене TCOF1 (HSA5q31.3-q33.3), который кодирует ядерный белок с LIS1-гомологичным доменом.



Синдром Альпорта

Синдром Альпорта — сочетание наследственного нефрита и глухоты. Симптоматика со стороны выделительной системы появляется в 5–10 лет. Постепенная потеря слуха обычно начинается раньше. Вначале это нейросенсорное снижение слуха высоких тонов, затем — низких, переходящее из звукопроводящей в звукопринимающую тугоухость. Иногда

наблюдается *миастения*, потеря памяти и интеллекта. Сцепленная с полом рецессивная форма этого синдрома вызвана мутациями в гене α -5 цепи коллагена типа IV — COL4A5 (HSAХq22.3). Аутосомно-рецессивная форма синдрома Альпорта связана с мутациями в генах COL4A3 и COL4A4

Синдром Пендред — аутосомно-рецессивное заболевание, проявляющееся потерей слуха и патологиями щитовидной железы — узловым зобом и гипотериозом. Для детей с этим заболеванием характерна прогрессирующая потеря слуха, которая начинается обычно в возрасте до трех лет, замедленный рост костей, диспропорции скелета — большой череп, относительно короткие конечности. Генетической основой заболевания являются мутации в гене PDS (HSA7q31), который кодирует пендрин — фермент, присутствующий в улитке внутреннего уха, щитовидной железе и почках.

Синдром Ричардса-Рандля — аутосомно-рецессивное заболевание, проявляющееся в *атаксии*, гипогонадизме и нейросенсорной глухоте. У больных развивается глубокое слабоумие, прогрессирующие мышечные атрофии, наблюдается недоразвитие вторичных половых признаков, прогрессирующая нейросенсорная тугоухость с раннего детства и т. д. Молекулярно-генетические основы этого заболевания остаются неизвестными.

Синдром Жервелла и Ланге-Нильсена — аутосомно-рецессивное заболевание, которое характеризуется врожденной глухотой и нарушением ритма сердца — удлиненным интервалом QT, отражающего процессы электрического возбуждения и восстановления сердечной мышцы. Часто у больных отмечаются множественные пороки сердца, имеется высокий риск синкопе и внезапной смерти. Клинический полиморфизм, проявляющийся в широком варьировании тяжести проявления определяется различными мутациями в

гене *KCNQ1* (HSA11q15.5), который кодирует один из белков калиевых каналов.

Синдром множественных лентиго (синдром леопарда) — аутосомно-доминантное заболевание, минимальные диагностические признаки которого: множественные



Лентиго

лентиго (пигментные пятна размером 1–5 мм более темные, чем веснушки), стеноз легочной артерии, умеренный *гипертелоризм*, аномалии гениталий, глухота. Этиологической причиной являются мутации в гене *PTPN1* (HSA12q24.1), кодирующем протеин-тирозин-фосфатазу нерцепторного типа 1.

Синдром Ваарденбурга — наследственное заболевание, имеющее следующие признаки: телекант (латеральное смещение внутреннего угла глаза), гетерохромия радужной оболочки, седая прядь надо лбом и врожденная глухота. Глухота вызвана нарушениями спирального (кортиева) органа с атрофическими изменениями в спинальном узле и слуховом нерве. Лечение глухоты при этом синдроме неэффективно. Синдром Ваарденбурга типов 1 и 3 вызван доминантными мутациями в гене *PAX3* (HSA2q35), который кодирует транскрипционный фактор семейства PAX. Пенетрантность этих мутаций неполная, экспрессивность варьирует.

Добавим о **слепоте и слабовидении**. Слепота и слабовидение наблюдаются при синдромах Марфана, Альпорта, Крузона, Ушера, о которых речь шла выше.

Синдром Ригера (открытоугольная ювенильная глаукома) — аутосомно-доминантное заболевание, которое проявляется в повышении внутриглазного давления,

развитии оптической *нейропатии* с последующей атрофией головки зрительного нерва и возникновением дефектов поля зрения. Для больных характерна щелевидная деформация зрачка, *эктопия* хрусталика, *колобома* сосудистой оболочки глаза, *телекант*, аномалии зубов. Этиологической причиной этого генетически гетерогенного заболевания могут быть мутации в генах PITX2 (HSA4q25-q26), FOXC1 (HSA6p25) и делеция района HSA13q24.

Синдром Альстрема характеризуется пигментной дегенерацией сетчатки, ожирением, сахарным диабетом, *дилатационной кардиомиопатией*, нефропатией и прогрессирующей нейросенсорной глухотой. Дети при рождении имеют нормальную массу тела, но к концу первого года жизни появляется ожирение. У больных развивается нистагм (дрожание глазных яблок), прогрессирует дистрофия нейроэпителия с атрофией и пигментной инфильтрацией внутренних пластов сетчатки. К семи годам часто происходит полная потеря зрения. Для заболевания характерен клинический полиморфизм, который наблюдается даже у сибсов. Мутации в гене ALMS1 (HSA2p13), продукт которого пока не охарактеризован, являются причиной этого заболевания.

Синдром Ленца — сцепленное с полом рецессивное заболевание, которое проявляется в нарушении развития глаза (микрофтальмия или анофтальмия), связанных со снижением остроты зрения или слепотой. Для заболевания также характерны аномалии развития ушей, зубов, скелета, выделительной и половой систем. Известна локализация гена, мутация которого приводит к этому заболеванию, в районе HSA Xq27-q28. Кроме синдрома Ленца описано около десятка форм изолированной и синдромной микрофтальмии с аутосомно-доминантным, аутосомно-рецессивным и сцепленным с полом наследованием.

Наследственные катаракты — группа заболеваний, связанных с помутнением хрусталика глаза и вызывающих различные степени расстройства зрения. Описано 14 изолированных форм этого заболевания с аутосомно-доминантным, аутосомно-рецессивным и сцепленным с полом типами наследования. Кроме того, катаракта в качестве симптома может входить во многие наследственные патологические состояния.



Синдром Апера

Синдром Апера (Аперта) — заболевание с аутосомнодоминантным типом наследования, которое характеризуется синостозом (срастанием) венечных швов, плоским лбом, гипертелоризмом, антимонолоидным разрезом глаз, плоскими глазными впадинами, западной переносицей, полным сращением II–V пальцев кистей и стоп, атрофией зрительного нерва (рис. 133). Больные отстают в умственном и физическом развитии. Молекулярно-генетической основой заболевания являются две мутации в экзоне 7 гена FGFR2 (HSA10q26), который кодирует рецептор 2 факторов роста фибробластов.



Синдром Маршалла

Синдром Маршалла — аутосомнодоминантное заболевание, характеризующееся дисплазией лица (нос курносый, седловидной

формы), гипоплазией средней части лица, которая создает впечатление лица бульдога, гиперплазией надглазничной области, аномалиями зубов (адентией, гиподонтией, удвоением зубов, микродонтией), аномалиями глаз — врожденной близорукостью и быстро прогрессирующей катарактой. У больных наблюдается врожденная, часто прогрессирующая односторонняя или двусторонняя тугоухость, которая позже нередко переходит в полную глухоту. Этиологической причиной заболевания являются мутации в гене COL11A1 (HSA1q21), который кодирует α -1 цепь коллагена типа XI.

Синдром Дюэйна — аутосомно-доминантное заболевание, для которого характерны односторонняя слабость латеральной прямой мышцы глаза (уменьшение или отсутствие способности глаза к отведению, ограничено приведение и слабая конвергенция, *рефракция* — уменьшение объема — глазного яблока при приведении) с сужением глазной щели во время приведения и расширением ее во время отведения. Иногда у больных наблюдаются аномалии развития лица, зубов, ушей. Для этого заболевания характерна генетическая гетерогенность — синдромы Дюэйна I и II типов вызваны мутациями локуса DURS1 (HSA8q13) и гена CHN1 (HSA2q31), который кодирует α -1 химерин.

Наследственный дальтонизм — генетически обусловленная неспособность различать один или несколько цветов. Полное отсутствие цветового зрения — достаточно редкое явление. Часто встречается *пронатопия* — дефект рецепторов, воспринимающих свет в красной области спектра. Это заболевание вызвано мутациями в гене *OPN1LW* (HSA Xq28), который кодирует чувствительный к свету длинных волн опсин 1. Другие мутации того же гена приводят к развитию *дейтеранопии* — заболевания, при котором смешиваются красный и зеленый цвета.

С печалью мы приступаем к разговору еще о нескольких группах наследственных заболеваний...

Возникновение большинства **расстройств речи** [гипотетически] связано с влиянием наследственных факторов. На этот факт указывают семейный характер этих патологических состояний и конкордантность по ним у монозиготных близнецов. Генетическая природа речевых нарушений иногда бывает известна.

Алалия — отсутствие или недоразвитие речи у детей при нормальном слухе и первично сохраненном интеллекте. Одна из наследственных форм этого патологического состояния — *вербальная диспраксия* — имеет аутосомно-доминантный тип наследования и обусловлена мутациями гена FOXP2 (HSA7q31), который кодирует транскрипционный фактор семейства Forkhead.

Ринолалия (гнусавость) — изменение тембра голоса и искаженное произношение звуков, вызванное нарушением резонаторной функции носовой полости. Одна из причин этого дефекта звукопроизношения — врожденное расщепление неба — симптом, который присутствует при некоторых хромосомных абберациях. В некоторых популяциях сочетания мутантных аллелей (гаплотипы) гена GAD1 (HSA2q31), который кодирует глутаматкарбоксилазу 1, приводят к расщеплению неба.

Предрасположенность к *дислексии* — нарушению способности к обучению читать и писать при нормальном интеллекте — аутосомно-доминантный признак, обусловленный мутациями в гене DYX1C1 (HSA15q21), продукт которого отвечает за взаимодействие рецептора эстрогена с белками теплового шока Hsp70 и Hsp90. На проявление этого признака также оказывают влияние гены, расположенные на HSA6 и HSA11.

Миссенс-мутация в гене N-ацетилглюкозамин-1-фосфаттрансферазы GNPTAB (HSA12q23.3) является

причиной *заикания*. Кроме того, существует еще одна наследственная форма этого речевого нарушения, предполагаемый локус которого — HSA18p11.3-p11.2.

И об интеллектуальных нарушениях.

Умственная отсталость (интеллектуальная недостаточность), выражающаяся в стойком нарушении познавательной деятельности, характерна для многих хромосомных и генных болезней как симптом.

Наиболее типичные хромосомные аномалии, при которых наблюдается умственная отсталость — синдром и др. описаны выше. Умственная отсталость характерна для фенилкетонурии, некоторых мукополисахаридозов и *болезни Ниманна-Пика* (наследственного заболевания, вызванного нарушением липидного метаболизма и накоплением липидов в печени, селезенке, легких, костном мозге и головном мозге. Заболевание относится к лизосомным болезням накопления и характеризуется аутосомально-рецессивным наследованием. Различают три типа заболевания: типы А, В и С).

Гомоцистинурия — накопление *метионина* и *гомоцистина* по причине недостаточности фермента печени *цистатинсинтетазы*, которое приводит к поражению костной ткани и ЦНС. У больных детей отмечается задержка роста, умственная отсталость, судороги, остеопороз, эктопия хрусталика, склонность к тромбозам. Общий вид больных напоминает синдром Марфана (см. выше), главной отличительной особенностью является умственная отсталость. Заболевание прогрессирует быстро, больные обычно умирают в молодом возрасте. Тип наследования этого заболевания — аутосомно-рецессивный. Генетическая природа гомоцистинурии — различные мутации гена CDS (HSA21q22.3), который кодирует *цистатинсинтетазу*.



Микроцефалия

Истинная микроцефалия — аутосомно-рецессивное заболевание, проявляющееся в меньшем объеме головного мозга и меньшем размере мозгового черепа, чем у здорового индивидуума. При истинной микроцефалии в отличие от синдромов, при которых она присутствует в качестве симптома, отсутствуют пороки скелета и неврологические нарушения (кроме умственной отсталости). Причиной заболевания являются мутации

гена *ASPM* (HSA1q31), кодирующего белок аномального веретена деления, который участвует в пролиферации эмбриональных фибробластов. Интересно, что впервые этот ген был описан у плодовой мушки *Drosophila melanogaster*, причем функция его та же, что и у человека. Это пример использования эволюционного консерватизма в медицинской генетике.

Обтурационная гидроцефалия (гидроцефалия, вызванная наследственным стенозом Сильвиева водопровода) — X-сцепленное рецессивное заболевание с прогрессирующей неврологической симптоматикой, вызванное нарушением оттока цереброспинальной жидкости из первых трех мозговых желудочков. Молекулярно-генетическая основа заболевания — мутация в экзоне 22 гена *L1CAM* (HSAXq28), который кодирует один из белковых доменов молекулы клеточной адгезии L1.

Синдром Сотоса (мозговой гигантизм) — аутосомнодоминантный гигантизм, не связанный с гормоном роста. До 4–5 лет ребенок с таким синдромом растет почти вдвое быстрее, чем обычный. Характерны задержка развития и прогрессирующая умственная отсталость.

У больных большие кисти и стопы с утолщенным слоем подкожной жировой ткани. Голова большая, нижняя челюсть выступает вперед, глаза широко расставлены. Причиной заболевания могут быть микроделеции в районе HSA5q35 либо мутации расположенного в том же хромосомном районе гена NSD1, который кодирует ассоциированный с андрогеновым рецептором корегулятор 267.

Синдром Смита-Магениса характеризуется умственной отсталостью, гиперактивностью поведения, резко повышенной сонливостью, черепно-лицевыми аномалиями, наличием широких коротких рук, склонностью к нанесению повреждений самому себе. Синдром обусловлен микроделацией величиной 3,7 млн п. н. в районе HSA17p11.2 или мутациями локализованного в том же районе индуцируемого ретиноидной кислотой гена 1 — RAI1.

Синдром Вильсона (синдром «лица эльфа») — аутосомнодоминантное заболевание, вызванное делециями величиной 1,5–2,5 млн п. н. в районе HSA7q11.23. Больные имеют особое строение лица, называемое «лицом эльфа», поскольку оно напоминает этих мифологических персонажей в их классическом понимании. Для этого синдрома характерны широкий лоб, разлет бровей по средней линии, опущенные вниз полные щеки, большой рот с полными губами (особенно нижней), плоская переносица, нос с плоским тупым концом, маленький, слегка заостренный подбородок. Окраска глаз обычно ярко-голубая, со звездчатой картиной радужки и склерами синеватого цвета. Для этого синдрома характерен дефицит наглядно-образного мышления и слабые вербальные способности.

Туберозный склероз (болезнь Бурневилля) — аутосомнодоминантное полисистемное заболевание, при котором во множестве органов и тканей образуются добро-

качественные опухоли. Повреждения головного мозга, которые происходят обычно на границе серого и белого вещества, могут вызвать эпилепсию, снижение интеллекта. Характерные новообразования кожи лица и глазного дна могут быть использованы при начальной диагностике. Мутации в генах TSC1 (HSA9q34) и TSC2 (HSA16q13.3), которые кодируют соответственно *гамартин* и *туберин*, являются причиной этого заболевания.

Синдромы Прадера-Вилли и Ангельмана обусловлены микроделецией в районе HSA15q11-q13. Если *аберрантная хромосома* приходит от отца, развивается синдром Прадера-Вилли (ожирение, склонность к перееданию, гипотонус, нарушение координации движений, маленькие кисти и стопы, низкий рост, повышенная сонливость, косоглазие; пониженная плотность костей, гипогонадизм, речевая задержка, задержка психического развития, отставание в освоении навыков общей и мелкой моторики), если от матери — синдром Ангельмана (размер головы меньше среднего, нередко с уплощением затылка, задержка в развитии навыков общей моторики, задержка речевого развития, дефицит внимания и гиперактивность, сложности с обучением, часто эпилепсия, необычные движения — мелкий тремор, хаотические движения конечностей, частый смех без повода, ходьба на негнущихся ногах). Различия в метилировании цитозина в мужском и женском организмах приводят к различному проявлению одной и той же мутации в зависимости от того, кто из родителей передал аномальную хромосому ребенку. Такое явление называется ***геномный импринтинг***.

Синдром Корнелии де Ланге — аутосомно-доминантное заболевание, при котором больные отстают в росте и массе тела, имеют своеобразное строение лица (густые сросшиеся брови, длинные густые ресницы, короткий нос с развернутыми ноздрями и сдавленным переносьем) и мозгового отдела черепа (микроцефалия, брахицефалия). Для больных характерны небольшие кисти, синдактилия стоп, гипертрихоз туловища и конечностей, мраморная кожа, мышечная гипотония. Пациенты часто страдают заболеваниями верхних дыхательных путей, почти у всех наблюдается умственная отсталость. Причина заболевания — мутации в гене *VIPBL* (HSA 5p13.1), который кодирует делангин.



*Синдром
Корнелии де Ланге*

Синдром Рубинштейна-Тейби (амстердамская карликовость) — аутосомно-рецессивное заболевание, при котором длина и масса тела больных значительно отстают от нормы, череп уменьшен, брахицефальной структуры, наблюдаются аномалии строения верхних конечностей: кисти небольших размеров, короткий второй палец и проксимально расположенный первый палец, искривленный пятый. Нередко отмечается *синдактилия*



*Синдром
Рубинштейна-Тейби*

стоп. На коже у больных, кроме гипертрихоза, резко выраженного в области спины и поясницы, нередко отмечается общая мраморность, характерны краснота кончика носа, цианоз носогубной области. Умственная отсталость определяется практически у всех больных с данным синдромом. Иногда наблюдается стремление к аутоагрессии и склонность к стереотипным движениям. Для этого синдрома характерна генетическая гетерогенность — причиной могут быть мутации в гене CREBP (HSA16p13.3) и в гене EP300 (HSA22q13), которые кодируют CREB-связывающий белок и *гистонацетилацетилаз*.

К сожалению, генетика продолжает заниматься и рассмотрением эмоционально-личностных расстройств и девиантного поведения.

Шизофрения — группа прогредиентных психических заболеваний, протекающих с характерными изменениями личности — эмоциональное оскудение, утрата единства, потеря связи с реальностью, расстройства мышления и развитие бредовых, кататонических и аффективных расстройств. Описано 14 различных локусов, связанных с предрасположенностью к заболеваниям подобного рода, в районах 5q33-q35, 11q14-q21, 6p23, 22q11, 6q13-q26, 8p22-p21, 13q32, 18p, 1q42, 15q15, 10q22, 1p36.2, 15q13.3, 2q32.1.

Ранний детский аутизм — нарушение развития нервной системы, для которого характерно наличие триады: недостаток социальных взаимодействий, нарушенная взаимная коммуникация, ограниченность интересов и повторяющийся репертуар поведения. Это расстройство возникает в результате нарушения развития головного мозга и характеризуется выраженным и всесторонним дефицитом социального взаимодействия и общения, а также ограниченными интересами и повторяющимися действиями. Все указанные признаки

проявляются в возрасте до трех лет. Схожие состояния, при которых отмечаются более мягкие признаки и симптомы, относят к расстройствам аутистического спектра. Заболевание отличается генетической гетерогенностью — известно 17 аутосомных: 7q22, 7q11, 13q14, 15q11, 2q, 17q11, 17q21, 3q25-q27, 7q31, 7q36, 1q41, 21p13-q11, 12q14, 16p11.2, 7q35-q36, 3q24, 11q13 и три X-сцепленных локуса предрасположенности к аутизму. В некоторых случаях известны мутации определенных генов, связанные с этим заболеванием. Например, три X-сцепленные формы этого заболевания обусловлены мутациями в генах NLGN3 (HSAХq13), NLGN4 (HSAХp22.33) и MECР2 (HSAХq28), которые кодируют нейролиггин 3, нейролиггин 4 и метил-СpG-связывающий белок 2 соответственно. Три аутосомные формы — AUTS15, AUTS16 и AUTS17 — вызваны мутациями в генах CNTNAP2 (HSA7q35q36), SLC9A9 (HSA3q24) и SHANK2 (HSA11q13).

Синдром дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ) — неврологическо-поведенческое расстройство развития, которое начинается в детском возрасте и проявляется в трудности концентрации внимания, гиперактивности и плохо управляемой импульсивности. СДВГ можно диагностировать, начиная с позднего дошкольного или школьного возраста, так как для постановки диагноза необходима оценка поведения ребенка как минимум в двух условиях обстановки (например, дома и в школе). Наличие нарушений обучения и социальных функций является необходимым критерием для установления диагноза СДВГ. Одним из главных признаков СДВГ, наряду с нарушениями внимания, является импульсивность — недостаток контроля поведения в ответ на конкретные требования. Такие дети быстро реагируют на ситуации, не дожидаясь указаний

и инструкций, которые позволяют выполнить задание, и неадекватно оценивают требования задания. Они очень небрежны, невнимательны, беспечны и легкомысленны, не всегда могут рассмотреть потенциально негативные последствия своих поступков. Показана связь СДВГ с мутациями в восьми генах: DRD5 (HSA4p16), DAT1 (HSA5p15), HTR1B (HSA6q1), ADRA2A (HSA10q24), DRD4 (HSA11p15), SCN8A (HSA12q13), SNAP25 (HSA20p11.2) и COMT (HSA22q11).

Предрасположенность к алкоголизму часто обусловлена мутантными аллелями генов кластера ADH (HSA4q22), кодирующих различные субъединицы *алкогольдегидрогеназы*. Этот фермент катализирует окисление спиртов до альдегидов и кетонов. При его дефиците этанол накапливается в организме, что усиливает токсическое действие алкоголя. Известно, что в районах традиционного употребления виноградного вина (например, Средиземноморье, Кавказ) наблюдается наименьшая частота встречаемости аллелей, кодирующих дефектную алкогольдегидрогеназу. Высокая частота мутантных аллелей наблюдается в Скандинавии, среди индейцев и азиатских монголоидов, на Крайнем севере, что во многом определяет большее распространение алкоголизма у этих народов. Кроме генов ADH, на развитие алкогольной зависимости влияют гены SNCA (HSA4q22.1), GABRA2 (HSA5q34), NPY (HSA7p15), TAS2R16 (HSA7q31), TAS2R38 (HSA7q35), CHRM2 (HSA7q35), ANKK1 (HSA11q23), DRD2 (HSA11q23), ALDH2 (HSA12q24), NRXN3 (HSA14q), SLC6A4 (HSA17q) и гены опиоидных рецепторов.

Криминальное поведение характерно для лиц, страдающих некоторыми хромосомными болезнями (например, синдром Клайнфельтера, синдром дополнительной Y-хромосомы — см. выше). И еще: у осужденных,

которые были приемными детьми, показано наличие корреляций (статистических связей) по криминальному поведению с биологическими родителями и отсутствие таковой с приемными родителями. Это свидетельствует о значительном влиянии наследственных факторов в склонности к совершению преступлений.

Вопросы и задания по материалам Темы 17

1. Подготовьте сообщения о наследственных заболеваниях опорно-двигательного аппарата.
2. Подготовьте сообщения о наследственных формах глухоты и тугоухости.
3. Подготовьте сообщения о наследственных формах слепоты и слабовидения.
4. Расскажите о наследственных формах расстройств речи.
5. Какие интеллектуальные нарушения вызываются наследственными заболеваниями?
6. Подготовьте сообщения на тему «Наследственность и девиантное (делинквентное) поведение».
7. Самостоятельно подготовьте ответы на вопрос о взаимосвязи аддиктивного поведения и наследственных заболеваний. Возможны ли наследственные аддикции?

Тема 18. Профилактика и практика лечения наследственных заболеваний

Снова о пенетрантности, экспрессивности и специфичности действия генов.

Возможность вмешательства в функционирование патологических аллелей.

Евфеника.

Общие подходы к лечению наследственных болезней.

Принципы и виды, формы и методы лечения наследственных болезней.

Долгие и многочисленные попытки лечить больных с наследственными патологиями, предпринимавшиеся в течение веков и врачами, и химиками, и биологами, и даже алхимиками, шарлатанами не давали положительных результатов. Семьи с наследственными болезнями определялись как вырождающиеся, а диагнозы оставались приговорами... Действительно, строгая детерминация, законы Менделя, негативная евгеника, о которой мы говорили в начале этой книги — все это могло привести только к одному — к попыткам насильственно ограничить деторождение у лиц с наследственной патологией. К счастью, практическая реализация негативной евгеники была недолгой — из-за общественного давления.

В середине 20-х годов прошлого века в экспериментах на дрозофиле были получены результаты, определившие разную степень проявления действия генов в зависимости от влияния генотипической или внешней среды, и на основе этих фактов начали формироваться понятия **пенетрантности, экспрессивности и специфичности действия генов**. Стала возможной экстраполяция: *если среда влияет на экспрессивность генов, то,*

следовательно, можно уменьшить или исключить патологическое действие генов при наследственных болезнях. На основе этих положений выдающийся биолог Н. К. Кольцов (см. выше) предложил и обосновал новое направление в медицинской генетике — **евфенику** — **учение о хорошем проявлении наследственных задатков**. По его мнению, евфеника должна изучать все условия среды, стимулирующие проявления положительных и не-проявления отрицательных (наследственные болезни) наследственных свойств.

Пенетрантность — показатель фенотипического проявления аллеля в популяции. Определяется как отношение (обычно в процентах) числа особей, у которых наблюдаются фенотипические проявления наличия аллеля, к общему числу особей, у которых данный аллель присутствует в необходимом для фенотипического проявления количестве копий (в зависимости от характера доминирования, для фенотипического проявления может быть достаточно только одной копии аллеля или двух, если для фенотипического проявления необходимо, чтобы особь была гомозиготна по данному гену). Например, фраза «аллель А обладает пенетрантностью 95%» означает, что из всех особей, у которых данный аллель имеется в необходимом числе копий, лишь у 95% наличие этого аллеля можно установить по показателям фенотипа. Полная пенетрантность — это 100% фенотипическое проявление наличия данного аллеля в пределах популяции. Проще говоря, это **частота проявления гена в признаках**.

Экспрессивность, как и пенетрантность, обусловлена взаимодействием генов в генотипе и различной реакцией последнего на факторы внешней среды. Экспрессивность характеризует фенотипическое проявление гена. Экспрессивность есть реакция сходных генотипов на среду. Экспрессивность гена в развитии зависит от действия факторов внешней среды.

Специфичность действия генов означает, что каждый ген кодирует свой признак.



*Сергей Николаевич
Давиденков*

В начале 30-х годов невропатолог и генетик С. Н. Давиденков⁴⁶, основываясь на собственном клиническом опыте и достижениях экспериментальной генетики, указал на ошибочность мнения о неизлечимости наследственных болезней и вырождении семей с такими болезнями. Он, как и Н. К. Кольцов, исходил из признания роли факторов внешней и внутренней среды в проявлении наследственных

болезней и твердо настаивал на принципиальных возможностях вмешательства в функционирование патологических аллелей, сделав многое для разработки методов лечения наследственных болезней нервной системы. Однако отсутствие сведений о патогенетических механизмах наследственных болезней в тот период ограничивало возможности дальнейшей разработки методов и методик. Все подобные попытки, несмотря на правильные теоретические установки, оставались эмпирическими.

Лечение различных наследственных болезней может включать как традиционные подходы (лекарственные препараты, диеты, хирургическую коррекцию и пр.), так и *прямые, и косвенные воздействия* на наследственные

⁴⁶ **Сергей Николаевич Давиденков** (1880–1961) — советский ученый-медик, действительный член Академии медицинских наук СССР (1945). Заслуженный деятель науки РСФСР (1934). Основоположник клинической нейрогенетики и автор этого термина. Организатор первых в мире медико-генетических консультаций (Москва, 1920 и Ленинград, 1934). Предложил классификацию наследственных заболеваний нервной системы, использующуюся и поныне.

структуры, задействованные в развитии болезни. Уровни, на которые направлено воздействие, определяются состоянием знаний о первичном генетическом дефекте, его клинических проявлениях, взаимодействии с факторами среды и пониманием путей, на которых возможно исправление дефекта. В настоящее время, благодаря успехам генетики в целом и значительному прогрессу теоретической и клинической медицины, можно утверждать, что уже многие наследственные болезни лечатся и вполне успешно.

Общие подходы к лечению наследственных болезней сходны с подходами к лечению болезней любой другой этиологии — сохраняется принцип индивидуализированного лечения, ведь и при наследственной патологии лечат не просто болезнь, а болезнь конкретного человека. Возможно, что при наследственной патологии *принцип индивидуализированного лечения* должен соблюдаться еще строже, потому что гетерогенность наследственных болезней далеко не расшифрована, следовательно, одну и ту же клиническую картину могут вызвать различные наследственные болезни [с разным патогенезом]. В зависимости от условий пре- и постнатального онтогенеза, от всего генотипа человека фенотипические проявления мутаций у конкретного человека могут модифицироваться, следовательно, необходима разная коррекция наследственной болезни. Сегодня можно выделить 3 основных подхода к лечению наследственных болезней и болезней с наследственной предрасположенностью: *симптоматический, патогенетический, этиотропный* (см. выше). Применительно к наследственным болезням в отдельную группу можно выделить *хирургические методы*, поскольку иногда они выполняют функции симптоматической терапии, иногда патогенетической, иногда и той, и другой...

Конкретизируем:

— симптоматическое лечение применяют при всех наследственных болезнях, а для многих форм наследственной патологии оно пока остается единственным. Лекарственная симптоматическая терапия разнообразна и зависит от формы наследственных болезней. Один из древних примеров симптоматической терапии, сохранившейся до наших дней, — применение алкалоида — колхицина при острых приступах подагрического артрита. Такое лечение использовали еще греки в античном периоде. Другими примерами могут быть применение анальгетиков при наследственных формах мигрени, специфических транквилизаторов при психических проявлениях наследственных болезней, противосудорожных препаратов при судорожных симптомах и т. д. Успехи здесь конкретно связаны с прогрессом фармакологии, обеспечивающим все более широкий выбор лекарств. Вместе с тем, расшифровка патогенеза каждой болезни позволяет понять причину возникновения симптома, и на этой основе уже становится возможной более тонкая лекарственная коррекция симптомов, если первичная патогенетическая терапия еще невозможна — пример: многокомпонентное симптоматическое лечение муковисцидоза (см. выше).

Заметим: симптоматическое лечение бывает не только лекарственным — многие виды физических методов лечения (климатотерапия, бальнеолечение, разные виды электротерапии, теплолечение) применяются при наследственных болезнях нервной системы, наследственных болезнях обмена веществ, заболеваниях скелета. После таких курсов лечения больные чувствуют себя намного лучше, продолжительность их жизни увеличивается. К симптоматическому можно отнести *рентгенорадиологическое лечение* при наследственно обусловленных опухолях до и после хирургического вмешательства;

— **патогенетическое лечение** как вмешательство в патогенез часто эффективнее, чем симптоматическое лечение. При наследственных болезнях патогенетические методы наиболее обоснованы, хотя и не противопоставляются симптоматическому лечению. По мере изучения патогенеза каждой болезни, появляются различные возможности вмешательства в этот процесс, в течение болезни или в выздоровление.



Варианты патогенетического подхода

Для патогенетического лечения наследственных болезней в последние годы применяют принципиально новые подходы, основанные на достижениях молекулярной и биохимической генетики. Выше мы сказали о расшифрованных нарушенных звеньях обмена, о биохимических механизмах, по которым развивается наследственно обусловленный патологический процесс — от аномального генного продукта до клинической картины болезни. На этой основе можно целенаправленно вмешиваться в патогенез болезни. При патогенетических подходах к лечению наследственных болезней исходят из того, что у больных либо образуется аномальный белок (фермент), либо нормального белка вырабатывается недостаточно (до полного отсутствия). За этими событиями следуют изменения цепи превращения субстрата или его продукта. Знание принципов и конкретных путей реализации действия гена помогает правильно разрабатывать схемы лечения и даже терапевтическую стратегию. Это особенно четко можно проследить на примере наследственных болезней обмена веществ. В целом патогенетические подходы к лечению наследственных болезней в зависимости от уровня биохимического дефекта можно представить следующим образом. Лечение схематично сводится к возмещению или выведению чего-либо. Если ген не работает, то необходимо возместить его продукт; если ген производит не то, что нужно, и образуются токсичные продукты, то необходимо удаление таких продуктов и возмещение основной функции; если ген производит слишком много продукта, то его избыток удаляют.

Сегодня вполне можно ожидать дальнейших сдвигов в патогенетическом лечении путем возмещения продуктов (белков, гормонов) в связи с успехами физико-химической биологии, геной инженерии и

биотехнологии. Генно-инженерными методами уже получают специфические белки и гормоны человека, необходимые для восполнения нарушенного звена обмена при лечении наследственных болезней (инсулин, соматотропин, ИФН и др.). Есть успехи в получении и разведении трансгенных лабораторных животных. Хотя технически создание трансгенных сельскохозяйственных животных намного труднее, чем лабораторных, это решаемая задача. От крупных животных можно получить большое количество белка. Трансгенных животных, чьи клетки производят нужные белки, можно называть *биофакторами*. От них можно получать потомство, т.е. возможно воспроизводство из поколения в поколение;

— **хирургическое лечение** наследственных болезней занимает существенное место в системе медицинской помощи больным. Это связано с тем, что, во-первых, многие формы наследственной патологии сопровождаются морфогенетическими отклонениями, включая пороки развития. Во-вторых, расширение возможностей хирургической техники сделало доступными многие трудные операции. В-третьих, реанимация и интенсивная терапия сохраняют жизнь новорожденным с наследственными болезнями, а такие пациенты нуждаются в последующей хирургической помощи.

Хирургическая помощь больным с наследственной патологией в общем виде включает удаление, коррекцию, трансплантацию. Операции часто направлены на устранение симптомов болезни. Однако в некоторых случаях хирургическая помощь выходит за рамки симптоматического лечения, приближаясь по эффекту к патогенетическому лечению. Например, для изменения пути патологического превращения субстратов патологических реакций можно использовать хирургическое

пунтирование. При *гликоgenoзах* I и III типов делают *анастомоз* (соединение) между воротной и нижней полой венами. Это позволяет части глюкозы после всасывания в кишечнике обходить печень и не откладываться в ней в виде гликогена. Аналогичный обходной путь предложен при семейной *гиперхолестеринемии* (повышение уровня холестерина — тип II а) — анастомоз между тощей и подвздошной кишками. Это приводит к снижению всасывания холестерина.

Большое место в лечении наследственных болезней занимает *реконструктивная хирургия*: при незаращении верхней губы, врожденных пороках сердца, *атрезии* отделов ЖКТ, *гипоспадии*, для коррекции костно-мышечной системы и т. д.

Орган	Болезни
Вилочковая железа	Синдромы ДиДжорджи и Пезелюфа (поражение Т-лимфоцитов)
Селезенка	Болезнь Гоше (III тип), гемофилия А
Поджелудочная железа	Сахарный диабет
Сердце	Первичные кардиомиопатии
Печень	Болезнь Вильсона–Коновалова, недостаточность α_1 -антитрипсина, тяжелый комбинированный иммунодефицит (печень плода), болезнь Нимана–Пика, тирозинемия

При указанных заболеваниях возможна аллотрансплантация

Сегодня в практику входит **трансплантация органов и тканей** как метод лечения наследственных болезней. *Аллотрансплантация* (пересадка органов и тканей от другой особи того же биологического вида в нашем случае — от человека) может рассматриваться как передача нормальной генетической информации

пациенту с нарушением обмена веществ. Такой подход предполагает пересадку клеток, тканей и органов, содержащих нормальную ДНК, для продукции активных ферментов или других продуктов гена у реципиента. Он особенно эффективен тогда, когда патологический процесс ограничен одним органом или тканью, которые и пересаживают. Аллотрансплантация уже выполняется при разных наследственных болезнях и позволяет непрерывно восполнять недостаток фермента, гормона, иммунных функций или эффективно предохранять орган от функциональных нарушений, обусловленных мутацией структурного гена. Современная трансплантология обладает большими возможностями в лечении наследственных болезней. Имеются многочисленные сообщения об успешных пересадках органов (костного мозга, вилочковой железы, печени плода, донорской печени, поджелудочной железы, селезенки и особенно почки). Трансплантация исправляет патологические механизмы наследственных нарушений. Помимо пересадки органов разрабатываются методы пересадки клеток, функция которых занимает ключевое место в патогенезе наследственных нарушений обмена.

Добавим и об **этиотропном лечении** (см. выше).

Этиотропное лечение любых болезней оптимально, поскольку устраняет первопричину заболевания и в результате излечивает часто полностью. Но это лечение предполагает манипуляции с генетической информацией у человека — доставка нормального гена в клетку, выключение мутантного гена, обратная мутация патологического аллеля. Эти задачи достаточно трудны. Однако ряд принципиальных вопросов генной терапии решен.

Клеточная терапия — способ лечения путем трансплантации клеток. Пересаженные клетки сохраняют генотип донора, поэтому пересадку можно рассматри-

вать как форму *генотерапии*, поскольку она приводит к изменению соматического генома. *Генная терапия* — способ лечения путем введения дополнительной генетической информации в клетки индивида на уровне ДНК или РНК (генно-инженерных конструкций) или путем изменения экспрессии генов.

К настоящему времени определились четыре направления этиотропного лечения:

— трансплантация аллогенных клеток (клеточная терапия);

— введение генно-инженерных конструкций в ткани больного (генная терапия);

— трансплантация трансгенных клеток с целевой генно-инженерной конструкцией (комбинированная терапия);

— изменение экспрессии генов (генная терапия).

Лечение наследственных болезней — трудная задача, и не всегда эффективно и своевременно решаемая. Несмотря на это, оно должно быть постоянным и устойчивым. Недостаточная выраженность эффектов терапии не означает отказа от ее постоянного проведения не только с клинической точки зрения, но и по деонтологическим, этическим соображениям. При этом следует помнить о двух особенностях лечения наследственных болезней:

— необходимость долговременного контроля лечения;

— исходная диагностическая точность [до назначения лечения] в связи с генетической гетерогенностью наследственных болезней.

Вопросы и задания по материалам Темы 18

1. Какие подходы применяются к лечению практически всех наследственных заболеваний?

2. Входит ли третичная профилактика наследственных заболеваний в сферу деятельности медико-генетических консультаций?
3. Есть ли необходимость практически здоровым молодоженам старше 35 лет обращаться в медико-генетическую консультацию?
4. Подготовьте сообщения о евфенике.
5. Что такое *пенетрантность*?
6. Расскажите об *экспрессивности и специфичности действия генов*.
7. Что такое *симптоматическое лечение*?
8. Расскажите об основных принципах *патогенетического лечения*.
9. В чем заключается *хирургическое лечение* наследственных болезней?
10. В чем заключаются особенности *аллотрансплантации*?
11. Подготовьте сообщения об *этиотропном* лечении наследственных болезней.

Примерная тематика семинаров по Модулю V

Взаимосвязь медицинской генетики с другими клиническими и медико-профилактическими дисциплинами.

Наследственность и патология.

Популяционная генетика.

Наличие специфических морфогенетических вариантов развития при наследственной патологии.

Генетическая гетерогенность клинически сходных форм заболевания.

Основные методы медицинской генетики.

Основные методы лечения наследственных болезней.

Летальные эффекты хромосомных и геномных мутаций.

Особенности клинических проявлений отдельных синдромов.

Специфичность набора врожденных пороков развития и морфогенетических вариантов при разных хромосомных болезнях.

Клинико-генеалогические доказательства наследственной предрасположенности, значение наследственной предрасположенности в общей патологии человека.

Груз наследственной патологии в медицинском и социальном аспектах.

Медико-генетическое консультирование.

Литература:

1. Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика. В 3-х томах. Пер. с англ. Том 1. Том 2. Том 3. — М.: Мир, 1988.
2. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки. В 5-ти томах. Пер. с англ. — М.: Мир, 1986.
3. Бадалян, Л. О. Невропатология: учебн. / Л. О. Бадалян. — М.: Академия, 2007.
4. Новиков, П. В. Семиотика наследственных болезней у детей (симптом — синдром — Болезнь) / П. В. Новиков. — М.: Триада-Х, 2009.
5. Современные алгоритмы пренатальной диагностики наследственных болезней: метод. рекомендации / В. С. Баранов, Т. В. Кузнецова, Т. Э. Иващенко [и др.]. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2009.

Интернет-ресурсы:

<http://gslc.genetics.utah.edu/>
<http://www.mblab.gla.ac.uk/dictionary/>
<http://www.medgenetics.ru>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22183/>
<http://www.mitomap.org/MITOMAP>

Заключение

Итак, официальной датой рождения генетики мы считаем 1900 г., когда были опубликованы данные о закономерности наследования признаков, установленные Г. Менделем и сделавшие их достоянием науки.

Генетика изучает два фундаментальных свойства живых организмов — наследственность и изменчивость. Обычно наследственность определяется, как свойство родителей передавать свои признаки, свойства и особенности развития следующему поколению. Благодаря этому каждый вид животных или растений сохраняет на протяжении поколений характерные для него черты. Современная генетика, молекулярная биология и медицина располагают средствами манипулирования с наследственным материалом, намного превосходящими по своим возможностям ограничение браков. Это искусственное осеменение и зачатие «в пробирке» с последующим перемещением зародыша в матку женщины-реципиента, отбор зародышей на ранних стадиях развития, генетическая инженерия, пересадка ядра соматической клетки в цитоплазму яйцеклетки с гарантией развития полноценной особи.

Современная наука ориентируется на профилактику наследственных болезней путем медико-генетического консультирования, обнаружения гетерозиготных носителей неблагоприятных рецессивных аллелей, советов супружеским парам с повышенным риском рождения больного ребенка, разъяснения нежелательности поздних браков и деторождения

Термин *генетика* впервые появился в 1906 г.

Предмет изучения генетики: наследственность — свойства организмов передавать свои признаки и особенности развития в ряду поколений. Понятие наследственность следует дифференцировать от понятия

наследования; изменчивость — свойство организмов как альтернатива наследственности — способность изменять наследственные задатки или их проявления в ряду поколения. Объектом изучения генетики являются все живые организмы — от вирусов до человека.

В настоящее время генетика человека имеет ряд самостоятельных разделов: цитогенетика, биохимическая и молекулярная генетика, радиационная генетика, иммуногенетика, фармакогенетика, популяционная генетика. Одним из наиболее важных является раздел медицинской генетики, который стал самостоятельной наукой. Предметом здесь уже является изучение наследственной патологии, разработка методов диагностики, лечения и профилактики наследственных болезней.

Добавим и конкретизируем: первоначально генетика изучала общие законы наследственности и изменчивости на основании фенотипических данных. Понимание механизмов наследственности, то есть роли генов как элементарных носителей наследственной информации, хромосомная теория наследственности и т. д. стало возможным с применением к проблеме наследственности методов цитологии, молекулярной биологии и других смежных дисциплин.

Сегодня известно, что гены реально существуют и являются специальным образом отмеченными участками ДНК или РНК — молекулы, в которой закодирована вся генетическая информация. У эукариотических организмов ДНК свернута в хромосомы и находится в ядре клетки. Кроме того, собственная ДНК имеется внутри митохондрий и хлоропластов (у растений). У прокариотических организмов ДНК, как правило, замкнута в кольцо (бактериальная хромосома, или генофор) и находится в цитоплазме. Часто в клетках прокариот присутствует одна или несколько молекул ДНК меньшего размера — плазмид. Мы многое могли

бы еще сказать — добавить или напомнить о том, что вы уже изучили... Сегодня генетика — это уже целый комплекс ну если и не отдельных научных дисциплин, то очень крупных и вполне самостоятельных разделов науки:

- Классическая генетика
- Популяционная генетика
- Молекулярная генетика
- Геномика
- Медицинская генетика
- Генная инженерия
- Спортивная генетика
- Судебно-медицинская генетика
- Криминалистическая генетика
- Биохимическая генетика
- Генетика человека
- Генетика микроорганизмов
- Генетика растений
- Эволюционная генетика
- Биометрическая генетика
- Экологическая генетика
- Генетика количественных признаков
- Физиологическая генетика
- Психиатрическая генетика
- Генетика соматических клеток
- Генетика вирусов
- Генетика пола
- Радиационная генетика
- Генетика развития
- Функциональная генетика

От общего становления, развития, прогресса генетической науки зависит переход/перевод эволюции из неуправляемого процесса в контролируемый. Успех решения этой задачи во многом определяется разработкой методик получения направленных (нужных че-

ловеку) изменений. Получение направленных изменений — одна из главных проблем генетики, и от ее решения зависит успех повышения продуктивности культурных растений, домашних животных, используемых в производстве микроорганизмов, борьбы с болезнями и увеличение продолжительности жизни человека, управление генетическим процессом, обуславливающим эволюцию видов, и многое, многое другое, о чем сегодня мы даже не догадываемся.

Примерные варианты самостоятельной работы

1. Изучение, анализ основной и дополнительной литературы.
2. Составление опорных конспектов.
3. Изучение и анализ микропрепаратов соматических и половых клеток человека.
4. Изучение кодовых таблиц по составу аминокислот.
5. Изучение и анализ микрофотографий, рисунков типов деления клеток, фаз митоза и мейоза.
6. Решение задач, моделирующих моногибридное, дигибридное, полигибридное скрещивание, наследственные свойства крови по системе АВО и резус системе, наследование признаков с неполной пенетрантностью.
7. Составление и анализ родословных схем.
8. Работа с обучающими и контролирующими электронными пособиями.
9. Составление электронных презентаций по заданной теме дисциплины.
10. Подготовка реферативных сообщений.
11. Выполнение учебно-исследовательской работы.
12. Проведение бесед с разными группами населения по вопросам профилактики наследственных заболеваний.

Примерные варианты тем рефератов/эссе

1. Роль отечественных и зарубежных ученых в становлении генетики как науки.
2. Грегор Мендель — основоположник генетики.
3. Научные генетические основы селекции по Н. И. Вавилову.
4. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости.
5. Хромосомные болезни человека.
6. Наследственный полиморфизм человека по группам крови.
7. Предпосылки и открытия основных законов генетики их значение для современной биологии.
8. Методика решения генетических задач повышенной сложности.
9. Связь генетики с другими биологическими науками.
10. Актуальные проблемы современной генетики и пути их решения.
11. Изучение генетики в школах и гуманитарных вузах как одного из основных разделов биологии.
12. Генетическая инженерия.
13. Основные этапы исторического развития генетики.
14. Догенетические теории наследственности.
15. Генетика в России и СССР.
16. Лауреаты Нобелевской премии в области генетики.
17. Методическая революция 70-х годов XX века (рождение генетической инженерии).
18. Концепции организации эукариотических генов.
19. Организация генов в хромосоме: структура хроматина.
20. Многоуровневый принцип регуляции генной активности у эукариот.
21. Запрограммированная клеточная гибель (апоптоз).

22. Механизмы репарации ДНК (репарация генетических повреждений).
23. Мобильные генетические элементы эукариот и прокариот.
24. Внехромосомные генетические элементы.
25. Прионы: наследственность без ДНК?
26. Современные представления об организации и функционировании полигенных хромосом.
27. Способы горизонтального переноса генетической информации.
28. Молекулярно-генетические основы детерминации и дифференцировки.
29. Возможно ли предопределить пол у человека?
30. Генотип и среда

Примерные варианты проведения конференций и «круглых столов»

1. Онкологические проблемы с точки зрения генетики.
2. Геномная дактилоскопия.
3. «Инструменты» генетической инженерии.
4. Принципы клонирования ДНК.
5. Трансгенные животные как тест-системы заболеваний.
6. Химеры млекопитающих.
7. Проблемы генетики развития (феногенетики).
8. Генетика и наследование поведенческих признаков.
9. Генетические аспекты поведения животных.
10. Проблемы фармакогенетики и экогенетики.
11. Дерматоглифика как метод лабораторно-клинической диагностики.
12. Проблемы тератологии.
13. Генетические аномалии у животных и человека.

Примерный перечень вопросов к зачету/экзамену

1. Генетика как наука о наследственности и изменчивости. Структура современной генетики и ее значение.
2. Методы генетики.
3. Краткая история генетики. Особенности развития отечественной генетики.
4. Клетка как генетическая система. Роль ядра и цитоплазмы в наследственности.
5. Морфологическое строение и химический состав хромосом. Типы хромосом.
6. Гетерохроматин и эухроматин. Понятие о геноме и карิโอ типе.
7. Нуклеиновые кислоты: ДНК, РНК, их строение и биологическая роль.
8. Модель структуры ДНК Дж. Уотсона и Ф. Крика. Комплементарность нуклеотидов, правила Э. Чаргаффа.
9. Основные этапы биосинтеза белков.
10. Генетический код. Свойства генетического кода.
11. Регуляция экспрессии генов.
12. Открытие законов наследственности Г. Менделем. Вклад Г. Менделя. Условия проявления законов Менделя.
13. Правила наследования признаков при моногибридном скрещивании (I и II законы Менделя).
14. Правило независимого комбинирования аллелей (признаков) и его цитологические основы (III закон Менделя).
15. Взаимодействие аллельных генов.
16. Взаимодействие неаллельных генов.
17. Экспрессия фенотипа.

18. Пол как биологический признак. Основные типы детерминации пола.
19. Теории определения пола.
20. Половой хроматин и гипотеза М. Лайон.
21. Наследование признаков, сцепленных с полом, ограниченных и контролируемых полом.
22. Хромосомные болезни пола.
23. Открытие явления сцепления генов. Опыты Моргана.
24. Основные положения хромосомной теории.
25. Кроссинговер как механизм рекомбинации в группах сцепления и его значение.
26. Генетические карты.
27. Изменчивость — одно из основных свойств жизни. Онтогенетическая изменчивость.
28. Модификационная изменчивость. Фенокопии и морфозы.
29. Генотипическая изменчивость. Свойства комбинативной изменчивости.
30. Мутационная изменчивость. Краткая история изучения мутагенеза
31. Классификации мутаций.
32. Генные, хромосомные и геномные мутации. Молекулярный механизм и причины возникновения.
33. Общие закономерности мутагенеза.
34. Особенности действия физических мутагенов.
35. Репарация повреждений ДНК. Типы репарирующих систем.
36. История гена с 1860 года до программы ENCODE.
37. Проблемные аспекты в современном определении гена.
38. Общая характеристика онтогенеза.
39. Реализация генотипа в онтогенезе.
40. Генетические программы онтогенеза и механизмы их реализации.

41. История понятия «популяция». Современное определение популяции.
42. Генетическая структура популяций.
43. Закон Харди-Вайнберга — основной закон популяционной генетики.
44. Генетический полиморфизм популяций как основа биологического разнообразия.
45. Сравнительная молекулярная биология гена.
46. Тенденции в эволюции гена. Роль генных мутаций в эволюции гомологичных генов и белков. Коварионы.
47. Концепция нейтральной эволюции. Эволюция систем регуляции.
48. Структура современной селекции.
49. Теория селекционного процесса. Методы селекции.
50. Основы биотехнологии.
51. Клеточная инженерия.
52. Генная инженерия.
53. Основные методы лечения наследственных заболеваний.

**Примерный список дополнительной
литературы для подготовки
к зачету/экзамену/написанию
эссе и рефератов**

1. Айала Ф. Современная генетика. — М.: Мир, 1987. (Т. 1, 2, 3. 2).
2. Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях. — М.: ИКЦ «Академкнига», 2003.
3. Генетика. / Под ред. В. И. Иванова. — М.: ИКЦ «Академкнига», 2006.
4. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. — М.: Мир, 2002.
5. Дубинин Н. П. Общая генетика. — М.: Наука, 1986.
6. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. — Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 2002.
7. Инге-Вечтомов С. Г. Генетика с основами селекции. — СПб.: «Изд-во Н-Л», 2010.
8. Клаг У. С., Каммингс М. Р. Основы генетики. — М.: Техносфера, 2007.
9. Корочкин Л. И. Введение в генетику развития. — М.: Наука, 1999.
10. Льюин Б. Гены. — М.: Мир, 1987.
11. Ратнер В. А. Генетика, молекулярная кибернетика: Личности и проблемы. — Новосибирск: Наука, 2002.
12. Смирнов В. Г. Цитогенетика. — М.: Высшая школа, 1991.
13. Тихомирова М. М. Генетический анализ. Л.: Изд-во ЛГУ, 1990.
14. Фогель Ф., Матульский А. Генетика человека. — М.: Мир, 1989, 1990. (Т. 1, 2, 3. 11).
15. Хедрик Ф. Генетика популяций. — М.: Техносфера, 2003.
16. Щелкунов С. Н. Генетическая инженерия. — Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2004.

Большой словарь терминов⁴⁷

Агароза — линейный полисахарид, получаемый из агара (сухого экстракта из красных водорослей).

Аксон — нейрит, осевой цилиндр, отросток нервной клетки, по которому нервные импульсы идут от тела клетки (сомы) к иннервируемым органам и другим нервным клеткам.

Аллели — различные формы одного и того же гена, расположенные в одинаковых участках (локусах) гомологичных хромосом и определяющие альтернативные варианты развития одного и того же признака. В диплоидном организме может быть два одинаковых аллеля одного гена, в этом случае организм называется гомозиготным, или два разных, что приводит к гетерозиготному организму. Термин «аллель» предложен В. Иогансенем (1909 г.).

Аденин — азотистое основание.

Аминокислоты (аминокарбóновые кислоты) — органические соединения, в молекуле которых одновременно содержатся карбоксильные и аминные группы.

Амниоцентез — инвазивная процедура, заключающаяся в пункции амниотической оболочки с целью получения околоплодных вод для последующего лабораторного исследования.

Антиген — любая молекула, которая специфично связывается с антителом. По отношению к организму антигены могут быть как внешнего, так и внутреннего происхождения. Хотя все антигены могут связываться с антителами, не все они могут вызвать массовую продукцию этих антител организмом, то есть иммунный ответ.

⁴⁷ Значительная часть слов выделена в тексте курсивом.

Археи — домен живых организмов (по трехдоменной системе Карла Везе наряду с бактериями и эукариотами). Археи представляют собой одноклеточные микроорганизмы, не имеющие ядра, а также каких-либо мембранных органелл.

Атаксия — расстройство координации движений; весьма часто встречающееся нарушение моторики. Сила в конечностях незначительно снижена или сохранена полностью. Движения становятся неточными, неловкими, расстраивается их преемственность и последовательность, нарушено равновесие в положении стоя и при ходьбе.

Атаксия Фридрейха — аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся дегенеративным повреждением нервной системы вследствие наследуемой мутации в гене FXN, кодирующем белок фратаксин. Названа в честь немецкого врача Николауса Фридрейха, который первым описал ее в 1860 году.

Агрезия — врожденное отсутствие или приобретенное заращение естественных отверстий и каналов в организме.

Аденозинтрифосфатсинта́за (АТФ-синта́за, АТФ-фосфогидролаза) — группа ферментов, относящихся к классу лиаз, синтезирующих аденозинтрифосфат (АТФ) из аденозиндифосфата (АДФ) и неорганических фосфатов. АТФ-синтазы очень важны для жизнедеятельности почти всех организмов, так как АТФ относится к так называемым макроэргическим соединениям, при гидролизе которых происходит освобождение значительного количества энергии.

Бактериофа́ги или фа́ги — вирусы, избирательно поражающие бактериальные клетки. Чаще всего бактериофаги размножаются внутри бактерий и вызывают их лизис. Как правило, бактериофаг состоит из белковой оболочки и генетического материала

одноцепочечной или двуцепочечной нуклеиновой кислоты (ДНК или, реже, РНК).

Бивалент — в генетике — пара гомологичных хромосом, связывающихся друг с другом во время мейоза посредством специального комплекса после удвоения хромосом.

Биполярная депрессия — **биполярное расстройство, маниакальная депрессия, маниакально-депрессивный психоз** — эндогенное психическое заболевание, которое проявляется в виде аффективных состояний — маниакальных (или гипоманиакальных) и депрессивных, а иногда и смешанных состояний, при которых у больного наблюдаются быстрая смена симптомов мании (гипомании) и депрессии, либо симптомы депрессии и мании одновременно (например, тоска со взвинченностью, беспокойством либо эйфория с заторможенностью — так называемая непродуктивная мания — или другие). Возможны многообразные варианты «смешанных» состояний.

Биотин (витамин Н, витамин В7, кофермент R) — водорастворимый витамин группы В.

Блот-гибридизация — рестрикция геномной ДНК одной или несколькими рестриктазами.

Болезнь Хантингтона (синдром Хантингтона, хорea Хантингтона или Гентингтона) — генетическое заболевание нервной системы, характеризующееся постепенным началом обычно в возрасте 30–50 лет. Заболевание вызывается умножением кодона САG в гене IT-15. Нейроморфологическая картина характеризуется атрофией атрофией коры головного мозга.

Вербальная диспраксия — нарушения речи у детей при отсутствии видимых нарушений и параличей.

Гемофилия или Гемофилия (от др.-греч. αἷμα — «кровь» и др.-греч. φιλία — «любовь») — наследственное

заболевание, связанное с нарушением коагуляции (процессом свертывания крови).

Гепатоспленомегалия — синдром, при котором характеризуется одновременное увеличение селезенки и печени.

Гетерозигота — клетка (или организм), содержащая два различных аллеля в конкретном локусе гомологичных хромосом.

Гетерозиготность — наличие разных аллелей в диплоидной клетке.

Гетерозиготный организм — организм, имеющий две различные формы данного гена (разные аллели) в гомологичных хромосомах.

Гибридизация — процесс образования или получения гибридов, в основе которого лежит объединение генетического материала разных клеток в одной клетке.

Гибридизация *in situ* — гибридизация на гистологических или хромосомных препаратах.

Гипертелоризм — ненормальное (увеличенное) расстояние между двумя парными органами. Обычно имеется в виду глазной гипертелоризм, для которого характерно увеличенное расстояние между внутренними углами глаз и зрачками.

Гипертрихоз — заболевание, проявляющееся в избыточном росте волос, не свойственном данному участку кожи, не соответствующему полу и/или возрасту. Клинически различают врожденную (общую и ограниченную) и приобретенную формы гипертрихоза. Преимущественно заболевание женщин.

Гипогонадизм (мужской) — патологическое состояние, обусловленное недостаточной секрецией андрогенов и/или недостаточностью гаметогенеза.

Гипоплазия — порок развития, заключающийся в недоразвитии зуба или его тканей в период их формирования. Крайним выражением гипоплазии является

аплазия, врожденное отсутствие зуба, части или всей эмали. Чаще всего гипоплазия поражает эмаль зубов (причем постоянные зубы страдают больше, чем временные), в более тяжелых случаях — дентин. Гипоплазия зубов в той или иной своей форме является достаточно распространенным заболеванием и наблюдается примерно у 30% людей.

Гипоспадия — врожденная аномалия развития половых органов, которая характеризуется ненормальным расположением отверстия мочеиспускательного канала (уретры). Отверстие уретры при гипоспадии располагается не на вершине головки пениса, а на нижней поверхности пениса, в области мошонки, или даже за мошонкой.

Гистоны — обширный класс ядерных белков, выполняющих две основные функции: они участвуют в упаковке нитей ДНК в ядре и в эпигенетической регуляции таких ядерных процессов, как транскрипция, репликация и репарация.

Гистосовместимость — совместимость органов и тканей, например, при трансплантации совместимая ткань не отторгается организмом реципиента. Определяется специфическими антигенными комплексами НЛА системы расположенных на мембране клеток.

Глобины — семейство белков, вероятнее всего, обладающих общим предком. Все они содержат цепочку из 8 альфа-спиралей. Два наиболее известных представителя этого семейства: миоглобин и гемоглобин обладают способностью обратимой связи с кислородом. Белки этого семейства широко распространены в различных организмах.

Градиент — нарастание или уменьшение по какому-либо направлению концентрации растворенного вещества.

Гуанин (Гуа, Gua) — азотистое основание.

Делеции (от *лат.* *deletio* — уничтожение) — хромосомные перестройки, при которых происходит потеря участка хромосомы. Делеция может быть следствием разрыва хромосомы или результатом неравного кроссинговера. По положению утерянного участка хромосомы делеции классифицируют на внутренние (интерстициальные) и концевые (терминальные).

Дальтонизм, цветовая слепота — наследственная, реже приобретенная особенность зрения человека и приматов, выражающаяся в неспособности различать один или несколько цветов. Названа в честь Джона Дальтона, который впервые описал один из видов цветовой слепоты на основании собственных ощущений в 1794 году.

Дезаминирование — процесс удаления аминогрупп от молекулы. Ферменты, катализирующие дезаминирование, называют деаминазами.

Денатурация — термин, означающий потерю белками их естественных свойств (растворимости, гидрофильности и др.) вследствие нарушения пространственной структуры их молекул.

Диакнез — заключительная стадия профазы гетеротипического деления. Во время диакнеза легко подсчитывается число хромосом.

Дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) — заболевание миокарда, характеризующееся развитием дилатации (растяжения) полостей сердца, с возникновением систолической дисфункции, но без увеличения толщины стенок.

Дот-гибридизация — гибридизация с меченым ДНК зондом препаратов ДНК или РНК, нанесенных в виде капли на твердый матрикс без предварительной рестрикции и электрофореза.

Изохоры — участки геномов различных по таксономическому положению организмов, характеризующиеся сходным нуклеотидным составом.

Инбредные линии (чистые линии (у высших организмов); чистые культуры, штаммы и клоны у микроорганизмов) — ограниченная совокупность наследственно однородных организмов, происходящих от одного общего предка.

Инверсия — изменение структуры хромосомы, вызванное поворотом на 180° одного из внутренних ее участков.

Инсерция — тип хромосомной перестройки, заключающийся в появлении вставки в каком-либо участке нуклеотидной последовательности.

Интеркаляция — обратимое включение молекулы или группы между другими молекулами или группами.

Интрон — участок ДНК, который является частью гена, но не содержит информации о последовательности аминокислот белка.

Кариолемма (carvolemma, кариотека, нуклеомембрана, ядерная мембрана, ядерная оболочка) — оболочка, ограничивающая содержимое клеточного ядра от окружающей его цитоплазмы; состоит из наружного и внутреннего листков, разделенных перинуклеарным пространством.

Кинетохор — белковая структура на хромосоме, к которой крепятся волокна веретена деления во время деления клетки. Кинетохоры играют важнейшую роль при сегрегации хромосом для последующего разделения родительской клетки на две дочерние.

Ковалентная связь (атомная связь, гомеополлярная связь) — химическая связь, образованная перекрытием (обобществлением) пары валентных электронных облаков. Обеспечивающие связь электронные облака (электроны) называются общей электронной парой.

Кодо́н (кодирующий тринуклеотид) — единица генетического кода, тройка нуклеотидных остатков (триплет) в ДНК или РНК, обычно кодирующих включение одной аминокислоты. Последовательность кодонов в гене определяет последовательность аминокислот в полипептидной цепи белка, кодируемого этим геном.

Колобома — дефект в оболочках глаза приобретенный или врожденный (генотипический).

Комплементарность (в химии, молекулярной биологии и генетике) — взаимное соответствие молекул биополимеров или их фрагментов, обеспечивающее образование связей между пространственно взаимодополняющими (комплементарными) фрагментами молекул или их структурных фрагментов вследствие супрамолекулярных взаимодействий.

Конъюгация (от *лат.* *conjugatio* — соединение) — процесс точного и тесного сближения гомологичных хромосом.

Кордоцентез — метод получения кордовой (пуповинной крови) плода для дальнейшего исследования.

Лизат — суспензия фаговых частиц и обломков бактериальных клеток, образующаяся в результате разрушения клеток в процессе фаговой инфекции

Лютеинизирующий гормон (ЛГ, лютеотропин, лютропин) — пептидный гормон, секретируемый гонадотропными клетками передней доли гипофиза. Необходим для нормальной работы репродуктивной системы. В женском организме стимулирует секрецию яичниками эстрогенов, а пиковое повышение его уровня инициирует овуляцию.

Матрикс — структура ткани.

Метаболиты — продукты метаболизма каких-либо соединений.

Метилирование — введение в органические соединения метильной группы — СН₃ вместо атома водорода, металла или галогена. Метилирование в терминальном положении приводит к удлинению углеродной цепи в молекуле на 1 атом.

Метабономика — научное изучение химических процессов, в которые вовлечены метаболиты.

Миастения — аутоиммунное нервно-мышечное заболевание, характеризующееся патологической, быстрой утомляемостью поперечнополосатых мышц.

Миопатия — хронические прогрессирующие наследственные нервно-мышечные заболевания, характеризующиеся первичным поражением мышц.

Митохондриальные болезни (цитопатии) — гетерогенная группа системных расстройств, обусловленных мутациями митохондриального или ядерного генома, которые поражают преимущественно мышечную, нервную и нервно-мышечную системы.

Муковисцидоз (кистозный фиброз) — системное наследственное заболевание, обусловленное мутацией гена трансмембранного регулятора муковисцидоза и характеризующееся поражением желез внешней секреции, тяжелыми нарушениями функций органов дыхания и желудочно-кишечного тракта.

Мышечная дистрофия Дюшенна — наследственная прогрессирующая мышечная дистрофия, характеризующаяся началом в раннем возрасте, симметричной атрофией мышц в сочетании с сердечно-сосудистыми, костно-суставными и психическими нарушениями, злокачественным течением.

Нейропатией — поражение нервов независимо от этиологии.

Нистагм — произвольные колебательные движения глаз высокой частоты (до нескольких сотен в минуту).

Нитрозометилмочевина — синтетическое противоопухолевое средство, обладающее высокой мутагенной активностью.

Нуклеотид — сложная химическая группа, встречающаяся в естественном состоянии, содержит азотистое основание, соединенное с сахаром, и фосфорную кислоту. Нуклеотиды являются строительным материалом для ДНК и РНК. В молекулах нуклеиновых кислот нуклеотиды соединены посредством связей между сахаром и фосфатными группами.

Онкогенез — процесс превращения нормальных клеток, тканей в опухолевые. Включает ряд предопухолевых стадий и завершается опухолевой трансформацией.

Опухоль Вильмса (нефробласта) — высокозлокачественная эмбриональная опухоль, происходящая из развивающихся тканей почек.

Ооцит — женская половая клетка в период ее роста в яичнике.

Отосклероз — заболевание, связанное с патологическим ростом кости в среднем ухе и способное привести к значительному ухудшению и даже потере слуха.

Пароксизмальная миоплегия (наследственные пароксизмальные миоплегии) — группа заболеваний, объединенных клиническим синдромом внезапных приступов мышечной слабости.

Пептидная связь — вид амидной связи, возникающей при образовании белков и пептидов.

Праймер — короткий фрагмент нуклеиновой кислоты (олигонуклеотид), комплементарный ДНК- или РНК-мишени, служит затравкой для синтеза комплементарной цепи с помощью ДНК-полимеразы (при репликации ДНК).

Пробанд — индивидуум, помещенный в основание выстраиваемого генеалогического древа.

Пода́гра — гетерогенное по происхождению заболевание, которое характеризуется отложением в различных тканях организма кристаллов уратов в форме мочевой кислоты. В основе возникновения лежит накопление мочевой кислоты и уменьшение ее выведения почками, что приводит к повышению концентрации последней в крови. Клинически подагра проявляется рецидивирующим острым артритом и образованием подагрических узлов — тофусов. Чаще заболевание встречается у мужчин, однако в последнее время возрастает распространенность заболевания среди женщин, с возрастом распространенность подагры увеличивается. Для лечения используются препараты, воздействующие на патогенетический механизм заболевания, а также препараты для симптоматического лечения.

Полярное тельце (направительное тельце) — образуется в процессе оогенеза в результате первого и второго мейотического деления. Полярное тело имеет гаплоидный набор хромосом. Используется в технологии искусственного оплодотворения (ЭКО), как материал для анализа потенциального качества яйцеклетки.

Промотор — в генетике это последовательность нуклеотидов ДНК, узнаваемая РНК-полимеразой как стартовая площадка для начала специфической, или осмысленной, транскрипции.

Пронуклеусы (предшественники ядра) — гаплоидные ядра гамет в составе зиготы (гаплоидные ядра зиготы).

Радиоавтография — метод исследования, основанный на введении в исследуемый объект соединения, меченого радиоактивным атомом и выявлении места его включения путем фотографической регистрации излучения.

Рестриктаза (restriction endonuclease) — бактериальный фермент, расщепляющий молекулу ДНК в строго специфических сайтах.

Рестрикционный анализ (restriction analysis) [*лат.* restrictio — ограничение; *греч.* analysis — разложение, расчленение] — установление мест расщепления конкретной нуклеотидной последовательности ДНК.

Рестрикция — разрез цепочки ДНК, осуществляемый специальным ферментом (рестриктазой).

Ретровирусы — семейство РНК-содержащих вирусов, заражающих преимущественно позвоночных. Наиболее известный и активно изучаемый представитель — вирус иммунодефицита человека.

Ретинобластома — злокачественная опухоль сетчатки глаза.

Ретротранспозоны (мобильные генетические элементы первого типа, или транспозоны, перемещающиеся через РНК интермедиаты) — это генетические элементы, которые могут самовоспроизводиться в геноме и являются вездесущими компонентами ДНК многих эукариотических организмов.

Рибоза — моносахарид из группы пентоз, бесцветные кристаллы, легко растворимые в воде и имеющие сладкий вкус.

Рибосо́ма — важнейший немембранный органоид живой клетки сферической или слегка эллипсоидной формы, диаметром от 15–20 нанометров (прокариоты) до 25–30 нанометров (эукариоты), состоящий из большой и малой субъединиц. Рибосомы служат для биосинтеза белка из аминокислот по заданной матрице на основе генетической информации, предоставляемой матричной РНК, или мРНК. Этот процесс называется трансляцией.

Сайленсер — последовательность ДНК, с которой связываются белки-репрессоры (факторы транскрипции).

Связывание белков-репрессоров с сайленсерами приводит к понижению или к полному подавлению синтеза РНК ферментом ДНК-зависимой РНК-полимеразой.

Сайт — участок молекулы ДНК, белка и т. п.

Седиментация (осаждение) — оседание частиц дисперсной фазы в жидкости или газе под действием гравитационного поля или центробежных сил. Скорость седиментации зависит от массы, размера, формы и плотности вещества частицы, вязкости и плотности среды, а также от ускорения, силы тяжести и действующих на частицы центробежных сил.

Секвенирование биополимеров (белков и нуклеиновых кислот — ДНК и РНК) — определение их аминокислотной или нуклеотидной последовательности (от лат. sequentum — последовательность). В результате секвенирования получают формальное описание первичной структуры линейной макромолекулы в виде последовательности мономеров в текстовом виде.

Серповидноклеточная анемия — наследственная гемоглобинопатия, связанная с таким нарушением строения белка гемоглобина, при котором он приобретает особое кристаллическое строение — так называемый гемоглобин S. Эритроциты, несущие гемоглобин S вместо нормального гемоглобина A, под микроскопом имеют характерную серпообразную форму (форму серпа), за что эта форма гемоглобинопатии и получила название серповидноклеточной анемии. Эритроциты, несущие гемоглобин S, обладают пониженной стойкостью и пониженной кислород-транспортирующей способностью, поэтому у больных с серповидноклеточной анемией повышено разрушение эритроцитов в селезенке, укорочен срок их жизни, повышен гемолиз и часто имеются признаки хронической гипоксии (кислородной недостаточности) или хронического «перераздражения» эритроцитарного ростка костного мозга.

Синдактилия — врожденный порок, генная наследственная болезнь, проявляющаяся в полном или неполном сращивании пальцев кисти/стопы в результате не наступившего их разъединения в процессе эмбрионального развития. Передается по X-сцепленному наследованию как доминантный признак. Встречается одинаково часто у мужчин и женщин.

Синдром (болезнь) Марфана — аутосомно-доминантное заболевание из группы наследственных патологий соединительной ткани. Синдром вызван мутациями генов. Заболевание характеризуется различной пенетрантностью и экспрессивностью.

Синдром Альпорта (наследственный нефрит) — наследственное заболевание, при котором функция почек снижена, в моче присутствует кровь; синдром иногда сопровождается глухотой и поражением глаз.

Синдром Олбрайта — заболевание, характеризующееся триадой признаков: фиброзная остеодисплазия, очаги кожной гиперпигментации и преждевременное половое созревание. Значительно чаще встречается у женщин. Этиология синдрома Олбрайта неизвестна; предполагают неврогенные влияния и эндокринные сдвиги.

Синдром Клайнфельтера — генетическое заболевание. Клиническая картина синдрома описана в 1942 году в работах Гарри Клайнфельтера и Фуллера Олбрайта. Генетической особенностью этого синдрома является разнообразие цитогенетических вариантов и их сочетаний (мозаицизм).

Синдром Шерешевского-Тёрнера — хромосомная болезнь, сопровождающаяся характерными аномалиями физического развития, низкорослостью и половым инфантилизмом. Моносомия по X-хромосоме (XO).

Синдром Жакоб — прогрессирующее дистрофическое заболевание коры большого мозга, базальных

ганглиев и спинного мозга. Считается основным проявлением губчатой энцефалопатии (прионная болезнь).

Синдром трипло-Х — наследственное нарушение, обусловленное наличием дополнительной Х хромосомы.

Синдром Дауна (трисомия по хромосоме 21) — одна из форм геномной патологии, при которой чаще всего кариотип представлен 47 хромосомами вместо нормальных 46, поскольку хромосомы 21-й пары, вместо нормальных двух, представлены тремя копиями.

Синдром Пра́дера-Вилли — редкое наследственное заболевание, причиной которого является отсутствие отцовской копии участка хромосомы 15q11–13. В этом участке хромосомы 15 находятся гены, в регуляции которых задействован геномный импринтинг. Большинство случаев является спорадическими, для редких описанных семейных случаев характерно неменделевское наследование.

Синдром Патáу (трисомия 13) — хромосомное заболевание человека, которое характеризуется наличием в клетках дополнительной хромосомы 13.

Синдром Эдвардса (синдром трисомии 18) — хромосомное заболевание, характеризуется комплексом множественных пороков развития и трисомией 18 хромосомы. Описан в 1960 году Джоном Эдвардсом.

Синдром Энгельмана — генетическая аномалия. Для него характерны задержка психического развития, нарушения сна, припадки, хаотические движения (особенно рук), частый смех или улыбки. При синдроме Энгельмана отсутствуют некоторые гены из 15-й хромосомы (в большинстве случаев — частичная делеция либо другая мутация 15 хромосомы). При синдроме Энгельмана страдает материнская хромосома.

Слот-гибридизация — гибридизация с очищенным ДНК зондом.

Соматические клетки — (*др.-греч.* σῶμα — тело) — клетки, составляющие тело (сому) многоклеточных организмов и не принимающие участия в половом размножении. Таким образом, это все клетки, кроме гамет.

Спермий — (от сперма), гаплоидная мужская половая клетка; то же, что сперматозоид. Безжгутиковая мужская половая клетка у семенных растений; активно не двигается.

Стехиометрия — система законов, правил и терминов, обосновывающих расчеты состава веществ и количественных соотношений между массами (объемами для газов) веществ в химических реакциях. Стехиометрия включает нахождение химических формул, составление уравнений химических реакций, расчеты, применяемые в препаративной химии и химическом анализе

Стигмы дизэмбриогенеза — отклонения в анатомическом строении органа, не вызывающие значимых нарушений его функций.

Супрессорная мутация — мутация, восстанавливающая дикий фенотип (измененный предшествующей мутацией) без восстановления исходного генотипа. Этим супрессорные мутации отличаются от обратных мутаций, которые точно восстанавливают исходный генотип.

Телекант — латеральное смещение внутреннего угла глаз.

Терминация транскрипции у эукариот — разрезание РНК, после чего к ее 3' концу фермент добавляет несколько аденинов (...АААА), от числа которых зависит стабильность данного транскрипта. Изучена мало.

Тимин — одно из азотистых оснований.

Транслокация — тип хромосомных мутаций, при которых происходит перенос участка хромосомы на негомологичную хромосому. Отдельно выделяют

реципрокные транслокации, при которых происходит взаимный обмен участками между хромосомами, и Робертсоновские транслокации, или центрические слияния, при которых происходит слияние акроцентрических хромосом с полной или частичной утратой материала коротких плеч. Транслокации, так же, как и другие хромосомные перестройки, играют роль в видообразовании, в онкологических и врожденных наследственных заболеваниях.

Уридин (урацилрибозид) — нуклеозид, состоящий из остатков пиримидинового основания урацила и рибозы. Обнаружен во всех живых клетках в составе РНК.

Фаллопиевы трубы (маточные трубы или яйцеводы) — парный трубчатый орган, соединяющий полость матки с брюшной полостью. Названы по имени итальянского анатома XVI века Габриэля Фаллопия, впервые описавшего их.

Фенилкетонурия — (фенилпировиноградная олигофрения) — наследственное заболевание группы ферментопатий, связанное с нарушением метаболизма аминокислот, главным образом фенилаланина. Сопровождается накоплением фенилаланина и его токсических продуктов, что приводит к тяжелому поражению ЦНС, проявляющемуся, в частности, в виде нарушения умственного развития.

Ферменты, или энзимы — обычно белковые молекулы или молекулы РНК (рибозимы) или их комплексы, ускоряющие (катализирующие) химические реакции в живых системах.

Фибробласты — клетки соединительной ткани организма, синтезирующие внеклеточный матрикс.

Фингерпринт — снятие отпечатков ДНК.

Флуорохром, флуорофор — флуоресцирующий краситель, природное или синтетическое соединение,

которое после облучения ультрафиолетовыми или синими лучами начинает испускать (флуоресцировать) характерное свечение.

Футпринт (футпринтинг) — метод поиска в структуре ДНК последовательностей связывания ДНК-связывающих белков.

Хорион — термин, используемый применительно к некоторым эмбриологическим структурам:

зародыш плацентарного млекопитающего; сероза; кутикулярная оболочка, окружающую яйцо у большинства многоклеточных животных и т. д.

Хорионбиопсия — инвазивная процедура, заключающаяся в получении *ворсин хориона* для последующего исследования в целях диагностики врожденных и наследственных заболеваний плода.

Хроматида — структурный элемент хромосомы, формирующийся в интерфазе ядра клетки в результате удвоения (репликации) хромосомы.

Центромера — участок хромосомы, характеризующийся специфической последовательностью нуклеотидов и структурой. Центромера играет важную роль в процессе деления клеточного ядра и в контроле экспрессии генов.

Цитозин — азотистое основание, производное пиримидина.

Цитоплазма — внутренняя среда живой или умершей клетки, кроме ядра и вакуоли, ограниченная плазматической мембраной. Включает *гиалоплазму* — основное прозрачное вещество цитоплазмы, находящиеся в ней обязательные клеточные компоненты — *органеллы*, а также различные непостоянные структуры — включения.

Цитоскелет — клеточный каркас или скелет, находящийся в цитоплазме живой клетки. Он присутствует во всех клетках эукариот.

Экзон — участок гена (ДНК) эукариот, несущий генетическую информацию, кодирующую синтез продукта гена (белка).

Эктопия — нарушение развития; термин используется в медицине и биологии. Смещение органа или ткани в необычное место, часто в соседние полости тела или наружу. Эктопия может быть врожденным пороком развития либо же может быть следствием повреждения тканей в результате травмы. Некоторые, но не все, виды эктопий могут быть устранены хирургическим вмешательством.

Электрофорез (от электро- и др.-греч. φορέω — «переносу») — электрокинетическое явление перемещения частиц дисперсной фазы (коллоидных или белковых растворов) в жидкой или газообразной среде под действием внешнего электрического поля. Электрофорез является одним из наиболее важных методов для разделения и анализа компонентов веществ в химии, биохимии и молекулярной биологии.

Элонгация — последовательное присоединение аминокислотных остатков к С-концевым частям строящихся полипептидных цепей, направляемое кодонами транслируемых матричных РНК.

Эндоплазматическая сеть (цитоплазматическая сеть) — клеточный органоид; представляет собой ограниченную мембраной разветвленную сеть мелких вакуолей (пузырьков), цистерн и канальцев, соединенных между собой.

Энхансер — небольшой участок ДНК, способный связываться с факторами транскрипции, при этом увеличивая уровень транскрипции гена или группы генов.

Эписомы — генетические элементы бактерий, способные функционировать в клетке независимо от бактериальной хромосомы. Эписомы представляют собой молекулы ДНК. Они определяют в бактериях ряд при-

знаков, важнейшим из которых является устойчивость к антибиотикам и сульфаниламидным препаратам.

Этиленимин (азиридин, азацicloпропан) — азотсодержащее гетероциклическое соединение. Относится к циклическим аминам.

Эукариоты, или ядерные — домен (надцарство) живых организмов, клетки которых содержат ядра. Все организмы, кроме бактерий и архей, являются ядерными (вирусы и вироиды также не являются эукариотами, но не все биологи считают их живыми организмами).

Примерные варианты тестовых заданий

Отметьте номера ответов, раскрывающих суть поставленных вопросов

Тест-контроль:

<p>1. В чем отличие генотипической и фенотипической изменчивости? (2 из 5)</p>	<p>1. Генотипическая изменчивость наблюдается только в половых клетках, а фенотипическая — в аутосомах.</p> <p>2. Генотипическая изменчивость связана с рекомбинацией генов, а фенотипическая — с их мутацией.</p> <p>3. Генотипическая изменчивость связана с изменением генотипа по типу мутации или рекомбинации генов, а фенотипическая — не связана с изменениями генотипа.</p> <p>4. Генотипические мутации всегда носят спонтанный характер.</p> <p>5. Генотипическая изменчивость наследуется, а фенотипическая — нет.</p>
<p>2. Раскройте суть понятий «экспрессивность гена» и «экспрессия генов». (2 из 5)</p>	<p>1. Частота проявления аллеля определенного гена у особей данной популяции.</p> <p>2. Действие одного гена на многие признаки.</p> <p>3. Активность генома человека на разных этапах онтогенеза.</p> <p>4. Совокупность всех генов, полученных организмом от его родителей.</p> <p>5. Степень фенотипической выраженности одного и того же аллеля определенного гена у разных особей.</p>

<p>3. Какие признаки у человека наследуются независимо? (3 из 5)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Размеры составных частей тела (рост, вес, длина рук, ног и пр.). 2. Склонность к облысению. 3. Цвет и качество волос. 4. Цвет глаз. 5. Молочность и жирность молока.
<p>4. Сколько хромосом в нормальных соматических клетках человека? (2 из 5)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 92. 2. 46. 3. 23 пары. 4. 46 пар. 5. 22 аутосомных и 2 половых пары.
<p>5. От чего зависит пол человека? (1 из 5)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. От скорости оплодотворения яйцеклетки. 2. От сочетания X- и Y-хромосом в гаплоидных карิโอטיפах спермия и яйцеклетки. 3. От идентичности аллелей в парных генах карิโอטיפа. 4. От количества сперматозоидов, проникших в яйцеклетку при оплодотворении. 5. От функциональной активности спермия.
<p>6. Можно ли назвать коллектив большого предприятия популяцией? (2 из 5)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Можно, при численности работающих более 10 000 человек. 2. Нельзя, поскольку популяция — это совокупность свободно скрещивающихся особей. 3. Нельзя, поскольку популяция — это относительно обособленная совокупность особей, проживающая на определенной территории. 4. Можно, если предприятие расположено вне селитебной зоны. 5. Нельзя, поскольку популяция — это совокупность особей с одинаковым генофондом.

<p>7. Какие факты свидетельствуют о том, что аномалии рефракции имеют наследственную природу? (2 из 5)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Высокая конкордантность нарушений рефракции у дизиготных близнецов. 2. Высокая конкордантность нарушений рефракции у монозиготных близнецов. 3. Семейное проявление косоглазия и аномалий рефракции. 4. Дискордантность нарушений рефракции у дизиготных близнецов. 5. Дискордантность нарушений рефракции у монозиготных близнецов.
<p>8. Среди изученных 25 пар монозиготных и 20 пар дизиготных близнецов-заик конкордантны по заиканию были, соответственно, 4 (вероятность 16,0%) и 5 (вероятность 25,0%). О чем говорят приведенные частоты вероятности возникновения заикания? (1 из 5)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. В формировании заикания ведущую роль играют средовые факторы. 2. В формировании заикания ведущую роль играют генетические факторы. 3. Столь низкие вероятности отвергают генетическую и средовую обусловленность возникновения заикания. 4. Приведенные вероятности говорят о психогенной природе данного дефекта речи. 5. Приведенные частоты вероятности свидетельствуют о случайном характере возникновения данного дефекта речи.
<p>9. Генетически обусловленный дефект восприятия запаха. (1 из 5)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Извращенное восприятие запаха. 2. Аносмия — отсутствие способности к восприятию запахов. 3. Гиперосмия — повышенная чувствительность к запахам. 4. Гипосмия — снижение чувствительности к запахам. 5. Феромоносмия — отсутствие способности воспринимать запахи, привлекающие особей противоположного пола.

10. Разновидности генных мутаций. (1 из 5)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Моно-, ди- и трисомии по X- или Y-хромосоме. 2. Полиплодия. 3. Псевдонормальный кариотип. 4. Модификация. 5. Однородительская дисомия.
11. Какие признаки у человека относятся к доминирующим? (1 из 5)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Признак, подавляющий остальные фенотипические признаки. 2. Признак, являющийся ведущим среди остальных фенотипических признаков. 3. Фенотипический признак, сохраняющийся у индивида наиболее долго. 4. Фенотипический признак, проявившийся из альтернативной пары родительских аллелей. 5. Фенотипические признаки, определяемые мутантным геном.
12. Что такое «гомозигота и гетерозигота»? (2 из 5)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Гомозигота — это организм-носитель двух одинаковых аллелей признаков (AA или aa). 2. Гомозигота — это кариотип с полным набором гомологичных хромосом. 3. Гетерозигота — это кариотип с полным набором пар гомологичных хромосом. 4. Гетерозигота — это организм-носитель разных аллелей признаков (Aa). 5. Гетерозигота — это кариотип, у которого в определенном участке хромосомы локализуется множество аллелей, представляющих собой альтернативные варианты гена.

13. Зависит ли модификационная изменчивость от наследственности? (1 из 2)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Зависит, поскольку эффект среднего воздействия зависит от генотипа объекта воздействия. 2. Не зависит, поскольку модификационная изменчивость характеризует ненаследственную форму изменчивости.
14. Кого считают основоположником генетики как науки? (1 из 5)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Чарльза Дарвина 2. Томаса Моргана 3. Грегора Менделя 4. Августа Вейсмана 5. Карла Корренса
15. Что такое «пол» и «гендер»? (2 из 5)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Совокупность вторичных половых признаков, обуславливающих отношение индивида к мужской или женской особи. 2. Совокупность фенотипических признаков, отражающих реализацию мужского или женского генотипа. 3. Совокупность психических, социальных и культурных различий мужской и женской особи. 4. Это полные синонимы, отражающие принадлежность индивида к мужской или женской особи. 5. Это — полные синонимы, различающиеся лишь по их детерминированности: пол обуславливается психосоциальными, а гендер — биологическими причинами.
16. Что отражают тесты IQ? (1 из 5)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Уровень генетической полноценности индивида. 2. Уровень интеллектуального развития индивида. 3. Уровень школьной грамотности индивида. 4. Проявление личностных свойств человека. 5. Проявление личностных качеств человека.

<p>17. Каков эволюционный механизм непереносимости молока у взрослых особей? (3 из 5)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Переносимость молока в течение всего онтогенеза сформировалась эволюционно на основе мутации, подхваченной естественным отбором у потомков древних скотоводов. 2. У людей с генотипами LL и L/l лактаза вырабатывается в течение всей жизни, а с генотипом l/l — только в раннем детстве, после чего продукция лактазы прекращается. 3. Ген лактазы прекращает работу, когда в этом, «с точки зрения природы», исчезает необходимость. 4. Формирование непереносимости молока у ряда популяций обусловлено их социокультурными особенностями. 5. Диким млекопитающим во взрослом состоянии молоко «не положено», поэтому необходимости в постоянной активности лактазы нет, и она исчезает.
<p>18. Причины межпопуляционных различий в реакции на алкоголь? (2 из 5)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Различия в структуре ферментов, ответственных за метаболизм алкоголя в организме. 2. Предрасположенность к алкоголизму наиболее высока у потомков отца-алкоголика, а врожденных уродств — у детей матери-алкоголички. 3. Индивиды с эйфоричной реакцией на прием алкоголя имеют больше шансов стать алкоголиками, чем индивидуумы с реакцией «оглушения». 4. Накопление продуктов метаболизма алкоголя (альдегидов) в крови монголоидов, в силу недостаточной активности или отсутствия у них фермента альдегиддегидрогеназы (ALDH).

	5. Различный уровень культуры потребления алкогольных напитков.
19. Что понимают под «динамическими генными мутациями»? (2 из 5)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Мутации, активно протекающие в процессе онтогенеза организма. 2. Мутации, характеризующиеся прогрессирующим изменением наследственного материала при его передаче из поколения в поколение. 3. Мутации, вызванные рекомбинациями генов в хромосомах. 4. Мутации, приводящие к прогрессирующему учащению случаев наследственных заболеваний от поколения к поколению. 5. Мутации, закрепленные наследственностью в течение одного поколения.
20. Что такое «генетика»? (1 из 5)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Это наука о влиянии внешней и внутренней среды на наследственный аппарат человека. 2. Это наука о наследственности и изменчивости организмов. 3. Это наука о дискретности наследственных факторов организма. 4. Это наука, изучающая причины, механизмы и способы лечения наследственных заболеваний человека. 5. Это наука, изучающая условия возникновения здорового потомства у особей с разной степенью болезненной отягощенности.
21. Что понимают под «спонтанными» и «индуцированными» мутациями? (2 из 5)	1. Спонтанные мутации — это мутации, обусловленные изменением собственного генетического материала.

	<p>2. Индуцированные мутации — это мутации, обусловленные возникновением новых сочетаний генов.</p> <p>3. Спонтанные мутации — это мутации, носящие случайный характер.</p> <p>4. Индуцированные мутации — это мутации, носящие вероятностный характер.</p> <p>5. Индуцированные мутации — это мутации соматической клетки, не передающиеся по наследству.</p>
<p>22. Что такое «гетерозис»? (1 из 5)</p>	<p>1. Положительный генетический эффект отдаленных браков.</p> <p>2. Повышенная жизнеспособность потомства, полученного от неродственного скрещивания.</p> <p>3. Проникновение гена в популяции путем миграции.</p> <p>4. Фактор эволюции, вызывающий адаптивные изменения в генетической структуре популяций.</p> <p>5. Система выбора брачного партнера.</p>
<p>23. Чем характеризуется генетический «эффект бутылочного горлышка» в немногочисленных популяциях? (1 из 5)</p>	<p>1. В небольших популяциях отмечается динамическое увеличение случайных изменений частот генов из поколения в поколение.</p> <p>2. При быстром уменьшении размера популяции, редкие аллели могут быть утеряны при гибели их носителей, вследствие чего происходит резкое снижение аллельного разнообразия и уменьшение частоты гетерозигот.</p> <p>3. Частоты генов и генотипов остаются постоянными от поколения к поколению.</p>

	<p>4. Когда небольшая группа людей выходит из родительской популяции и обосновывается в новом месте, она приносит с собой случайную для родительской популяции выборку.</p> <p>5. Немногочисленные популяции приводят к увеличению частоты инбридинга и повышению вероятности гомозиготного потомства по какому-либо случайно выбранному аутосомному локусу.</p>
24. Что такое «генофонд»? (1 из 5)	<p>1. «Банк» генетического материала определенной популяции.</p> <p>2. Совокупности генов, встречающихся в данной популяции.</p> <p>3. Совокупности генов, формирующиеся в популяции в результате искусственного отбора.</p> <p>4. Совокупность модифицированных генов в данной популяции.</p> <p>5. Генетический материал, полученный от генетически отдаленных браков.</p>
25. Что такое «инбридинг» и «аутбридинг»? (2 из 5)	<p>1. Разновидность обучения, при которой стимул или комплекс стимулов приобретают ключевое значение для запуска поведенческой реакции.</p> <p>2. Браки между биологическими родственниками.</p> <p>3. Несовпадение по определенному признаку в близнецовой паре.</p> <p>4. Совпадение по определенному признаку в близнецовой паре.</p> <p>5. Генетически отдаленные браки.</p>
26. Какова роль внешней и внутренней среды в развитии наркомании? (1 из 5)	<p>1. Среда подталкивает человека попробовать наркотики, а гены «подсаживают» его на иглу.</p>

	<p>2. Потомки наркоманов испытывают непреодолимое желание попробовать наркотики.</p> <p>3. Окружение наркомана играет решающую роль в его пристрастии к наркотикам.</p> <p>4. Гены наркопотомства определяют выбор наркотика.</p> <p>5. Пристрастие к наркотику определяет выраженность зрительных и слуховых галлюцинаций при его опробовании.</p>
<p>27. Причины врожденной глухоты. (4 из 5)</p>	<p>1. Родовая травма.</p> <p>2. Патологическая наследственность.</p> <p>3. Воздействие на эмбрион тератогенных факторов, в том числе некоторых лекарственных препаратов, в период закладки слухового анализатора (на 14-й неделе беременности).</p> <p>4. Инфекционные заболевания беременной женщины.</p> <p>5. Недоношенная беременность.</p>
<p>28. В чем суть хромосомной теории наследственности? (2 из 5)</p>	<p>1. Наследование доминирующих признаков определяется распределением носителей наследственности (генов) на митохондриях цитоплазмы клеток.</p> <p>2. Распределение носителей наследственности (генов) на ядерных хромосомах определяется количеством, формой и размерами их хроматид.</p> <p>3. Наследственный фактор человека локализуется в хромосомных клетках.</p> <p>4. Передача хромосомами наследственных признаков обуславливается размерами карิโอотипа.</p>

	<p>5. Преемственность свойств организмов в ряду поколений определяется преемственностью их хромосом.</p>
<p>29. Современное отношение к леворукости детей. (2 из 5)</p>	<p>1. Леворукость — это аномалия двигательного развития, требующая коррекции.</p> <p>2. Леворукость — это аномалия двигательного развития, не требующая коррекции.</p> <p>3. Леворукость — это рецессивный вариант нормального двигательного развития, встречающийся в популяции с меньшей частотой и не требующий переучивания.</p> <p>4. Практика активного переучивания левшей грозит развитием у ребенка неврозов и отвращения к учебе.</p> <p>5. Активное переучивание левшей допустимо лишь при достижении высокой степени убежденности ребенка в ее необходимости.</p>
<p>30. Означает ли, что при ранней задержке речевого развития все дети обязательно столкнутся с непреодолимыми трудностями при освоении речи? (1 из 5)</p>	<p>1. Да, это так.</p> <p>2. Ранняя задержка речевого развития не влияет на полноту освоения речи.</p> <p>3. Половина детей с задержкой речевого развития догоняет своих сверстников.</p> <p>4. Все зависит от срока задержки речевого развития.</p> <p>5. Все зависит от степени доминантности гена, ответственного за речевое развитие.</p>
<p>31. Что понимается под «генотипом» и «фенотипом»? (2 из 5)</p>	<p>1. Это совокупность всех генов, полученных организмом от его родителей.</p> <p>2. Это совокупность генов в гаплоидном кариотипе.</p>

	<p>3. Это комплекс генов, обеспечивающих взаимодействие генотипа и среды в реальных условиях существования индивида.</p> <p>4. Это весь комплекс реально возникших признаков организма, как результат взаимодействия генотипа и среды в ходе его развития.</p> <p>5. Это комплекс факторов окружающей среды, обеспечивающий нормальное наследование признаков, заключенных в генотипе.</p>
32. Дайте определение «модификационной изменчивости». (1 из 5)	<p>1. Это форма изменчивости, обусловленная новым сочетанием генов в генотипе.</p> <p>2. Это форма изменчивости, вызванная транслокацией блоков генетического материала в пределах одной или нескольких хромосом.</p> <p>3. Это форма изменчивости, характеризующаяся прогрессирующим изменением наследственного материала при его передаче в цепи поколений.</p> <p>4. Это форма изменчивости, не связанная с изменением генотипа и вызванная влиянием среды на развивающийся организм.</p> <p>5. Это форма изменчивости, вызванная формированием псевдонормального кариотипа.</p>
33. Какой из важнейших признаков у человека наследуется кодоминантно? (1 из 5)	<p>1. Цвет глаз.</p> <p>2. Цвет волос.</p> <p>3. Размеры тела.</p> <p>4. Склонность к облысению.</p> <p>5. Группы крови по системе АВ0.</p>
34. Сколько хромосом содержится в нормальных	<p>1. 52.</p> <p>2. 46.</p>

сперматозоидах и диплоидном кариотипе человека? (2 из 5)	3. 23. 4. 18. 5. 16.
35. Каковы неблагоприятные последствия инбридинга? (3 из 5)	1. Выраженное повышение частоты гермафродитизма в потомстве. 2. Существенное повышение частоты наследственных аутосомно-рецессивных заболеваний в потомстве. 3. Возникновение эффекта «дрейфа генов» в популяциях малого размера. 4. Повышение вероятности появления потомства с рецессивными признаками. 5. Стирание генетических отличий у инбридингового потомства.
36. Каково основное назначение близнецового метода в генетике? (1 из 5)	1. Определение жизнеспособности близнецового потомства. 2. Определение жизненного потенциала близнецовой пары. 3. Изучение средовых влияний на фенотипические проявления близнецового генотипа. 4. Установление наследственного характера фенотипических признаков. 5. Установление восприимчивости генотипа к генным мутациям.
37. Какие из приведенных совокупностей можно считать популяциями? (3 из 5)?	1. Отдельные населенные пункты. 2. Крупные промышленные предприятия с числом работающих более 10 000 человек. 3. Отдельные социальные группы внутри общества. 4. Религиозные касты. 5. Этнические группы.

<p>38. Каковы последствия действия табачного дыма на плод курящей беременной? (4 из 5)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Монооксид углерода (СО), проникая через плаценту, присоединяется к молекулам гемоглобина плода, блокируя перенос кислорода. 2. Высокая корреляция с риском спонтанных абортов и мертворождением. 3. Высокая корреляция с недоношенностью и малым весом плода при рождении. 4. Блокирование в плаценте факторов роста, замедляющих развитие как плода, так и ребенка после рождения. 5. Высокая активность плода в утробе матери.
<p>39. Какая структура генетического аппарата клетки отвечает за наследование половых признаков? (1 из 5)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Аппарат Гольджи. 2. Половые X- и Y-хромосомы. 3. Митохондрии цитоплазмы. 4. Гаплоидный кариотип половых клеток. 5. Диплоидный кариотип аутосомных клеток.
<p>40. Что такое «генные» и «геномные» мутации? (2 из 5)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Генные мутации — это мутации, возникшие вследствие перестройки нуклеотидов в цепочке ДНК. 2. Генные мутации — это результат изменения числа хромосом в кариотипе вследствие хромосомных перестроек (абберраций). 3. Геномные мутации — это результат изменения числа хромосом в кариотипе вследствие хромосомных перестроек (абберраций). 4. Геномные мутации — это мутации, возникшие вследствие перестройки нуклеотидов в цепочке ДНК.

	5. Геномные мутации — это прогрессирующее изменение наследственного материала при его передаче из поколения в поколение.
41. Чем отличается наследование аутосомных признаков от признаков, сцепленных с полом? (2 из 5)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Аутосомное наследование отмечается при расположении наследуемых генов на хромосомах соматических клеток. 2. Аутосомное наследование наблюдается, когда наследуемое заболевание передается как доминантный признак. 3. Сцепленное с полом наследование наблюдается, когда наследуемые признаки являются доминантными у одного пола, но рецессивными — у другого. 4. Сцепленное с полом наследование наблюдается при размещении наследуемых признаков на половых хромосомах. 5. Аутосомное наследование отмечается, когда наследуемые признаки находятся на аутосомах или половых клетках обоих полов, но проявляются лишь у одного.
42. Чем определяется норма реакции на воздействие одинакового модифицирующего фактора у разных индивидов? (1 из 5)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Временем воздействия модифицирующего фактора. 2. Местом воздействия модифицирующего фактора. 3. Возрастом индивида. 4. Устойчивостью генотипа. 5. Характером воздействующего модифицирующего фактора.
43. Как передаются из поколения в поколение признаки, сцепленные с X-хромосомой? (1 из 5)	<ol style="list-style-type: none"> 1. От отца — сыну. 2. От отца — дочери. 3. От матери — дочери. 4. От матери — сыну. 5. От обеих родителей — сыну.

<p>44. Как возникает однородительская дисомия? (1 из 5)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Если в диплоидном кариотипе недостает одной или нескольких хромосом. 2. Если в нормальном диплоидном наборе все хромосомы происходят от одного из родителей, а хромосомы второго родителя отсутствуют. 3. Если происходит кратное увеличение генома вследствие нарушения течения мейоза. 4. Если в кариотипе происходит утрата или появление лишних гомологичных хромосом. 5. Если при численно нормальном диплоидном кариотипе, лишь одна пара имеет чисто отцовское или чисто материнское происхождение, а все остальные — нормальные.
<p>45. Чем определяется половая принадлежность человека? (1 из 5)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Выраженностью вторичных половых признаков. 2. Характерологическими особенностями фенотипа. 3. Наличием в кариотипе соответствующей половой хромосомы (XX или XY). 4. Наличием в организме индивида гаплоидного или диплоидного кариотипа. 5. Гомозиготностью или гетерозиготностью кариотипа.
<p>46. Что такое «популяция»? (3 из 5)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Обособленная группа людей большой численности, связанная совместным ведением хозяйства в своем ареале. 2. Обособленные группы людей, концентрирующиеся в наиболее благоприятных участках ареала.

	<p>3. Это совокупность свободно скрещивающихся особей, в течение большого числа поколений населяющая определенное пространство.</p> <p>4. Это совокупность особей, компактно проживающая в одном месте и, в той или иной мере, репродуктивно изолированная от других совокупностей.</p> <p>5. Сообщество генетически различных особей, существенно различающихся по генетическим характеристикам.</p>
<p>47. В чем состоит биологическое значение гиперчувствительности человека к горьким веществам? (1 из 5)</p>	<p>1. Горечь является составной частью всех остальных вкусовых ощущений.</p> <p>2. Горечь — показатель низкой энергетической ценности пищи.</p> <p>3. В генетически обусловленной способности вкусовых сосочков языка к различению уровней горечи.</p> <p>4. Горечь — предупреждение о пищевой опасности.</p> <p>5. В способности вкусовых анализаторов улавливать минимальные ощущения горечи, по сравнению с другими вкусовыми оттенками.</p>
<p>48. Что является определяющим фактором эффективности лечения от заикания? (1 из 5)</p>	<p>1. Пол больного.</p> <p>2. Возраст начала лечения.</p> <p>3. Отношение больного к лечению.</p> <p>4. Тщательность выполнения назначенных процедур больным.</p> <p>5. Длительность лечения.</p>
<p>49. Формы проявления врожденных дефектов у детей матерей-алкоголичек. (2 из 5)</p>	<p>1. «Дети карнавала» (умственная неполноценность потомства).</p> <p>2. Рождение детей с недоразвитыми конечностями или без них.</p> <p>3. Рождение детей с фетальным алкогольным синдромом (ФАС).</p>

	<p>4. Рождение детей с низким коэффициентом IQ.</p> <p>5. Повышение риска спонтанных аборт и недоношенности.</p>
<p>50. Что понимают под «пенетрантностью» гена? (1 из 5)</p>	<p>1. Степень фенотипической выраженности одного и того же аллеля определенного гена у разных особей.</p> <p>2. Активность генома на разных стадиях онтогенеза.</p> <p>3. Частота проявления аллеля определенного гена у особей данной популяции.</p> <p>4. Действие одного гена на один признак.</p> <p>5. Действие одного гена на множество признаков.</p>

* Количество правильных ответов указано в скобках при вопросе.

При большем или меньшем количестве ответов, весь ответ считается неправильным.

Если в множественном ответе есть даже один неправильный — весь ответ считается неверным.

25–35 правильных ответов из 50 вопросов дает оценку «удовлетворительно», 36–45 — «хорошо», 46–50 — «отлично».

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
Модуль I. Уникальность генетики как науки: предмет, задачи, структура, междисциплинарная основа	9
Тема 1. Генетика и основы генетики: историко- проблемный экскурс	9
Вопросы и задания по материалам Темы 1	19
Тема 2. Краткая история генетики: люди и факты, идеи и проблемы	21
Вопросы и задания по материалам Темы 2	40
Тема 3. Основные понятия генетики: термины, категории, принципы	41
Вопросы и задания по материалам Темы 3	49
Тема 4. Наследственность и изменчивость	50
Вопросы и задания по материалам Темы 4	66
Примерная тематика семинаров по Модулю I	66
Литература:	67
Интернет-ресурсы:	67
Модуль II. Популяционная генетика	68
Тема 5. Закон Харди-Вайнберга и популяционный метод	68
Вопросы и задания по материалам Темы 5	81
Тема 6. Близнецовый метод: конкретизация, практика, проблематика	82
Вопросы и задания по материалам Темы 6	92
Примерная тематика семинаров по Модулю II	92
Литература:	93

Интернет-ресурсы:	93
Модуль III. Цитогенетика: история, проблематика, методы	94
Тема 7. Ядро и митохондрии как носители наследственной информации на внутриклеточном уровне	94
Вопросы и задания по материалам Темы 7.....	107
Тема 8. Хромосома: структура и функции	108
Вопросы и задания по материалам Темы 8.....	129
Тема 9. Нуклеиновые кислоты	132
Вопросы и задания по материалам Темы 9.....	155
Примерная тематика семинаров по Модулю III.....	156
Литература:	156
Интернет-ресурсы:	156
Модуль IV. Молекулярная генетика и геном	157
Тема 10. Геномика, транскриптомика, протеомика	157
Вопросы и задания по материалам Темы 10.....	171
Тема 11. Геномные библиотеки.....	173
Вопросы и задания по материалам Темы 11.....	179
Тема 12. Полимеразная цепная реакция.....	180
Вопросы и задания по материалам Темы 12.....	191
Тема 13. Системная биология и биоинформатика: принципы, подходы, перспективы.....	193
Вопросы и задания по материалам Темы 13.....	201
Тема 14. Геном человека: молекулярная структура и организация	202

Вопросы и задания по материалам Темы 14.....	214
Примерная тематика семинаров по Модулю IV	214
Литература:	215
Интернет-ресурсы:.....	215
Модуль V. Основы медицинской генетики:	
наследственные болезни и диагностика	
наследственных заболеваний человека	216
Тема 15. Наследственные патологии	216
Вопросы и задания по материалам Темы 15.....	234
Тема 16. Диагностика хромосомных	
и наследственных болезней	235
Вопросы и задания по материалам Темы 16.....	245
Тема 17. Генетические факторы нарушений	
физического и умственного развития	246
Вопросы и задания по материалам Темы 17.....	266
Тема 18. Профилактика и практика лечения	
наследственных заболеваний	267
Вопросы и задания по материалам Темы 18.....	277
Примерная тематика семинаров по Модулю V.....	278
Литература:	279
Интернет-ресурсы:.....	279
Заключение.....	280
Примерные варианты самостоятельной работы	284
Примерные варианты тем рефератов/эссе.....	285
Примерные варианты проведения конференций	
и «круглых столов»	287
Примерный перечень вопросов к зачету/экзамену.....	288

Примерный список дополнительной литературы для подготовки к зачету/экзамену/написанию эссе и рефератов.....	291
Большой словарь терминов	292
Примерные варианты тестовых заданий	312

Борис Рувимович Мандель

Основы современной генетики

Учебное пособие
для учащихся высших учебных заведений
(бакалавриат)

Ответственный редактор *А. Иванова*
Верстальщик *Т. Качанова*

Издательство «Директ-Медиа»
117342, Москва, ул. Обручева, 34/63, стр. 1
Тел/факс + 7 (495) 334–72–11
E-mail: manager@directmedia.ru
www.biblioclub.ru