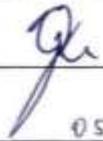


Учреждение образования «Гомельский государственный университет
имени Франциска Скорины»

Факультет биологический
Кафедра зоологии, физиологии и генетики

СОГЛАСОВАНО

Заведующий кафедрой

 Г.Г. Гончаренко
30 05 2018 г.

СОГЛАСОВАНО

И.о. декана факультета


С.М. Пантелеева
30 05 2018 г.

**УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ПО УЧЕБНОЙ
ДИСЦИПЛИНЕ**

Основы современной генетики и экологии человека

для специальности

1-31 01 01-02 Биология. Научно-педагогическая деятельность

Рассмотрено и утверждено на заседании
кафедры зоологии, физиологии и генетики
30.05.2018 г. протокол № 13

Составители:
член-корр. НАН Б, д.б.н., профессор Гончаренко Г.Г.,
старший преподаватель Зяцьков С.А.

Рассмотрено и утверждено
на заседании научно-методического совета
УО «Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины»
29.10.2018 г., протокол № 2

**Содержание учебно-методического комплекса по дисциплине
«Основы современной генетики и экологии человека»
для специальности
1-31 01 01-02 – «Биология. Научно-педагогическая деятельность»**

- 01 Титульный лист
- 02 Содержание
- 03 Пояснительная записка
- 1 Теоретический раздел
 - 1.1 Перечень теоретического материала
- 2 Практический раздел
 - 2.1 Практические занятия
- 3 Контроль знаний
 - 3.1 Перечень вопросов к экзамену
 - 3.2 Критерии оценок по дисциплине
- 4 Вспомогательный раздел
 - 4.1 Учебная программа дисциплины
 - 4.2 Перечень рекомендуемой литературы
 - 4.3 Глоссарий

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Электронный учебно-методический комплекс дисциплины «Основы современной генетики и экологии человека» составлен в соответствии с учебным планом учреждения высшего образования для специальности 1-31 01 01-02 «Биология (научно-педагогическая деятельность)», утвержденным 30.06.2008 (регистрационный № G 31-05/уч.), учебными программами учреждения высшего образования, утвержденными 28.05.2010 (регистрационный № УД-18-2010-740/р. и регистрационный № УД-18-2010-944/р). Эти документы призваны ознакомить студентов с генетическими механизмами наследственности и изменчивости человека, с основами классической и современной генетики человека, а также фундаментальными и прикладными достижениями.

Особое место имеет связь генетики человека с другими биологическими науками и та роль, которую играет сегодня эта дисциплина в развитии генной инженерии, биотехнологии и медицины.

Целью учебно-методического комплекса является ознакомление студентов с современными научными знаниями о наследственности и изменчивости человека, развитие у них биологического мышления; получение студентами знаний и навыков применения полученных фундаментальных знаний в области генетики человека в дальнейшей практической деятельности.

Задачи учебно-методического комплекса: ознакомление студентов с современным состоянием генетики человека; овладением материальными основами наследственности и изменчивости человека; изучение структуры и функции гена, принципов и методов генетического анализа, теории и практики мутагенеза, мутагенных эффектов природных и антропогенных факторов; изучение принципов генетической инженерии, генетики популяций, генетических основ эволюции и антропогенеза; усвоение принципов организации лабораторных работ по выделению ДНК, ПЦР-анализу и гель-электрофорезу, требований техники безопасности при проведении лабораторных работ; формирование умений и приобретение навыков генетических исследований.

В структурном отношении учебно-методический комплекс включает в себя четыре раздела: теоретический, практический, раздел контроля знаний, вспомогательный.

Теоретический раздел содержит лекционный материал, включающий в себя в соответствии с учебной программой 10 тем (20 часов), предназначенных для аудиторной работы со студентами (лекции преподавателя – 16 часов) и самостоятельного изучения тем, вынесенных за рамки аудиторных часов (УСР – 4 часов). Через содержание данных тем студенты могут получить знания по генетическим особенностям воспроизведения человека, использованию экспериментальных моделей на клеточном и субклеточном уровне, метаболическим путям, проявлению фундаментальных свойств организма - наследственности и изменчивости

на всех уровнях организации живого (молекулярном, клеточном, организменном и популяционном), причинам появления аномалий развития, принципам организации работ по ПЦР-анализу.

Практический раздел включает в себя в соответствии с учебным планом дисциплины 7 практических занятий (14 часов). При проведении практических занятий используются демонстрационные материалы, разнообразный раздаточный материал, таблицы и рисунки.

Раздел контроля знаний целесообразно проводить в форме текущего контроля знаний на практических занятиях, коллоквиумов, тестового компьютерного контроля по темам и разделам курса. Для общей оценки усвоения студентами учебного материала рекомендуется введение рейтинговой системы.

Вспомогательный материал содержит необходимые элементы учебно-программной документации: учебную программу по дисциплине «Основы современной генетики и экологии человека» учреждения образования с пояснительной запиской и содержанием учебного материала. Кроме этого, в данном разделе имеется дополнительный материал, который может быть использован при чтении лекций, проведении практических занятий и организации самостоятельной управляемой работы студентов.

Электронный учебно-методический комплекс дисциплины «Основы современной генетики и экологии человека» адресуется студентам третьего курса дневной формы обучения и четвертого курса заочной формы обучения специальности 1-31 01 01-02 «Биология (научно-педагогическая деятельность)».

1 ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

1.1 Перечень теоретического материала

- 1 Введение. Зарождение генетики человека
- 2 Первые открытые аутосомные и сцепленные с полом наследственные признаки
- 3 Построение и анализ родословных
- 4 Гены, контролирующие метаболические признаки
- 5 Структурная организация хромосом человека. Кариотип
- 6 Хромосомные болезни человека
- 7 Группы крови АВО у человека. Множественный аллелизм
- 8 ПЦР-анализ человека и животных
- 9 Генная терапия
- 10 Клонирование человека и животных

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

1.1 ПЕРЕЧЕНЬ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

ЛЕКЦИЯ 1. ВВЕДЕНИЕ. ЗАРОЖДЕНИЕ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА

1. Предмет, цели и задачи курса
2. История исследования генетики человека
3. Связь генетики человека с другими науками.
4. Значение и перспективы развития генетики человека

1. Предмет, цели и задачи курса

Генетика человека изучает закономерности наследования нормальных и патологических признаков и зависимость их проявления от генотипа и факторов внешней среды.

Целью курса является ознакомление с молекулярно-генетическими технологиями и достижениями современной генетики.

Задачами этой дисциплины является:

- ознакомление с современным состоянием генетики человека и ее достижениями;
- освоение методов современного генетического анализа;
- формирование представлений о проблемах и достижениях важнейших направлений генетических исследований.

Изучение генетики человека связано с рядом особенностей и объективных трудностей:

1) Сложный кариотип – много хромосом и групп сцепления; эта проблема в какой-то мере разрешается за счет возможности идентифицировать хромосомы человека после их дифференциальной окраски;

2) Позднее половое созревание и редкая смена поколений;

3) Малое количество потомков; это препятствие может быть преодолено подбором в больших популяциях многих сходных брачных пар и анализом наследования признаков на большом материале.

4) Невозможность экспериментирования; врач не имеет права вмешиваться в формирование брачных пар, но, если интересующие врача люди вступили в брак, он может наблюдать за наследованием определенных признаков.

5) Невозможность создания одинаковых условий жизни.

Несмотря на перечисленные сложности, генетика человека изучена на порядок лучше, чем генетика многих организмов (например, млекопитающих). Этому способствовали растущие потребности медицины и разнообразие современных методов исследования.

2. История исследования генетики человека

Многие исследователи и врачи еще задолго до Г. Менделя в ходе многолетних наблюдений выявляли ряд наследственных отклонений у человека и предпринимали попытки установить характер их наследования.

Первые достоверно документированные описания доминантного (полидактилии, т.е. шестипалости) и рецессивного (альбинизма, отсутствие пигмента) признаков, относятся к XVIII в. и сделаны французским ученым П. Мопертюи.

Что касается гемофилии – патологии с более сложным характером наследования, то еще в IV в. до н.э. у древних евреев в Талмуде указывалось на опасность обрезания крайней плоти у новорожденных мальчиков, старшие братья которых или дяди по материнской линии страдают кровотечением. В XII уже нашей эры арабский врач Аль-Гарави описал несколько деревенских семей, в которых многие мужчины страдали кровоточивостью. Аналогичные семейства в Вестфалии в XVIII в обнаружил немецкий врач Ров. В своем фундаментальном труде "О наследственной склонности к смертельным кровотечениям" (1820 г.) немецкий профессор медицины К. Нассе обобщил все известные ему указания на это заболевание и сформулировал закон: заболевание отмечается только у мальчиков, а передается через их матерей и сестер.



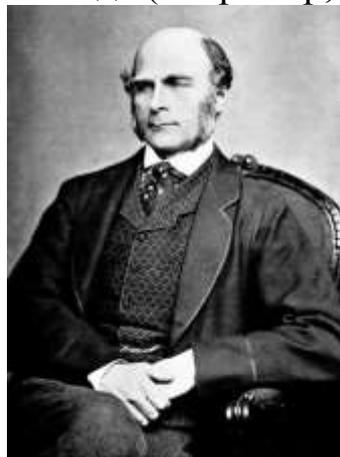
Пьер-Луи Морпертюи



Грегор Мендель

В 1814 г. вышла книга лондонского врача Д. Адамса "Трактат о предполагаемых наследственных свойствах болезней, основанный на клиническом наблюдении". Позже она была переиздана под названием "Философский трактат о наследственных свойствах человеческой расы". Этот труд стал первым справочником для генетического консультирования. В нем Адаме сформулировал многие важные принци-

пы медицинской генетики: "Браки среди родственников повышают частоту семейных (т.е. рецессивных) болезней", "Наследственные (доминантные) болезни не всегда проявляются сразу после рождения, но могут развиваться в любом возрасте", "Не все врожденные болезни являются наследственными, часть из них связана с внутриутробным поражением плода (например, за счет сифилиса)".



Френсис Гальтон



Арчибальд Гэррод

В 1866 г. в России вышла книга В.М. Флоринского "Усовершенствование и вырождение человеческого рода". В его монографии был поднят и правильно освещен ряд вопросов медицинской генетики. Например он точно указал на наследственный характер многих патологий (глухонемые, альбинизма, заячьей губы, пороков развития нервной трубки) и вред близкородственных браков.

В последней четверти XIX в. весомый вклад в развитие генетики человека внес английский биолог Ф. Гальтон, анализируя наследственность ряда семей, он пришел к выводу, что психические особенности человека обусловлены не только условиями среды, но и наследственными факторами. Он впервые применил близнецовый метод для изучения роли среды и наследственности в развитии признаков и разработал ряд статистических методов, среди которых наиболее важен метод корреляций. Эти работы заложили основу для будущего развития генетики человека. Помимо этого Гальтон стал родоначальником евгеники – науки о наследственном здоровье человека и путях его улучшения.

Особого внимания заслуживают исследования известного английского врача-клинициста А. Гэррода (1857 – 1936 гг.), также внесшего существенный вклад в изучение проблемы генетики человека.

Его работа "Распространенность алкаптонурии: изучение химических особенностей" несла ряд новых идей. Гэррод первым обнаружил взаимосвязь между генами и ферментами, открыл врожденные

нарушения обмена веществ и положил начало биохимической генетике. В настоящее время изучение наследственных болезней обмена веществ – наиболее актуальный раздел генетики человека.

Труды Адамса, Гэррода, и других врачей – исследователей не были оценены при их жизни. Биологи обращали мало внимания на работы медиков. Изучение наследственности проводилось главным образом на растениях. К сожалению, Г. Менделю, как и другим ученым, работавшим с растительными объектами, не были известны данные по генетике человека. В противном случае открытие законов генетики могло бы произойти значительнее раньше.

В 1865 г. увидела свет знаменитая работа чешского ученого Г. Менделя "Опыты над растительными гибридами". Законы, открытые им, оставались незамеченными в течение 35 лет и только в 1900 г. были переоткрыты К. Корренсом (Германия), Э. Чермаком (Австрия) и Г. де Фризом (Голландия). С тех пор закономерности наследования, открытые Менделем, определяют развитие современной генетики, включая и генетику человека.

Изучая наследования признаков у гороха, Г. Мендель установил три закона:

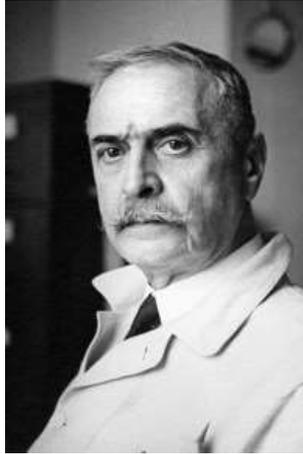
1. Закон единообразия гибридов первого поколения;
2. Закон расщепления во втором поколении по фенотипу 3:1 (при моногибридном скрещивании);
3. Закон независимого наследования признаков.

Успех чешского ученого был связан с разработкой принципиально нового методического подхода. Он: – ввел в науку новый гибридологический метод, выбрав для изучения контрастные пары признаков; – проводил строгий количественный учет изучаемых признаков, что позволило обнаружить статистические закономерности наследования; – анализируя эти закономерности, пришел к выводу, что зародышевые клетки несут набор признаков, которые могут быть определены с помощью скрещиваний.

Опыты Г. Менделя и сделанные из них выводы стали предпосылкой для создания теории гена – основы современной генетики, а 1900 г. – год вторичного открытия законов Менделя – считается годом рождения генетики. Название новой науке было дано в 1906 г. английским ученым В.Бэтсоном (лат. geneo – порождаю), а в 1909 г. датский генетик В. Иогансен предложил такие важные генетические термины, как ген, генотип и фенотип.

В 1903 г. американский антрополог Фараби, изучая родословные в нескольких поколениях, впервые установил, что брахидактилия (ко-

роткопалость) у человека наследуется по аутосомно-доминантному типу. Из этой работы следовал вывод о справедливости менделевских законов и для человека.



Карл Ландштейнер



Феликс Бернштейн

В 1900 г. К. Ландштейнер описал систему групп крови АВО.

В 1924 г. Ф. Бернштейн установил, что АВО-система групп крови контролируется серией множественных аллелей одного локуса. Спустя 26 лет в 1940 году К. Ландштейнером и А. Винером был обнаружен резус-фактор (Rh) и показано, что гемолитическая желтуха новорожденных возникает из-за иммунологической несовместимости матери и плода. Эти открытия также указывали на применимость законов Менделя к наследованию признаков у человека.

В 20 гг. XX века начала интенсивно развиваться отечественная генетика. Под влиянием идей евгеники, которая получила широкое распространение в ряде стран Европы (Англия, Франция, Германия) и Америке в 1921 г. в Москве Н.К. Кольцовым было организовано Русское евгеническое общество, в 1922 г. в Петрограде Ю. А. Филипченко создал Бюро по евгенике. Эти организации ориентировались на сугубо научные задачи в отличие от евгенических обществ других стран. Н.К. Кольцов, Ю.А. Филипченко и другие ученые проводили работы по генетике одаренности, изучая родословные выдающихся личностей. Однако эти исследования грешили методическими ошибками, противоречиями, определенным примитивизмом. Вместе с тем были в евгенических работах и положительные моменты. Так, Н.К. Кольцов и Ю.А. Филипченко правильно ставили вопрос о значении социальных условий в реализации индивидуальных особенностей человека, полностью отвергали насильственный путь улучшения наследственности человека. Кроме того, силами советских евгеников были собраны родословные выдающихся личностей, например, А.С. Пушкина, Л.Н. Толстого, А.М. Горького, Ф.И. Шаляпина и др.



Кольцов Николай Константинович Филипченко Юрий Александрович

К концу 20-х годов евгенические исследования в нашей стране были прекращены. Падала ее популярность и в других странах (кроме Германии). Число евгенических обществ быстро уменьшалось, журналы закрывались или переименовывались.

Конец 20-х – начало 30-х гг. ознаменовались значительными успехами в развитии генетики. Родилась и стала общепризнанной хромосомная теория наследственности, было установлено, что наследственность связана с генами, локализованными в хромосомах клеточных ядер, что гены в хромосомах расположены линейно и образуют группы сцепления.

В этот же период создается популяционная генетика. Большой вклад в развитие этого раздела внесли С.С. Четвериков, Р. Фишер, Н.П. Дубинин и Д.Д. Ромашев, Дж. Е. Холдейн и др.



Четвериков Сергей Сергеевич Дубинин Николай Петрович

В ряде стран, в том числе в нашей, начинает развиваться медицинская генетика. С 1932 по 1937 гг. работал Московский медико-биологический институт им. М. Горького (позднее – Медико-генетический институт), возглавляемый С. Г. Левитом. При нем был организован Центр близнецовых исследований.

Здесь изучались болезни с наследственным предрасположением –

диабет, язвенная болезнь, аллергия, гипертоническая болезнь и др. Большой интерес имели цитогенетические работы по идентификации первых хромосом человека. Особого упоминания заслуживают труды талантливого генетика и клинициста-невропатолога С.Н. Давиденкова (1880-1961). Он первым поставил вопрос о гетерогенности наследственных заболеваний и начал проводить медико-генетическое консультирование.

К концу 30-х гг. XX в. интерес к генетике человека начал снижаться. Сократилось и оставалось низким до начала 50-х гг. количество опубликованных работ.

В Советском Союзе с приходом к власти в биологической науке Т.Д. Лысенко все генетические исследования, включая и исследования по генетике человека, были запрещены. Генетика была объявлена "лженаукой". Августовская сессия ВАСХНИЛ (1948 г.) нанесла огромный вред теоретическим и практическим достижениям генетики, утвердив антинаучные идеи Т.Д.Лысенко. Такое положение сохранялось до начала 60-х гг.

Возрождение советской генетической науки началось после разоблачения "учения" Лысенко и шло по пути развития медицинской генетики. В 1964 г. был издан учебник В.П. Эфроимсона по медицинской генетике, в 1969 г. открыт Институт медицинской генетики под руководством Н.П. Бочкова (в настоящее время – Научно-исследовательский центр медицинской генетики РАМН), где начались широкие исследования по многим направлениям медицинской генетики.

В 1949 г. американский химик Л.Полинг показал, что серповидноклеточная анемия - заболевание при котором эритроциты имеют необычную серповидную форму, открытое в 1910 г., вызывается наличием в таких эритроцитах дефектного гемоглобина. Поскольку молекула гемоглобина взрослого человека состоит из четырех белковых цепей: двух α -цепей и двух β -цепей, был сделан вывод, что серповидноклеточная анемия представляет собой "молекулярную болезнь".

В 50-х гг. получают широкое развитие исследования по радиационной генетике человека. Еще в 1927 г. американский исследователь Г. Меллер установил сильное мутагенное действие рентгеновских лучей. Это открытие показало опасность облучения половых клеток человека для последующих поколений, в силу чего человеку как объекту генетических исследований стало уделяться больше внимания.

С 1959 по 1962 гг. количество публикаций, симпозиумов, конфе-

ренций по генетике человека быстро возрастало. Слияние генетики, цитологии, цитогенетики, биохимии способствовало формированию клинической генетики. Усилиями ученых была подтверждена гетерогенность наследственных патологий, когда один и тот же фенотип болезни обусловлен изменением разных белков. Трудно переоценить важность этого открытия для диагностики, лечения и медико-генетического консультирования наследственных болезней.

В 1944 г. было достоверно установлено, что передача наследственной информации связана с дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК). Это открытие явилось мощным фактором, стимулирующим изучение наследственности на молекулярном уровне. А благодаря созданию в 1953 г. Д. Уотсоном и Ф. Криком модели макромолекулярной структуры ДНК, началось углубленное изучение молекулярной, биохимической и иммуногенетики человека.

Убедительный пример значения фундаментальных исследований для практического здравоохранения дает история развития цитогенетики. В 1956 г. Х. Тио и А. Леван установили, что в клетках человека содержится 46 хромосом, а спустя три года были открыты хромосомные болезни человека. В 1959 г. Дж. Лежен установил цитогенетическую картину возникновения синдрома Дауна (трисомия по 21-й хромосоме.). В это же время несколько ученых идентифицировали на хромосомном уровне синдром Тернера (ХО) и синдром Клайнфельтера (ХХУ). Одновременно была определена роль Y-хромосомы в определении пола человека.

В 1960 г. Р. Мурхед с коллегами разработали метод культивирования лимфоцитов периферической крови для получения метафазных хромосом человека, что позволило обнаруживать мутации хромосом, характерные для определенных наследственных болезней. Другим важным открытием для развития цитогенетики человека явилась разработка методов дифференциальной окраски хромосом. Благодаря ему стала возможна идентификация каждой хромосомы человека, а это резко повысило разрешающую способность цитогенетических методов.

Еще одним этапом развития современной генетики человека явилось картирование и локализация генов в хромосомах человека. Достижения цитогенетики, генетики соматических клеток, увеличение числа генетических маркеров способствовали успешному изучению групп сцепления. В настоящее время у человека установлено 23 группы сцепления. Эти данные нашли непосредственное применение в диагностике наследственных заболеваний и медико-генетическом

консультировании.

Тесная связь современной генетики с химией, физикой, биохимией, физиологией, экологией, фармакологией и другими науками способствовала появлению новых разделов генетики: цитогенетики, радиационной генетики, иммуногенетики, фармакогенетики, экологической генетики.

Во второй половине XX в. начала интенсивно развиваться молекулярная генетика и геновая инженерия, были разработаны методы искусственного и ферментативного синтеза генов. В 1969 г. индийский ученый Г. Карано впервые осуществил искусственный синтез гена. С помощью геновой инженерии получены искусственные гены инсулина, интерферона, соматотропина и др. Эти достижения открывают большие перспективы в диагностике, профилактике и лечении наследственных болезней человека.



Герман Меллер



Корана, Хар Гобинд

Возможности молекулярной генетики и развитие современных методов работы с ДНК нашли применение для решения практических задач медицинской генетики.

Конец XX в. ознаменован разработкой и началом осуществления грандиозной международной программы "Геном человека". Ее задача – изучение генома человека, включая картирование хромосом и секвенирование их ДНК, определение полной нуклеотидной последовательности генома, состоящего из трех миллиардов пар нуклеотидов. В рамках этой программы разрабатываются методы диагностики и лечения наследственных болезней. В настоящее время уже возможна ДНК-диагностика более 100 наследственных дефектов. В недалеком будущем станет реальностью генотерапия наиболее распространенных болезней человека, патогенез которых уже известен.

3. Связь генетики человека с другими науками

Как и любая наука, генетика человека не может развиваться самостоятельно, вне связи с другими науками. Она постоянно заимствует знания и достижения других наук. В первую очередь необходимо отметить тесную связь генетики человека с эволюционным учением Ч. Дарвина, неотъемлемой частью которого она является. Основными критериями эволюции являются: изменчивость, наследственность и естественный отбор. Генетика человека также изучает эти явления и помогает понять и объяснить с научной точки зрения многие вопросы эволюции.



Кроме того, генетика человека прочно связана с молекулярной биологией. Это происходит потому, что все физиологические процессы в организме человека проходят на молекулярном уровне и под контролем генома.

В последнее время, благодаря появлению методов, позволяющих проводить манипуляции с генами, возросла связь генетики человека с генной инженерией.

Непосредственная связь и взаимовлияние генетики человека и медицины стали в последние 40 лет определяющими факторами активного изучения наследственности человека и реализации их достижений в практике. Это, прежде всего многочисленные исследования в области вирусно-генетической теории возникновения злокачественных опухолей, опыты с профаговой трансдукцией подтвердили возможность функционирования генов простых организмов в клетках млекопитающих, включая клетки человека и др.

Без преувеличения можно сказать, что, наряду с молекулярной генетикой, генетика человека относится к наиболее прогрессирующим разделам генетики в целом. Ее исследования простираются от биохимического до популяционного, с включением клеточного и организменного уровней.

4. Значение и перспективы развития генетики человека

Генетика человека изучает наследственность и изменчивость у человека на всех уровнях его организации и существования: молекулярном, клеточном, организменном и популяционном. Современная генетика человека базируется на законах классической генетики, которые имеют универсальное значение. Так же, как в классической ге-

нетике, появление и становление которой связано с изучением наследования мутационных изменений в популяциях гороха, дрозофилы, мыши и других экспериментальных объектов исследования, основные достижения в генетике человека обусловлены анализом природы и характера наследования мутационных изменений у человека.

В последние годы выявлено, что спонтанная наследственная изменчивость весьма высока - в течение жизни человека приблизительно у 70% людей реализуются те или иные наследственные болезни. Таким образом, у большинства людей в течение их жизни проявляется хотя бы одно серьезное генетически обусловленное отклонение от нормы, снижающее продолжительность жизни человека по сравнению с нормой либо мешающее его нормальной жизнедеятельности и работоспособности. Изучение молекулярной природы таких генетических изменений, анализ закономерностей их наследования, оценка их распространенности в различных популяциях человека, изучение роли мутагенных факторов окружающей среды в возможном изменении спонтанного уровня мутагенеза у человека относятся к наиболее важным направлениям исследований в области генетики человека. Опираясь на эти фундаментальные знания, медицинская генетика разрабатывает методы диагностики, лечения и профилактики наследственной патологии, связанной с широким спектром менделевских, хромосомных и мультифакториальных наследственных болезней.

Современный этап развития генетики человека характеризуется стремительным прогрессом наших знаний о молекулярном строении генетического материала и о механизмах мутагенеза. Наглядным примером прогресса в области генетики человека являются успехи реализации международной программы "Геном человека". Интенсивное изучение наследственных болезней в клиниках многих стран увеличило к 1998 г их число почти до 9000 (в 1966 г было изучено только около 1500 наследственных болезней). Для более чем 3900 из этих недугов изучена локализация мутантных генов в хромосомах и проведен молекулярный анализ продуктов их деятельности. Эти достижения поставили на новую основу разработку методов диагностики наследственных болезней, их профилактики и генотерапии.

В связи с возрастающим загрязнением окружающей среды, особенно связанным с радиационным загрязнением целых регионов в результате Чернобыльской аварии, ядерных взрывов на полигонах и деятельностью предприятий ядерного топливного цикла, важное значение приобретает разработка методов оценки генетических последствий такого загрязнения для грядущих поколений.

Литература:

1. Шевченко, В.А. Генетика человека / В.А. Шевченко, Н.А. Топорнина, Н.С. Стволинская. – М.: Владос, 2004. – 240 с.
2. Encyclopædia Britannica [Электронный ресурс] / Rh blood group system. – Режим доступа: <https://www.britannica.com/science/Rh-blood-group-system.html>. – Дата доступа: 12.03.2018.
3. Биология и медицина [Электронный ресурс] / Серповидноклеточная анемия. – Режим доступа: <http://medbiol.ru/medbiol/har/00062сес.htm>. – Дата доступа: 12.03.2018.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРНИЦЫ

ЛЕКЦИЯ 2. ПЕРВЫЕ ОТКРЫТЫЕ АУТОСОМНЫЕ И СЦЕПЛЕННЫЕ С ПОЛОМ НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ПРИЗНАКИ

1. Первые открытые аутосомные признаки человека
2. Первые открытые признаки сцепленные с полом
3. Классификация заболеваний человека

1. Первые открытые аутосомные признаки человека

У человека по понятным причинам невозможны контролируемые скрещивания. Кроме того, число детей в семье, как правило, бывает небольшим. Для того чтобы доказать аутосомно-доминантный или аутосомно-рецессивный характер наследования заболевания, необходимо собрать достаточно большое число семей с большим числом детей в этих семьях. Если учесть, что абсолютное большинство наследственных заболеваний встречается редко, то становится ясно, что чаще всего медицинскому генетику приходится пользоваться упрощенными требованиями к доказательствам определенного типа наследования. Эти упрощенные требования вытекают, однако, из менделевских правил наследования. Правильно будет сказать, что заключение при таком типе анализа сводится к тому, что в исследуемой родословной сегрегация того или иного заболевания не противоречит определенному менделевскому типу наследования.

Аутосомно-доминантный тип наследования.

Тип наследования называется доминантным, если для развития болезни достаточно одного мутантного аллеля в генотипе (гетерозиготное состояние). При аутосомно-доминантном типе наследования мутантный ген находится в аутосоме. Мутантный аллель в этом случае обозначается как А, нормальный – как а. Обычно больные гетерозиготы (Аа). Гомозиготы (АА), имеющие два патологических аллеля, в большинстве случаев нежизнеспособны.

Для классической родословной с аутосомно-доминантным типом наследования (рисунок 2.1) характерно следующее:

1. Большое количество больных в родословной.
2. Признак передается от одного из родителей потомкам без пропуска поколений («вертикальная» передача болезни). У больного ребенка, как правило, болен один из родителей.
3. Соотношение больных мужчин и женщин примерно одинаковое.
4. Больные мужчины и женщины передают болезнь детям обоего пола с одинаковой вероятностью.

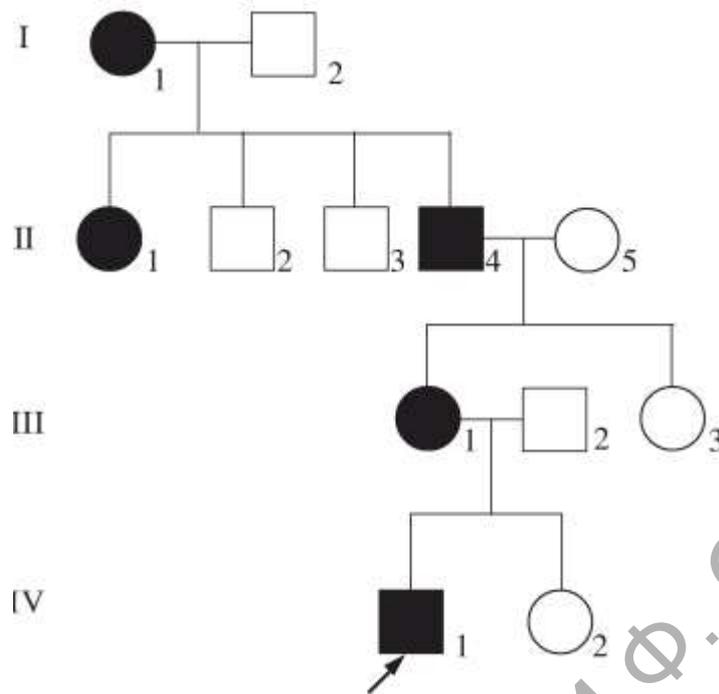
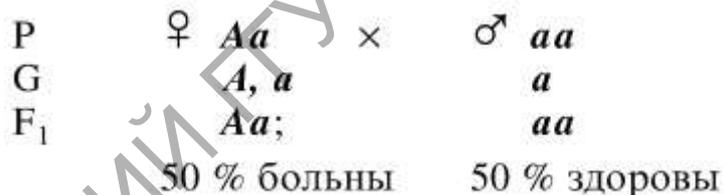
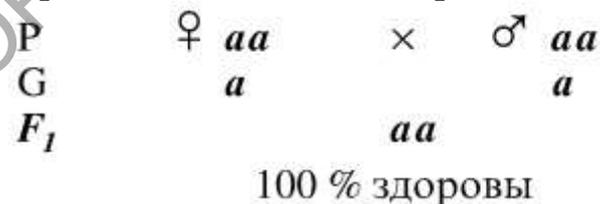


Рисунок 2.1 – Родословная при аутосомно-доминантном типе наследования признака

5. Соотношение больных и здоровых потомков больного родителя близко к 50 % : 50 %, т. е. в большинстве случаев, если один из родителей болен (Aa), а второй здоров, то вероятность рождения больного ребенка составляет 50 %.



6. У здоровых родителей все дети здоровы.



Родословные при доминантном типе наследования могут отличаться от классических в следующих случаях:

1. Возможно рождение ребенка с доминантным заболеванием у здоровых родителей. Это обусловлено либо новой генеративной мутацией у одного из родителей (чаще отца), либо соматической мутацией у эмбриона. Особенно характерна такая ситуация для тяжелых заболеваний со снижением репродуктивной способности или летальных для детей раннего возраста (практически все случаи в популяции являются результатом новых мутаций). Рождение нескольких боль-

ных детей у здоровых родителей может быть обусловлено гонадным мозаицизмом у одного из родителей.

2. Для доминантных признаков характерна неполная пенетрантность и варьирующая экспрессивность. Пенетрантность – частота фенотипического проявления доминантного гена. Она определяется процентом больных среди всех носителей этого доминантного аллеля в популяции. В случае неполной пенетрантности ген болезни может быть унаследован, но не проявляется фенотипически. Понятие экспрессивности аналогично понятию тяжести болезни. Варьирующая экспрессивность отражает разную степень фенотипического проявления признака. При неполной пенетрантности и варьирующей экспрессивности в родословной с доминантно наследуемым заболеванием могут появиться «пропуски» поколений.

3. Некоторые заболевания проявляются не с момента рождения, а в более позднем возрасте (например, взрослая форма поликистоза почек, хорея Хантингтона, наследственная форма болезни Альцгеймера). В этом случае в момент составления родословной носитель доминантного гена может быть здоров, и без применения методов ДНК-диагностики достоверное медико-генетическое консультирование невозможно. Иногда гетерозиготные носители гена погибают до клинической манифестации болезни от причин, не связанных с наследственным заболеванием.

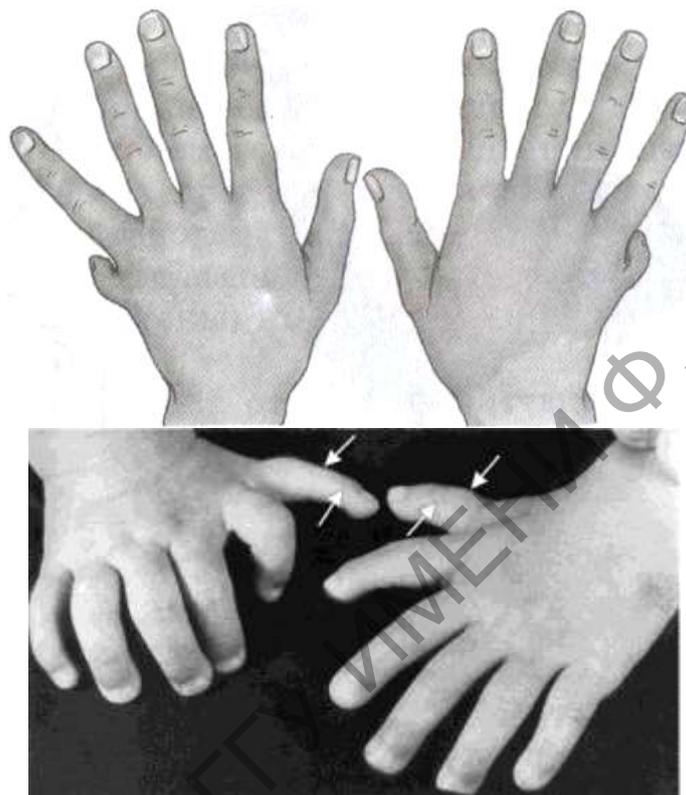
4. Если мутация затрагивает признаки, ограниченные полом (например аномалии матки), то поражены будут лица только одного пола. Тяжесть течения болезни может также определяться полом родителя, от которого унаследована болезнь, или полом больного.

Первые описания наследственных аутосомно-доминантных признаков человека датируются XVIII в. и связаны с французским ученым П. Мопертюи.

Полноактилия.

В 1745 году в Голландии Мопертюи издал книгу «Научная Венера, или Рассуждения о начале людей и животных» («Vénus physique, ou Une dissertation sur l'origine des hommes, et des animaux»). В ней он предстаёт как один из наиболее передовых мыслителей своего времени, решительно выступивший против преформизма. Описывая бесчисленные «частицы», которые плавают в женской и мужской «жидкостях», смешиваются при оплодотворении и образуют в результате эмбрион, Мопертюи показывает, что новый организм наследует признаки каждого из родителей. В качестве примера, подтверждающего данную точку зрения, Мопертюи анализирует генеалогию берлинской

семьи, у многих членов которой проявлялась мутация с доминантным типом наследования – полидактилия. Существует два типа полидактилии: тип А – при котором дополнительный палец функционален, тип В – когда дополнительный палец недоразвит и представляет кожный вырост. Частота встречаемости заболевания от 1:3000 до 1:650.



Аутосомно-рецессивный тип наследования.

Аутосомно-рецессивный тип наследования характеризуется тем, что мутантный ген проявляет свое действие только в гомозиготном состоянии, а гетерозиготы фенотипически не отличаются от нормальных гомозигот. Ген болезни обозначается как рецессивный ген a , нормальный ген – A . Больные имеют генотип aa , здоровые – AA или Aa . В гетерозиготном состоянии (Aa) ген может передаваться из поколения в поколение, не проявляясь фенотипически. Первый больной может появиться через многие поколения после возникновения мутации, в случае, когда оба родителя будут гетерозиготными носителями того же самого гена.

Для рецессивно наследуемых болезней характерна полная пенетрантность, варьирующая экспрессивность встречается редко.

Родословные с аутосомно-рецессивным типом наследования (рисунок 2.2) характеризуются следующими особенностями:

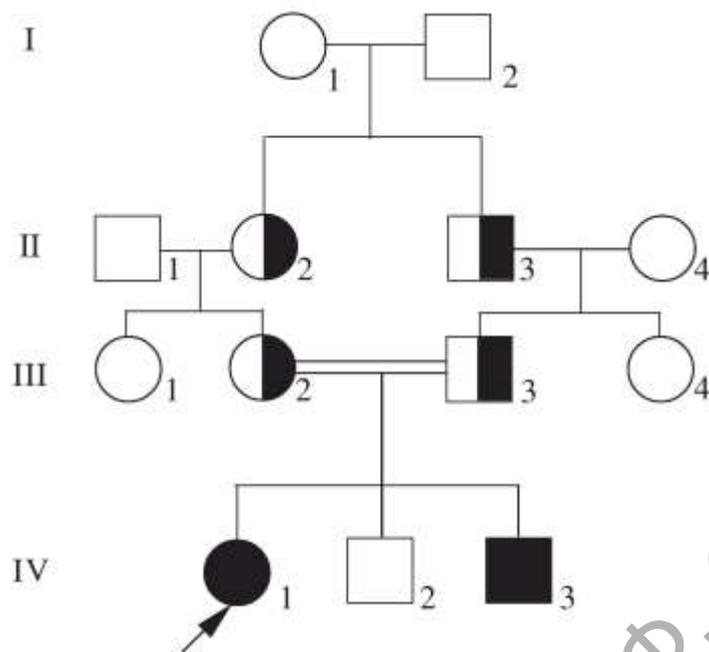


Рисунок 2.2 – Родословная при аутосомно-рецессивном типе наследования признака

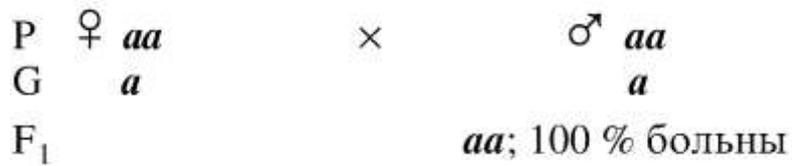
1. Малое количество больных в родословной (меньше 25 %).
2. Мужчины и женщины болеют одинаково часто.
3. Родители больного ребенка обычно здоровы и являются гетерозиготными носителями гена (Aa).
4. В многодетной семье может быть больше одного больного ребенка. Болеют в основном сибсы, а не родители-дети как при доминантном наследовании (наследование «по горизонтали»).
5. У гетерозиготных родителей риск рождения больного ребенка составляет 25 %. В многодетных семьях соотношение здоровых и больных детей приближается к 3 : 1.

P	♀	Aa	×	♂	Aa
G		A, a			A, a
F ₁		$AA; Aa; Aa;$			aa
		75 % здоровы			25 % больны

6. От больного родителя рождаются здоровые дети ($AA \times aa$).

P	♀	AA	×	♂	aa
G		A			a
F ₁		$Aa; 100\% \text{ здоровы}$			

7. Если больны оба родителя, все дети будут больны.



8. Часто родители больного являются кровными родственниками, особенно если заболевание встречается в популяции редко. Для часто встречающихся в популяции болезней возможна случайная встреча двух гетерозиготных носителей гена.

Альбинизм.

В книге «Научная Венера, или Рассуждения о начале людей и животных» Мопертюи также использовал термин «доминирование», которым в генетике и поныне обозначают подавление одного наследственного признака другим; в частности, признак тёмной окраски доминирует над признаком светлой окраски (Мопертюи отмечал данный факт, рассматривая явление альбинизма у негров). Появление нового признака он рассматривал как спонтанное явление, предвосхищая понятие о «мутациях».



Альбинизм встречается в разных популяциях с разной частотой от 1:5000 до 1:25000. Наиболее распространенная форма – глазокожный тирозиназонегативный альбинизм, который наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Основными клиническими проявлениями альбинизма в любом возрасте являются отсутствие меланина в клетках кожи (молочно-белый ее цвет), очень светлые волосы, светло-серая или светло-голубая радужная оболочка глаз, красный зрачок, повышенная чувствительность к УФ-облучению (вызывает воспалительные заболевания кожи). У больных на коже отсутствуют какие-либо пигментные пятна, снижена острота зрения. Диагностика забо-

левания не представляет затруднений.

Обсуждая происхождение человеческих рас, Мопертюи писал (обнаруживая взгляды, созвучные позднему эволюционизму): «И гиганты, и карлики, и негры, будучи рождены среди других людей, должны были подвергаться невзгодам ввиду высокомерия или страха основной части рода человеческого, и эта часть вытеснила подобные изменённые расы в те места Земли, где климат менее пригоден для обитания. Карлики были оттеснены в полярные области, гиганты окажутся живущими в Магеллановых землях, негры будут народами жаркой зоны».

2. Характеристика наследования признаков сцепленных с полом

Из 46 хромосом (23 пары) в кариотипе человека 22 пары одинаковы у мужчин и женщин (аутосомы), а одна пара, называемая половой, у разных полов отличается: у женщин - XX, у мужчин - XY. Половые хромосомы представлены в каждой соматической клетке индивида. При образовании гамет во время мейоза гомологичные половые хромосомы расходятся в разные половые клетки. Следовательно, каждая яйцеклетка помимо 22 аутосом несет одну половую хромосому X (гаплоидный набор хромосом равен 23). Все сперматозоиды также имеют гаплоидный набор хромосом, из которых 22 - аутосомы, а одна - половая. Половина сперматозоидов содержит X, другая половина - Y хромосому.

Поскольку женские половые хромосомы одинаковы и все яйцеклетки несут X-хромосому, то женский пол у человека называют гомогаметным. Мужской же пол из-за различия половых хромосом (X или Y) в сперматозоидах именуют гетерогаметным.

Пол человека определяется в момент оплодотворения. Женщина имеет один тип гамет - X, мужчина - два типа гамет: X и Y, причем, согласно законам мейоза, образуются они в равной пропорции. При оплодотворении хромосомные наборы гамет объединяются. Напомним, что зигота содержит 22 пары аутосом и одну пару половых хромосом. Если яйцеклетку оплодотворил сперматозоид с X-хромосомой, то в зиготе пара половых хромосом будет XX, из нее разовьется девочка. Если же оплодотворение произвел сперматозоид с Y-хромосомой, то набор половых хромосом в зиготе - XY. Такая зигота даст начало мужскому организму. Таким образом, пол будущего ребенка определяет гетерогаметный по половым хромосомам мужчина. Соотношение полов при рождении, по данным статистики, соответ-

ствуется примерно 1:1.

Хромосомное определение пола - не единственный уровень половой дифференцировки. Большую роль в этом процессе у человека играет гормональная регуляция, происходящая с помощью половых гормонов, которые синтезируются половыми железами.

Закладка половых органов человека начинается у пятидневного эмбриона. В зачатки гонад из желточного мешка мигрируют первичные клетки зародышевого пути, которые, размножаясь митозом, дифференцируются в гонии и становятся предшественниками гамет. У зародышей обоих полов миграция проходит одинаково. Если же в клетках зачатков гонад присутствует Y-хромосома, то начинают развиваться семенники, причем начало дифференцировки связано с функционированием эухроматинового района Y-хромосомы. Если же Y-хромосома отсутствует, то развиваются яичники, что соответствует женскому типу. Предполагается, что Y-хромосома не детерминирует дифференцировку по мужскому типу, а лишь контролирует работу соответствующего аутосомного гена. У индивидов, не имеющих Y-хромосомы, этот структурный аутосомный ген не активируется.

У человека зачатки половой системы одинаковы у зародышей обоих полов. Если активность Y-хромосомы подавлена, то зачатки половых органов развиваются по женскому типу. При полном отсутствии всех элементов становления мужского пола формируются женские половые органы. Их развитие не нуждается в специальных регуляторных механизмах и является "конститутивным".

Тип вторичных половых признаков обусловлен дифференцировкой гонад. Половые органы формируются из мюллеровых и вольфовых каналов. У женщин мюллеровы протоки развиваются в фаллопиевы трубы и матку, а вольфовы атрофируются. У мужчин вольфовы каналы развиваются в семенные протоки и семенные пузырьки. Под влиянием хорионического гона-дотропина матери лежащие в эмбриональных семенниках клетки Лейдига синтезируют стероидные гормоны (тестостерон), которые участвуют в регуляции развития особи по мужскому типу. Одновременно в семенниках в клетках Сертоли синтезируется гормон, ингибирующий дифференцировку мюллеровых протоков. Нормальные особи мужского пола развиваются только в случае, если все гормоны действующие на зачатки внешних и внутренних половых органов, "срабатывают" в определенное время в заданном месте. Схема регуляции развития репродуктивной системы плода представлена на рисунке (рисунок 2.3).

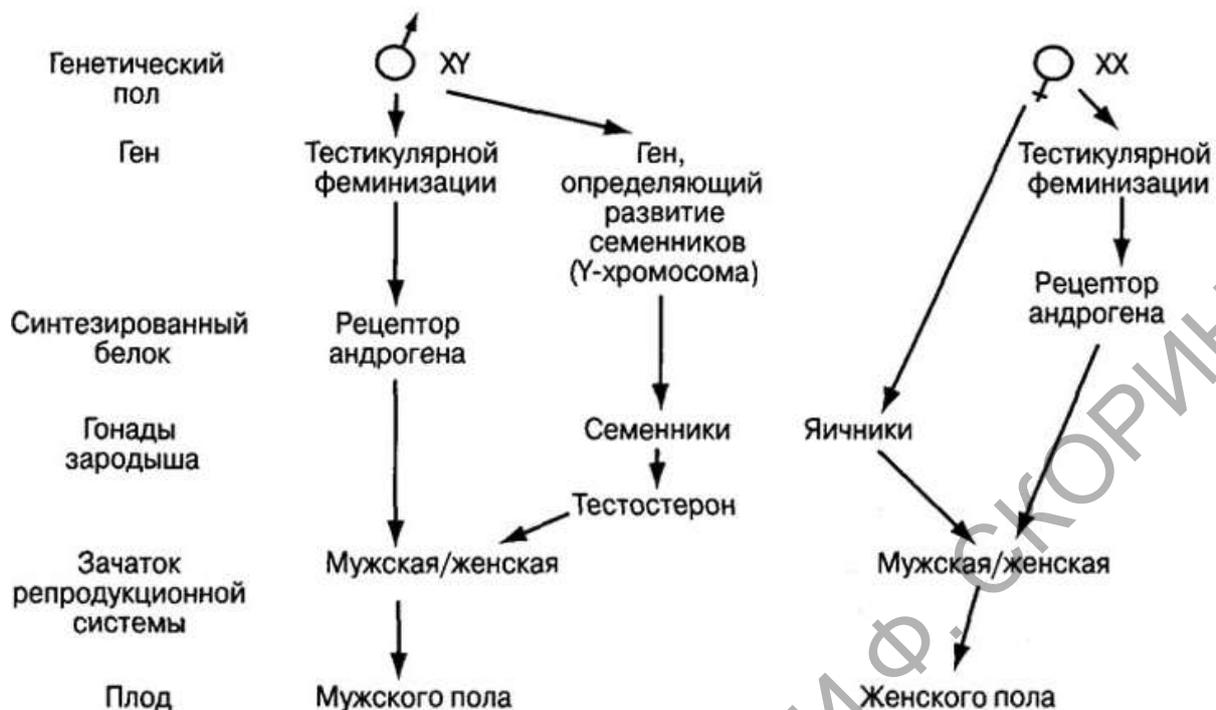


Рисунок 2.3 – Схема регуляции дифференцировки репродуктивной системы плода

В настоящее время описано около 20 разнообразных дефектов генов, которые при нормальном (XY) кариотипе по половым хромосомам приводят к нарушению дифференцировки внешних и внутренних половых признаков, (гермафродитизму). Эти мутации связаны с нарушением: а) синтеза половых гормонов; б) восприимчивости рецепторов к ним; в) работы ферментов, участвующих в синтезе регулирующих факторов и т.д.

X- и Y-хромосомы гомологичны, поскольку обладают общими гомологичными участками, где локализованы аллельные гены. Однако, несмотря на гомологию отдельных локусов, эти хромосомы различаются по морфологии. Ведь, помимо общих участков, они несут большой набор различающихся генов. В X-хромосоме лежат гены, которых нет в Y-хромосоме, а ряд генов Y-хромосомы отсутствуют в X-хромосоме. Таким образом, у мужчин в половых хромосомах некоторые гены не имеют второго аллеля в гомологичной хромосоме. В таком случае признак определяется не парой аллельных генов, как обычный менделирующий признак, а только одним аллелем. Подобное состояние гена называется гемизиготным (рисунок 2.4), а признаки, развитие которых обусловлено одиночным аллелем, расположенным в одной из альтернативных половых хромосом, получили название сцепленных с полом. Она преимущественно развиваются у одного из двух полов и по-разному наследуются у мужчин и женщин.

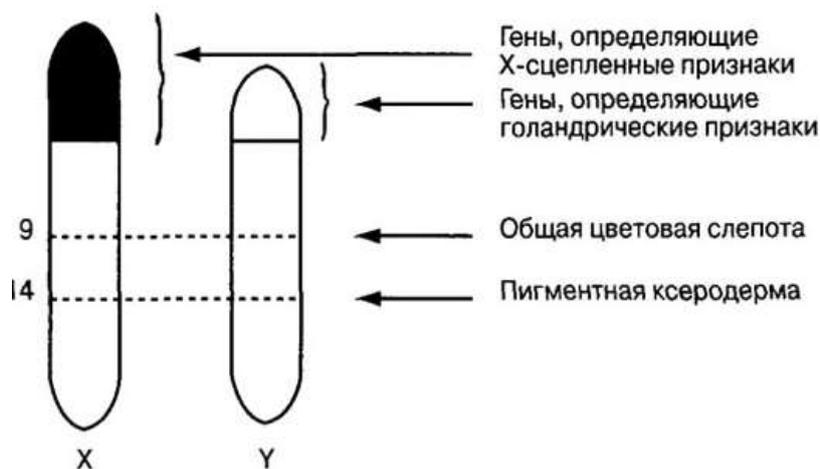


Рисунок 2.4 – Гипотетическая схема расположения генов в X- и Y- хромосомах

Признаки, сцепленные с X-хромосомой, могут быть рецессивными и доминантными. К рецессивным относятся: гемофилия, дальтонизм (неспособность различать красный и зеленый цвета), атрофия зрительного нерва и миопатия Дюшена. К доминантным - рахит, не поддающийся лечению витамином Д, и темная эмаль зубов.

Рассмотрим наследование, сцепленное с X-хромосомой, на примере рецессивного гена гемофилии. У мужчины ген гемофилии, локализованный в X-хромосоме, не имеет аллеля в Y-хромосоме, то есть находится в гемизиготном состоянии. Следовательно, несмотря на то, что признак рецессивный, у мужчин он проявляется:

N - ген нормальной свертываемости крови,

h - ген гемофилии;

X^hY - мужчина с гемофилией;

X^NY - мужчина здоров.

У женщин признак определяется парой аллельных генов в половых хромосомах XX, следовательно, гемофилия может проявиться только в гомозиготном состоянии:

X^NX^N - женщина здорова.

X^NX^h - гетерозиготная женщина, носительница гена гемофилии, здорова,

X^hX^h - женщина с гемофилией.

Перечислим основные формальные характеристики X-сцепленного рецессивного наследования. Обычно заболевание поражает мужчин. Все их фенотипически здоровые дочери являются гетерозиготными носительницами, поскольку в процессе оплодотворения получают от отца X-хромосому:

X^hY
 гаметы: X^h и Y
 дочерям сыновьям

Среди сыновей гетерозиготных матерей ($X^N X^h$) соотношение больных и здоровых составляет 1:1, так как гаметы X^N и X^h образуются с равной вероятностью:

$X^N X^h$ x $X^N Y$
 гаметы: X^N, X^h X^N, Y

F_1 :

	Отцовские гаметы	
	X^N	Y
материнские X^N гаметы X^h	$X^N X^N$ $X^N X^h$ девочки здоровы	$X^N Y$ $X^h Y$ мальчики 1 : 1 здоровы больны

Такое наследование получило название крисс-кросс (или крест-накрест): сыновья наследуют фенотипический признак матери, а дочери - признак отца.

Законы передачи признаков, сцепленных с X-хромосомами, были впервые изучены Т. Морганом.

Наиболее известным примером стало наследование королевской гемофилии А среди потомков английской королевы Виктории (рисунок 2.5). Королева Виктория была гетерозиготной и передала мутантный ген сыну гемофилику и трем дочерям. (Один из потомков королевы царевич Алексей в России также страдал этим недугом). Согласно представленной родословной, как и следует ожидать при рецессивном X-сцепленном наследовании, больны гемофилией мужчины. Однако бывает и по-другому. Описаны семьи, в родословных которых наличествуют близкородственные браки, где гемофилия средней степени выявляется и у женщин (рисунок 2.6).

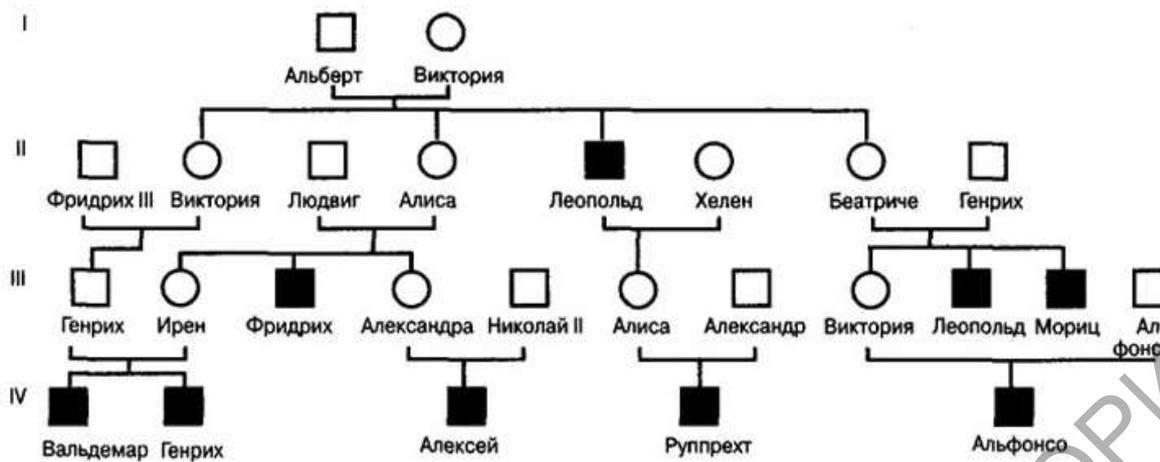


Рисунок 2.5 – Родословная с X-сцепленной гемофилией А в европейских королевских домах

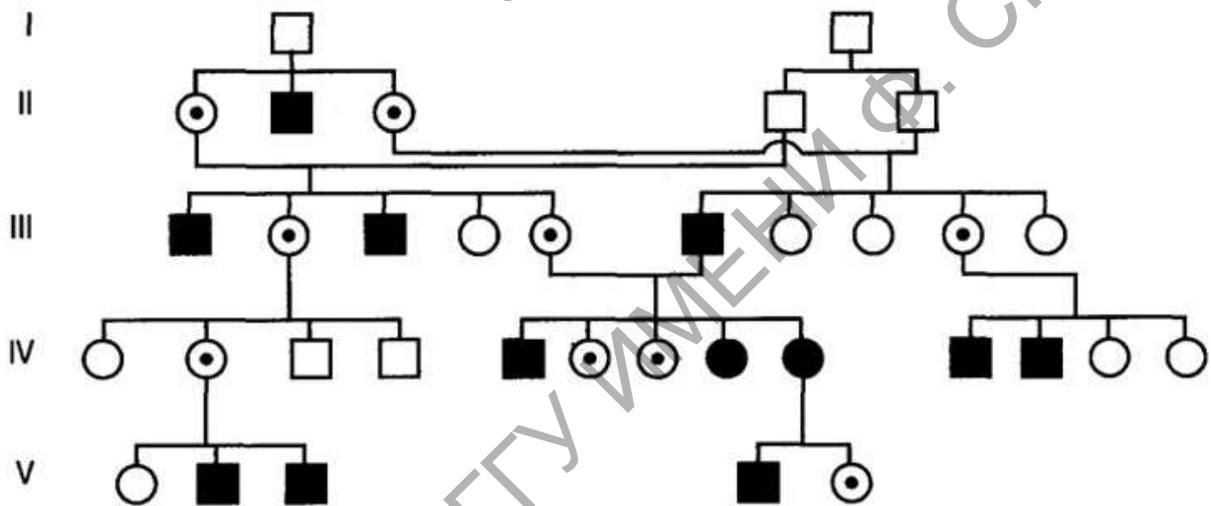


Рисунок 2.6 – Родословная с двумя женщинами, гомозиготными по X-сцепленной гемофилии. Родители - двоюродные сибсы. Фигуры с точками обозначают гетерозигот

Помимо X-сцепленных, у мужчин имеются Y-сцепленные признаки. Они называются голандрическими. Определяющие их гены локализованы в тех районах Y-хромосом, которые не имеют аналогов в X-хромосомах (рисунок 2.4). Голандрические признаки также определяются только одним аллелем, а поскольку их гены находятся только в Y-хромосоме, то выявляются они у мужчин и передаются от отца к сыну, вернее - ко всем сыновьям. К голандрическим признакам относятся: волосатость ушей, перепонки между пальцами ног, ихтиоз (кожа имеет глубокую исчерченность и напоминает рыбью чешую).

Гомологичные районы X- и Y-хромосом содержат аллельные гены, с равной вероятностью встречающиеся у лиц мужского и женского пола.

К числу определяемых ими признакам относятся общая цветовая слепота (отсутствие цветового зрения) и пигментная ксеродерма - заболевание, при котором под влиянием ультрафиолетовых лучей на открытых ча-

стях тела появляются пигментированные пятна, которые постепенно преобразуются в папилломы, а затем и в опухоли. Оба эти признака являются рецессивными. Признаки, связанные с аллельными генами, находящимися в X-и Y-хромосомах, наследуются по классическим менделевским законам.

Закон Нассе – закон наследования гемофилии, установленный на основе формальных (эмпирических) признаков – заболевание отмечается только у мальчиков, а передается через их матерей и сестер. З. Н. является одним из примеров доменделевских открытий, приведших к становлению генетики. К. Нассе сформулировал его в 1820 г.

Гемофилия.

Гемофилия известна с незапамятных времен. Первые описания симптомов, похожих на гемофилию, встречаются на иврите еще в II столетии до нашей эры. А гемофилия как наследственное заболевание была описана в Талмуде в V столетии нашей эры. По законам раввинов, мальчик освобождался от обрезания, если два его старших брата умирали от этой процедуры. Исследователь раввин Моисей Маймонид (1135-1204) ввел это правило для сыновей женщин, которые выходили замуж во второй раз. Таким образом, уже тогда начали учитывать законы наследственности. Арабский физиолог Альбукази (1013-1106) описал случаи смерти мальчиков от кровотечения после банальной травмы.

Самой известной носительницей гемофилии в истории была королева Виктория, эта мутация произошла в её генотипе, поскольку в семьях её родителей страдающие гемофилией не зарегистрированы. Теоретически, это могло бы произойти в том случае, если бы отцом Виктории в действительности являлся не Эдуард Август, герцог Кентский, а какой-либо другой мужчина (больной гемофилией), однако ни каких исторических свидетельств в пользу этого не существует. Гемофилией страдал один из сыновей Виктории (Леопольд, герцог Олбани), а так же ряд внуков и правнуков (родившихся от дочерей и внучек), включая российского цесаревича Алексея Николаевича. По этой причине данное заболевание получило названия



John Conrad Otto

«викторианская болезнь или «царская болезнь». Так же иногда в царских фамилиях для сохранения титула допускались браки между близкими родственниками, отчего частота встречаемости гемофилии была выше.

Первое подробное описание гемофилии сделал Джон Конрад Отто, исследователь из Филадельфии. В 1803 году он опубликовал свою научную работу на тему

повышенной кровоточивости. Детально изучая генеалогию одной из семей, Отто сделал вывод о наследственной склонности к повышенной кровоточивости у мальчиков. Тем не менее, термин "гемофилия" был впервые использован в 1828 году немецким физиологом Хопфом.

Гемофилия "В" как отдельное заболевание была выявлена только в 1952 году. Часто эту форму называют еще "болезнью Кристмаса" (в честь фамилии первого обследованного мальчика с этой болезнью). Гемофилию А соответственно называют "классической". Современные знания и научные исследования гемофилии ведут отсчет с XIX столетия.

Гемофилией страдали многие потомки мужского пола английской королевы Виктории, праправнуком которой был и русский царевич Алексей, сын последнего русского императора Николая II.

Во время кругосветного путешествия Николай II избрал себе невесту - принцессу Алису Викторию Елену Луизу Беатрису Гессе-Дармштадскую (в крещении Александра Федоровна). Она приходилась английской королеве Виктории внучкой. Родители Николая II были категорически против этого бракосочетания, поскольку знали, что род королевы Виктории передает наследственную болезнь - гемофилию (несвертываемость крови). Сын Алексей родился больным гемофилией, получив ее от матери - императрицы Александры Федоровны, унаследовавшей болезнь от своей матери принцессы Алисы, которая, в свою очередь, получила ее от матери - королевы Виктории. Королева Виктория была носителем гемофилии, но из девяти ее детей лишь один сын, принц Леопольд, болел гемофилией и умер, когда ему был тридцать один год, а ее дочери, принцессы Алиса и Беатриса, были носителями болезни.

Из четырех сыновей принцессы Беатрисы двое были больны гемофилией, а ее дочь, Виктория-Евгения, жена короля Испании, передала болезнь двум из троих своих сыновей. Сын принцессы Алисы, Федерик, один из семерых детей, унаследовавший гемофилию, умер в трехлетнем возрасте. Два сына ее сестры Ирен были также больны гемофилией. Тем не менее, одному из них удалось благополучно дожить до 56 лет.

Монархи-родители, как могли, стремились уберечь своих чад от травм. Например, испанская королевская семья одевала двух своих мальчиков в подбитые ватой костюмы; даже деревья в парке, где обычно играли дети, были обвязаны войлоком. Николай II и его семья также вынуждены были принять предупредительные меры, окружив себя узким кругом людей, знавших тайну болезни, и оградив семью

от внешнего мира высокой железной решеткой вокруг дворцового парка в Царском Селе. Тем не менее, это не смогло уберечь царевича от синяков и царапин, и родители просто приходили в отчаяние, сознавая, что постоянно живут на грани катастрофы. Поняв, что врачи бессильны бороться с гемофилией, императрица начала искать другие пути спасения наследника престола. Так в жизни царской семьи появился Григорий Распутин, обладавший необъяснимой способностью облегчать страдания Алексея.

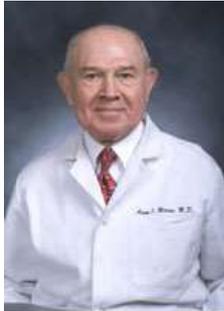
В прежние времена гемофилию лечили подручными средствами. Например, в 1936 году журнал Lancet рассказал о достоинствах экстракта бромидов, выделенного из белка яиц. В 1934 году были проведены успешные эксперименты по применению змеиного яда для остановки кровотечений. В 1966 году журнал Nature написал о целебных свойствах арахисовой муки для больных гемофилией.

Тем не менее, самые важные достижения были сделаны еще раньше при изучении возможности переливания крови. Еще в 1840 году хирург Самуэль Лэйн описал случай успешного переливания крови мальчику больному гемофилией с сильным послеоперационным кровоизлиянием. Тем не менее, отсутствие знаний о групповой принадлежности крови и элементарных правилах переливания, на долгие годы остановили развитие этого направления.

В начале 50-х для лечения гемофилии была использована плазма животных. Несмотря на то, что в некоторых случаях это было достаточно эффективно, все же возникали частые, а порой и очень тяжелые аллергические реакции. Работа Доктора Эдвина Кона по разделению плазмы на отдельные фракции при помощи различных концентраций соли и алкоголя, привели к получению слабо-очищенного концентрата фактора VIII (АНГ - антигемофильный глобулин). Огромный прорыв в этом направлении сделала Джудит Пул в 1965 году, которая показала, что слабое оттаивание плазмы до 4°C ведет к появлению коричневого осадка с большим количеством в нем фактора VIII. Этот продукт был назван криопреципитатом.

Спустя несколько лет, появился очищенный концентрат фактора, преимущество которого были налицо: его можно было хранить в домашнем холодильнике при температуре 4°C, несмотря на маленький объем, он был значительно более эффективен, чем криопреципитат. Появление концентрата фактора ознаменовало новую эпоху в лечении больных гемофилией: концентрат позволил больным перейти на домашнее лечение и не зависеть от наличия врача в непосредственной близости.

Впоследствии стало ясно, что ликовать было рано: концентрат фактора оказался слишком хорошим переносчиком вирусов. Если криопресипитат переливался от одного донора к одному реципиенту, то партии концентрата фактора изготавливались из больших объемов крови от разных доноров. В период с 1979 по 1985 год огромное число больных гемофилией, использовавших концентрат, заразились СПИДом, очень многие умерли по этой причине. Вирус гепатита С обнаружили только в 1989 году. Тогда стало понятно, что большинство больных гемофилией уже им заражены.



Pier Mannucci

Огромное достижение было сделано профессором Пиером Мануччи в 1977 году, который показал, что десмопрессин (DDAVP) может увеличивать уровень фактора VIII и фактора Виллебранда, что является замечательным способом лечения слабых форм гемофилии и болезни Виллебранда.

Ген, отвечающий за выработку фактора VIII был расшифрован в 1984 году. Это стало основой для производства рекомбинантных (генетически синтезированных) концентратов фактора. Рекомбинантные препараты исключают риск заражения ВИЧ/СПИДом и другими человеческими вирусами.

Однако, уже сейчас ясно, что будущее за генной терапией. Уже долгое время идут испытания по пересадке больным гемофилией здорового гена, отвечающего за выработку недостающего фактора свертываемости. Это целая индустрия, которая работает в поисках лекарства от гемофилии. Но и здесь не все так просто: шаг за шагом с разработками новых способов и методов лечения, человеческий организм придумывает все новые и новые способы защиты от потустороннего вмешательства. Последние успехи в области генной инженерии позволяют надеяться на лучшее. Однако к какому новому витку эволюции приведет столь коренное воздействие на организм человека, сейчас остается только предполагать.

В начале XIX в. несколькими авторами одновременно было описано наследование гемофилии, в результате изучения родословных семей, в которых встречались лица, страдающие этой болезнью.

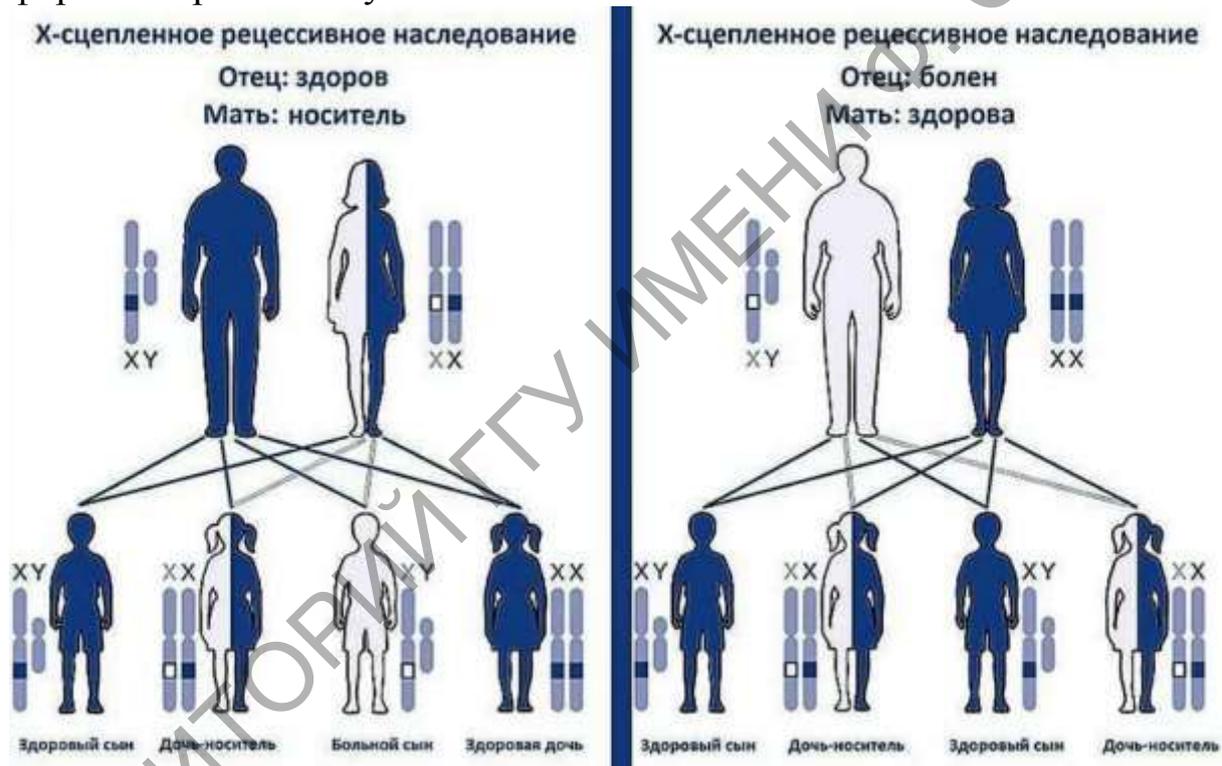
Гемофилия – наследственное заболевание, связанное с нарушением свёртывания крови. При этом заболевании возникают кровоизлияния в суставы, мышцы и внутренние органы, как спонтанные, так и в результате травмы или хирургического вмешательства.

При гемофилии резко возрастает опасность гибели пациента от кровоизлияния в мозг и другие жизненно важные органы, даже при

незначительной травме. Различают три типа гемофилии в зависимости от того, как нарушен этот ген. Обычно болезнью страдают мужчины (наследование, сцепленное с полом), женщины же выступают как носительницы гемофилии и могут родить больных сыновей или дочерей-носительниц дефекта. Болезнь передается по рецессивному сцепленному с X-хромосомой типу, т.е. женщины являются носительницами гена. Каждая дочь такой женщины имеет 50 % шанс стать носителем.

Каждый родившийся у этой женщины мальчик имеет 50 % шанс стать больным гемофилией (см. рисунок, приведенный ниже).

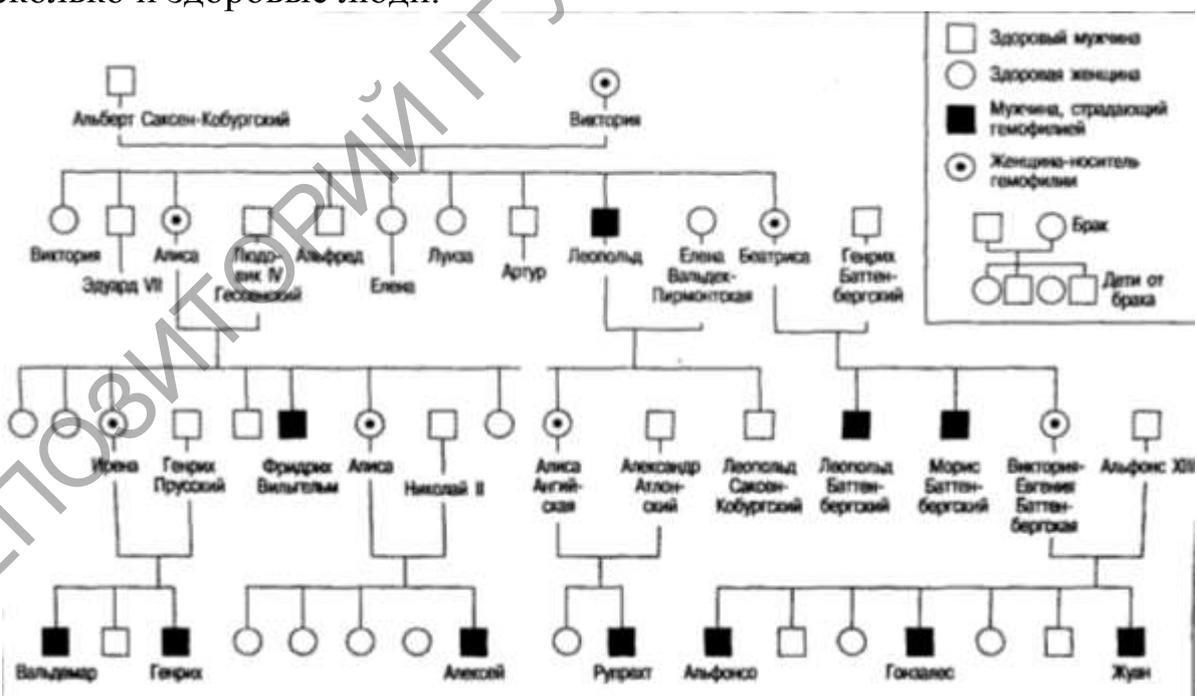
Гемофилия встречается достаточно редко (1 больной на 10000 новорожденных, или 1 на 5000 новорожденных мальчиков). Тяжелые формы встречаются у 1 из 16 000 человек.



Во всем мире насчитывается около 350 000 тысяч человек с гемофилией. Распространено мнение, что женщины не болеют гемофилией, однако это мнение не совсем правильно. Дело в том, что женские зародыши, больные гемофилией, (у них обе X-хромосомы дефектны, что бывает крайне редко) просто не рождаются. Это происходит из-за того, что у такого зародыша отсутствует определенный фактор крови, без которого не происходит развития кровеносной системы зародыша. Поэтому на четвертой неделе беременности всегда происходит самопроизвольный выкидыш, что дает право говорить о

невозможности существования женщины, больной гемофилией. Самой известной носительницей гемофилии в истории была английская королева Виктория (1819-1901); по-видимому, эта мутация произошла в её геноме, а не унаследована, поскольку в семьях её родителей и предков страдающие гемофилией не зарегистрированы.

Гемофилией страдал один из сыновей Виктории (Леопольд, герцог Ольбани). В русскую царскую семью гемофилия попала через внучку Виктории (дочь ее дочери Алисы), ставшую женой императора Николая II, русской императрицей Александрой Федоровной. От нее болезнь передалась ее сыну, великому князю Алексею (цесаревичу Алексею), который с раннего детства страдал тяжелыми кровотечениями. Наиболее распространенное заблуждение о гемофилии – это то, что больной гемофилией может истечь кровью от малейшей царапины. Это неверно. Серьезную проблему представляют лишь крупные ранения и хирургические операции, удаление зубов, а также спонтанные внутренние кровоизлияния в мышцы и суставы, обусловленные, по-видимому, уязвимостью стенок сосудов у больных гемофилией. Хотя гемофилия на сегодняшний день неизлечима, её течение контролируется с помощью инъекций недостающего фактора свёртываемости крови, чаще всего выделенного из донорской крови. В целом, современные гемофилики при правильном лечении живут столько же, сколько и здоровые люди.



Носительницы гена гемофилии на сегодня практически не имеют возможности заранее спланировать рождение больного или здорового ребенка, за исключением, возможно, процедуры экстракорпорального

оплодотворения (ЭКО) при соблюдении определенного ряда условий. Также, при соблюдении определенных условий, возможно диагностирование наличия гемофилии у плода с 8-й недели беременности. Такое исследование можно провести в ряде медицинских учреждений России, однако самый большой опыт пренатальной диагностики гемофилии накоплен в НИИ акушерства и гинекологии им. Отта в Санкт-Петербурге.

3. Классификация заболеваний человека

Огромный вклад в систематизацию и обобщение информации о генетических картах хромосом человека, локализации и функциях отдельных генов и о структуре генома в целом вносят исследования под руководством профессора Виктора Мак-Кьюсика, проводящиеся с начала 60-х гг. XX ст. в Университете Джона Хопкинса в Балтиморе (США). Результат этих исследований – систематическое издание каталогов, содержащих сводные данные обо всех картированных генах человека и связанных с ними моногенных наследственных болезнях под названием «Менделевское наследование у человека: каталог человеческих генов и генетических болезней». Последнее 12-е издание этой книги было в 1998 г. – McKusick, V. A.: Mendelian Inheritance in Man. A Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1998 (12th edition).

Справочник содержит каталог генов человека и моногенных болезней и имеет четкую клиническую ориентацию. В нем можно найти информацию об идентифицированных и картированных генах человека, кодируемых продуктах, мутантных аллелях, вызываемых ими заболеваниями.

Каждому локусу и фенотипу в каталоге присвоен шестизначный номер (MIM), который в настоящее время стал международным номером моногенных заболеваний. Первая цифра в этом номере определяет тип наследования.

1 – (100000-) аутосомно-доминантные гены или фенотипы (введены в каталог до 15 мая 1994 г.).

2 – (200000-) аутосомно-рецессивные гены или фенотипы (введены в каталог до 15 мая 1994 г.).

3 – (300000-) X-сцепленные гены или фенотипы.

4 – (400000-) Y-сцепленные гены или фенотипы.

5 – (500000-) митохондриальные гены или фенотипы.

6 – (600000-) аутосомные гены или фенотипы (введены в каталог после 15 мая 1994 г.).

Четыре цифры, следующие после точки непосредственно за шестизначным номером, предназначены для кодирования различных мутантных вариантов данного гена. Например, различные мутации гена IX фактора свертываемости крови (гемофилия В) имеют номера от 306900.0001 до 306900.0101. Ген β -глобина имеет номер 141900, а мутантный ген серповидно-клеточной анемии – 141900.0243.

С 1998 г. каталог не переиздавался и существует в ежедневно обновляющейся версии в Интернете под кодовым названием OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man). Официальный сайт OMIM в Интернете <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>.

В настоящее время каталог распространяется Национальным Центром Биотехнологической Информации – National Center for Biotechnology Information (NCBI) через Интернет.

Литература:

1. Шевченко, В.А. Генетика человека / В.А. Шевченко, Н.А. Топорнина, Н.С. Стволинская. – М.: Владос, 2004. – 240 с.
2. Запорожан, В.Н. Медицинская генетика / В.Н. Запорожан, Ю.И. Бажора, А.В. Шевеленкова, М.М. Чеснокова. – Одесса: ОНМедУ, 2012. – 278 с.
3. Узбекское общество гемофилии [Электронный ресурс] / История гемофилии. – Режим доступа: <http://hemophilia.uz/istoriya-hemophilii.html>. – Дата доступа: 12.03.2018.
4. Картель, Н.А. Генетика. Энциклопедический словарь / Н.А. Картель, Е.Н. Макеева, А.М. Мезенко. – Минск: Белорусская наука, 2011. – 992 с.

ЛЕКЦИЯ 3. ПОСТРОЕНИЕ И АНАЛИЗ РОДОСЛОВНЫХ

1. Составление родословной
2. Генетический анализ родословной

1. Составление родословной

Суть метода заключается в составлении родословной и последующий ее анализ. Впервые такой подход был предложен английским ученым Ф. Гальтоном в 1865 г. Генеалогический метод включает два этапа: составление родословных и их генеалогический анализ.

Сбор сведений о семье начинается с человека, называемого пробандом. Обычно это больной с изучаемым заболеванием. Дети одной родительской пары называются сибсами (братья-сестры). В большинстве случаев родословная собирается по одному или нескольким признакам. Родословная может быть полной или ограниченной. Чем больше поколений прослежено в родословной, тем она полнее и тем выше шансы на получение полностью достоверных сведений. Сбор генетической информации проводится путем опроса, анкетирования, личного обследования семьи. Опрос начинается обычно с родственников по материнской линии: бабушки и дедушки по материнской линии, с указанием внуков, детей каждого ребенка бабушки и дедушки. В родословную вносят сведения о выкидышах, абортах, мертворожденных, бесплодных браках и др.

При составлении родословной ведется краткая запись данных о каждом члене рода с указанием его родства по отношению к пробанду. Обычно указываются: фамилия, имя и отчество, дата рождения и смерти, возраст, национальность, место жительства семьи, профессия, наличие хронических заболеваний в семье, причину смерти умерших и др.

После сбора сведений составляют графическое изображение родословной, используя систему условных обозначений (рис.).

Выполняя эту работу, важно соблюдать следующие правила:

1. Составление родословной начинают с пробанда. Братья и сестры располагаются в порядке рождения слева направо, начиная со старшего.
2. Все члены родословной располагаются строго по поколениям в один ряд.
3. Поколения обозначаются римскими цифрами слева от родословной сверху вниз.
4. Арабскими цифрами нумеруется потомство одного поколения

(один ряд) слева направо.

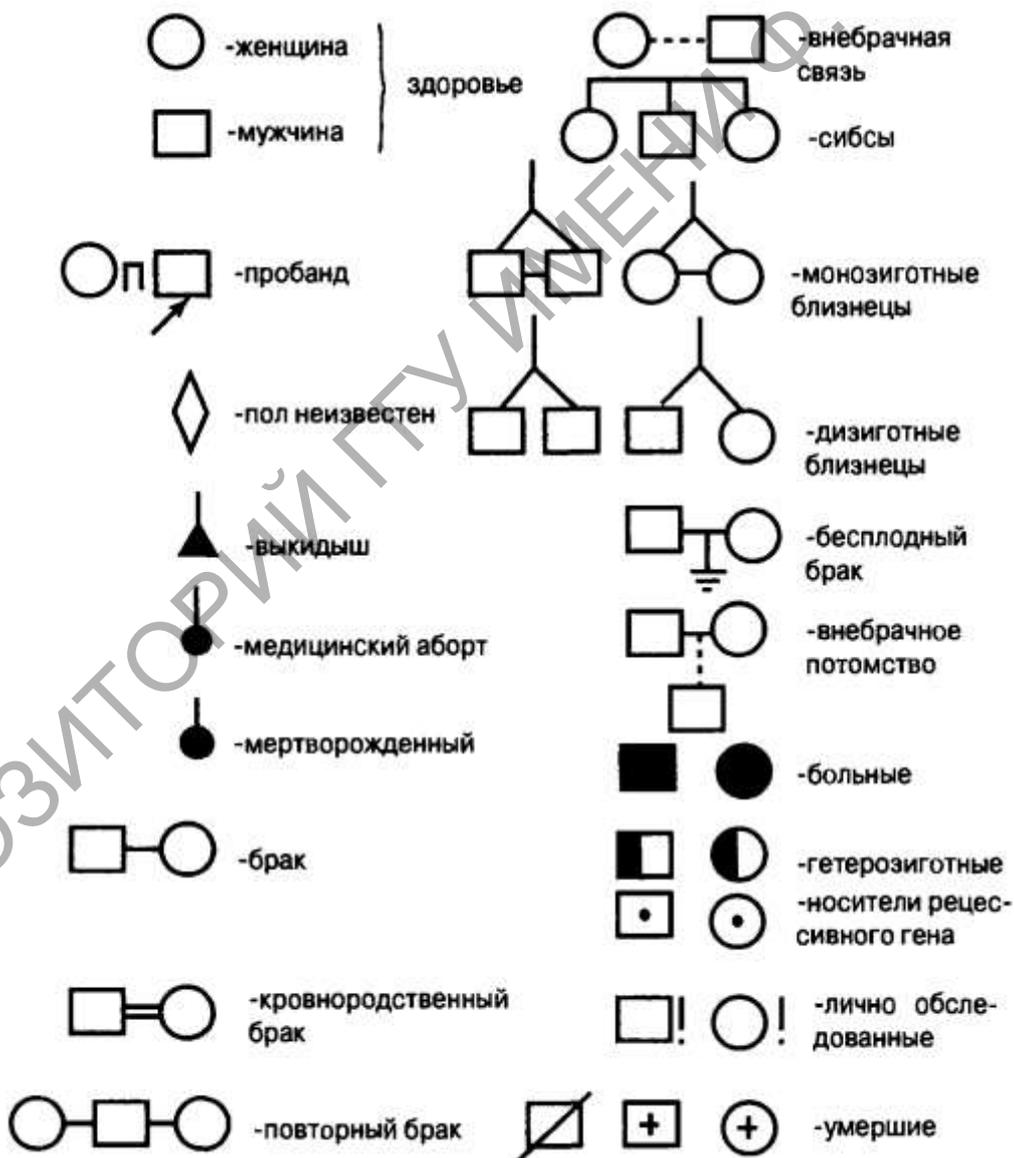
5. В связи с тем, что некоторые болезни проявляются в разные периоды жизни, указывается возраст членов семьи.

6. Отмечаются лично обследованные члены родословной.

Графическое изображение родословной может быть вертикально-горизонтальным или расположенным по кругу (в случае обширных данных). Схема родословной сопровождается описанием обозначений под рисунком, которое называется легендой.

2. Генетический анализ родословной

Задача генетического анализа - установление наследственного характера заболевания и типа наследования, выявление гетерозиготных носителей мутантного гена, а так же прогнозирование рождения больных детей в семьях с наследственной патологией.



Анализ родословной включает следующие этапы:

1. Установление, является ли данный признак или заболевание единичным в семье или имеется несколько случаев (семейный характер). Если признак встречается несколько раз в разных поколениях, то можно предполагать, что этот признак имеет наследственную природу.

2. Определение типа наследования признака. Для этого анализируют родословную, учитывая следующие моменты: 1) встречается ли изучаемый признак во всех поколениях и многие ли члены родословной обладают им; 2) одинакова ли его частота у лиц обоих полов и у лиц какого пола он встречается чаще; 3) лицам какого пола передается признак от больного отца и больной матери; 4) есть ли в родословной семье, в которых у обоих здоровых родителей рождались больные дети, или у обоих больных родителей рождались здоровые дети;

5) какая часть потомства имеет наследуемый признак в семьях, где болен один из родителей.

В зависимости от типа наследования общая картина родословной выглядит по-разному.

Аутосомно-доминантное наследование характеризуется тем, что мутантный ген связан с аутосомой и проявляется как в гомозиготном (AA), так и в гетерозиготном (Aa) состояниях. В силу этого прослеживаются следующие особенности наследования:

- 1) передача патологии от больных родителей к детям;
- 2) оба пола поражаются в равных пропорциях;
- 3) здоровые члены семьи обычно имеют здоровое потомство;
- 4) отец и мать одинаково передают мутантный ген дочерям и сыновьям.

Возможна передача болезни от отца к сыну.

Клинические проявления болезни могут значительно варьировать в зависимости от экспрессивности и пенетрантности гена. Экспрессивностью называется степень выраженности гена (в нашем случае – тяжесть заболевания). При высокой экспрессивности гена развивается тяжелая, часто с летальным исходом форма заболевания, при низкой – внешне человек здоров.

Под пенетрантностью понимается частота проявления мутантного гена среди его носителей. Она определяется отношением числа особей, имеющих данную болезнь (или признак), к числу особей, имеющих данный ген, выраженным в процентах. Например, пенетрантность атеросклероза 40%, синдрома Марфана 30%, ретинобластомы 80% и т.д.

Экспрессивность и пенетрантность колеблются в широких пределах (от 0 до 100%) и сильно зависят от условий внешней среды. По аутосомно-доминантному типу наследуется полидактилия (шестипалость), брахидактилия (короткопалость), ахондроплазия (карликовость), синдром Марфана ("паучьи пальцы") и другие заболевания (рис. 2.3).

При доминантном типе наследования, если один из родителей болен (Aa), вероятность рождения больного ребенка равна 50% при условии полной пенетрантности гена. В случае гетерозиготности обоих родителей (Aa x Aa) больные дети могут родиться с вероятностью 75%. Многие аутосомно-доминантные заболевания в гомозиготном состоянии протекают в более тяжелой форме, чем у гетерозигот. Однако в практике нередки случаи, когда носители доминантного гена остаются фенотипически здоровыми. В результате вид родословной изменяется и появляются пропуски поколений.

Носительство доминантного гена без фенотипического проявления можно заподозрить у одного из родителей, если среди его потомков появились больные с такой же доминантной патологией. Когда у здоровых родителей появился больной ребенок и в родословной есть другие случаи этой болезни, то правомочно предполагать, что у одного из родителей больного был дефектный ген, который не пенетрировал, но был передан потомку.

Доминантный ген может обладать разной степенью экспрессивности, что затрудняет установление аутосомно-доминантного типа наследования. Рассмотрим это на примере наследственной патологии соединительной ткани – синдрома Марфана. Встречаются тяжелые формы заболевания с классическим поражением костной системы (сколиоз или кифосколиоз, деформация грудины, высокий рост), нарушением зрения (двусторонний вывих хрусталика) и сердечно-сосудистой системы (расширение аорты). Наблюдаются и стертые сюрмы синдрома Марфана, которые не диагностируются (астеническое телосложение, арахнодактилия, небольшая миопия). Слабо выраженные клинические формы болезни могут легко пропускаться, тогда родословная также теряет свой "классический" вид, выявляются пропуски поколений. Поэтому важно проводить личное обследование всех членов семьи.

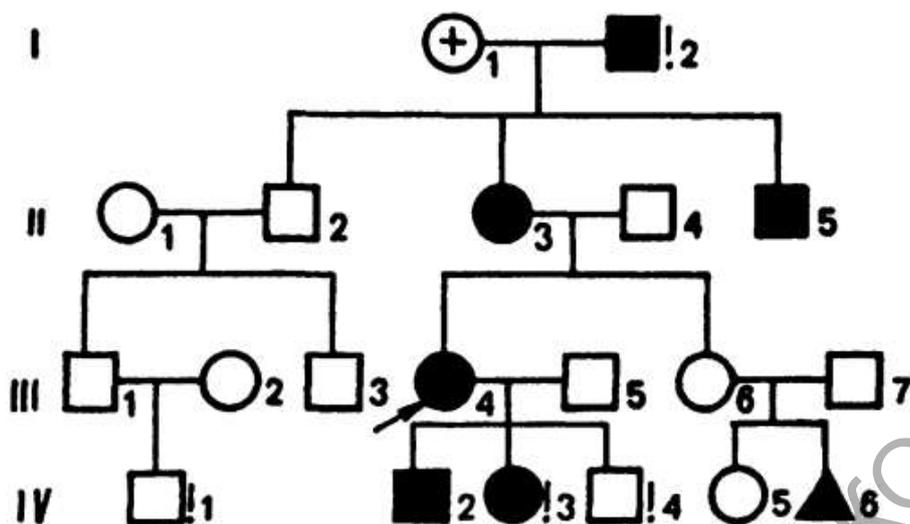


Рис. 2.3. Родословная семьи с брахидактилией

При **аутосомно-рецессивном** типе наследования мутантный ген проявляет свое действие только в гомозиготном состоянии. По этой причине в гетерозиготном состоянии он может существовать во многих поколениях, не проявляясь фенотипически. При данном типе наследования заболевание встречается в родословной редко и не во всех поколениях. Вероятность заболевания у девочек и мальчиков одинакова. Признак может проявиться у детей, родители которых были здоровы, но являясь гетерозиготными носителями мутантного гена.

Возможны несколько вариантов таких браков:

- 1) мать aa x отец aa – у таких родителей все дети будут больными (aa);
- 2) мать Aa x отец aa – 50 % детей будут больными (генотип aa) и 50 % фенотипически здоровыми (генотип Aa), но будут являться гетерозиготными носителями дефектного гена;
- 3) мать Aa x отец Aa – 25 % детей будут больными (генотип aa), 75 % фенотипически здоровыми (генотипы AA и Aa), но 50 % из них будут носителями мутантного гена (генотип Aa).

Известно, что частота возникновения наследственных рецессивно-аутосомных болезней находится в прямой зависимости от степени распространенности мутантного гена среди населения. Частота таких болезней особенно повышается в изолятах и среди населения с высоким процентом кровнородственных браков. Такие браки отрицательно влияют на потомство, на это указывает тот факт, что умственная отсталость среди детей от родственных браков в 4 раза выше, чем в семьях с неродственными браками.

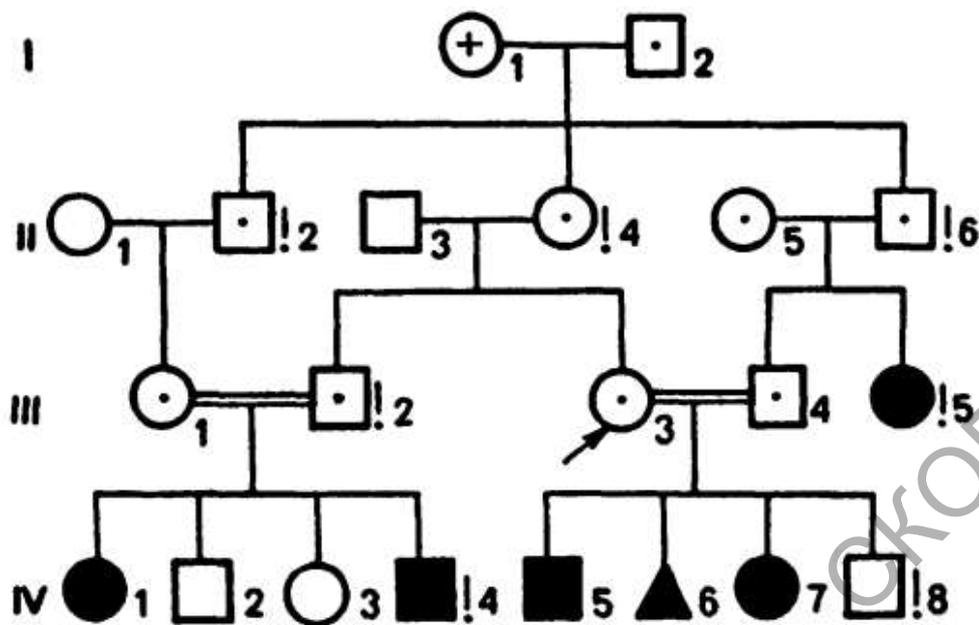


Рис. 2.4. Родословная семьи с альбинизмом

При **аутосомно-рецессивном типе наследования** (как и при аутосомно-доминантном) возможны различная степень экспрессивности и пенетрантности признака. К заболеваниям с аутосомно-рецессивным типом наследования относятся многие болезни обмена веществ, среди которых фенилкетонурия, галактоземия, альбинизм (рис.2.4), муковисцидоз и др. Установлено, что рецессивные заболевания чаще диагностируются в раннем возрасте.

Наследование заболеваний, сцепленных с полом, определяется тем, что мутантный ген расположен в X или Y-хромосоме. Известно, что у женщин имеются две X-половые хромосомы, а у мужчин – одна X- и одна Y-хромосома. У человека в X-хромосоме локализовано более 200 генов. Гены, расположенные в хромосоме X, могут быть рецессивными или доминантными.

У женщин мутантный ген может находиться в обеих X-хромосомах или только в одной из них; в первом случае она гомозиготна, во втором – гетерозиготна. Мужчины, являясь гемизиготными (имеют только одну хромосому X), передают ее только дочерям и никогда – сыновьям. Любой ген, как доминантный, так и рецессивный, локализованный в его X-хромосоме, обязательно будет проявляться. В этом главная особенность X-сцепленного наследования.

Для X-сцепленного рецессивного наследования характерны следующие особенности:

- 1) заболевание встречается чаще у лиц мужского пола;
- 2) от здоровых родителей могут родиться больные дети (если мать гетерозиготна по мутантному гену);

3) больные мужчины не передают заболевание своим сыновьям, но их дочери становятся гетерозиготными носителями болезни;

4) больные женщины могут родиться только в семьях, где отец болен, а мать гетерозиготна по мутантному гену.

Рассмотрим несколько примеров, когда в X-хромосоме локализован рецессивный ген. Если в брак вступает здоровая женщина и больной мужчина, то в такой семье все дети будут здоровыми, а дочери получают от отца одну X-хромосому с мутантным геном и будут гетерозиготными носителями (т.к. вторую нормальную X-хромосому они получают от матери). В том случае, если в брак вступают здоровый мужчина и женщина - носительница патологического гена, то вероятность рождения больного мальчика составит 50% от всех мальчиков и 25% - от всех детей.

Вероятность рождения больных девочек очень низка и возможна лишь, если отец болен, а мать гетерозиготна по мутантному гену. В такой семье половина мальчиков будут больными. Среди девочек болезнь проявится у половины, а другая половина будет нести дефектный ген.

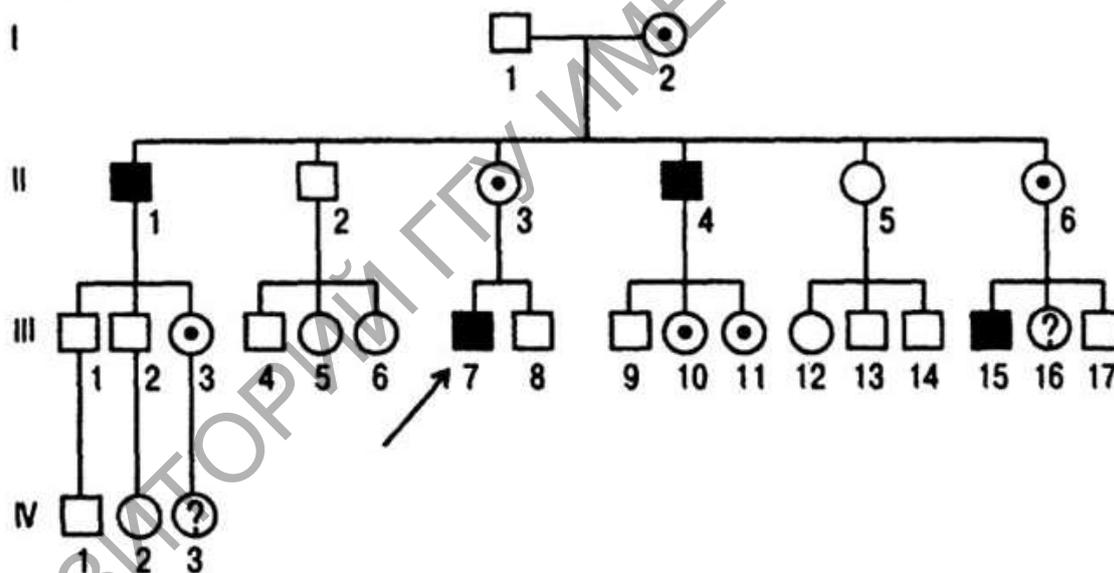


Рис. 2.5. Родословная с X-сцепленным рецессивным типом наследования (гемофилия)

Классическим примером рецессивного, сцепленного с полом наследования, может служить гемофилия. Больные страдают повышенной кровоточивостью. Причина - недостаточное содержание в крови факторов свертывания крови. На рис. 2.5 изображена родословная семьи с гемофилией. Анализ родословной показывает, что болеют только мальчики. (II - 1,4; III - 7,15). Отсюда можно предположить, что ген гемофилии сцеплен с полом. Больные дети чаще рождаются от здоровых родителей и, следовательно, ген болезни рецес-

СИВНЫЙ.

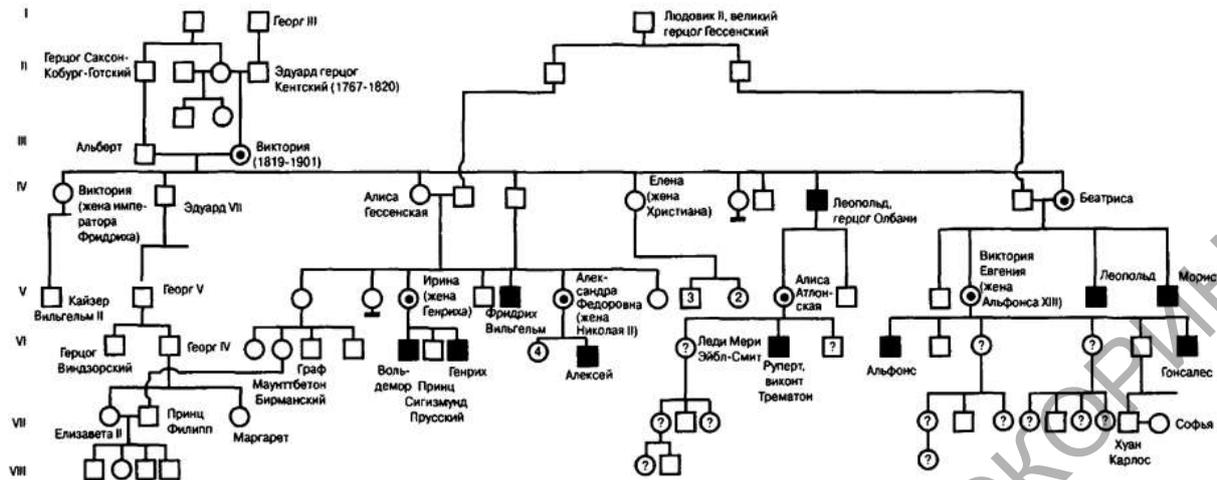


Рисунок 2.6 – Наследование, сцепленное с полом

Известно, что гемофилия широко распространена в королевских семьях Европы. Это связано с заключением близкородственных браков. В результате возникшие мутации сохранялись внутри семьи. Королева Виктория в Англии была носительницей гена гемофилии. Ее сын Леопольд родился гемофиликом. Через своих дочерей и внуков королева Виктория передала ген гемофилии Вольдемару и Генриху Прусским, Фридриху Гессенскому, царевичу Алексею Романову, Рупрехту Тех-Атлонскому, двум баттенбергским и двум испанским принцам (рис 2.6). Кроме гемофилии, в X-хромосоме локализованы рецессивные гены, обуславливающие миопатию Дюшенна, некоторые формы дальтонизма и др. заболевания.

При локализации в хромосоме X доминантного гена тип наследования называется X-сцепленным доминантным. Для него характерны следующие признаки:

- 1) болеют как мужчины, так и женщины, однако больных женщин в два раза больше, чем больных мужчин;
- 2) заболевание прослеживается в каждом поколении;
- 3) если болен отец, то все его дочери будут больными, а все сыновья здоровыми;
- 4) если мать больна, то вероятность рождения больного ребенка равна 50 % независимо от пола;
- 5) больными дети будут только тогда, если болен один из родителей;
- 6) у здоровых родителей все дети будут здоровы.

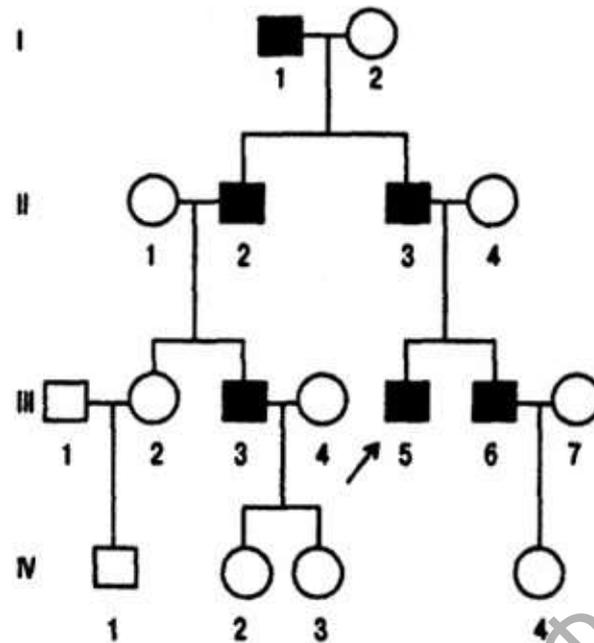


Рис. 2.7. Родословная с Y-сцепленным типом наследования (гипертрихоз).

По X-сцепленному доминантному типу наследуются фосфатемия (недостаток фосфата в крови), коричневая окраска эмали зубов и др.

Имеет свои особенности и Y-сцепленное наследование:

В Y-хромосоме у мужчин локализовано немного генов. Они передаются только сыновьям и никогда дочерям (голландрическое наследование). С Y-хромосомой у мужчин наследуются такие признаки, как гипертрихоз (наличие волос по краю ушных раковин), кожные перепонки между пальцами ног, развитие семенников, интенсивность роста тела, конечностей и зубов. Характерные особенности наследования с Y-хромосомой можно видеть на рис. 2.7.

Литература:

1. Шевченко, В.А. Генетика человека / В.А. Шевченко, Н.А. Топорнина, Н.С. Стволинская. – М.: Владос, 2004. – 240 с.
2. Гончаренко, Г.Г. Генетика. Анализ наследственных закономерностей на генах меха кошек / Г.Г. Гончаренко, С.А. Зяцьков. – Гомель: ГГУ им. Ф. Скорины, 2007. – 108 с.
3. Заяц, Р.Г. Основы общей и медицинской генетики / Р.Г. Заяц, И.В. Рачковский. – Мн.: «Вышэйшая школа», 2003. – 239с.
4. Песецкая, Л.Н. Сборник задач по генетике / Л.Н. Песецкая, Г.Г. Гончаренко, Н.Н. Острейко. – Гомель: ГГУ, 2002. – 114 с.

ЛЕКЦИЯ 4. ГЕНЫ, КОНТРОЛИРУЮЩИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ

1. «Врожденные ошибки метаболизма» Гэррода
2. Характеристика генных болезней
3. Болезни аминокислотного обмена

1. «Врожденные ошибки метаболизма» Гэррода

В 1902 году вышла статья «Распространенность алкаптонурии: изучение химических особенностей», автор которой Арчибальд Гэррод (A. Garrod) применил менделевскую концепцию гена на природу человека, а экспериментальный подход Менделя использовал для исследования человека. Гэррод был врачом, преемником Ослера на самой престижной кафедре медицины в Оксфорде. Его вклад в генетику человека не был оценен при жизни. Биологи обращали мало внимания на работы медиков. Их интерес был сконцентрирован на формальных вопросах генетики, а не на действии гена. Медицинский мир не понимал важности его наблюдений для медицины. По мнению Гэррода, наиболее важный результат проведенных исследований алкаптонурии состоит в следующем:

«... индивид либо имеет выраженную форму алкаптонурии, либо находится в нормальном состоянии, то есть либо из его организма выделяется несколько граммов гомогентизиновой кислоты в день, либо кислота вообще не выделяется. До сих пор никогда еще не наблюдалось ее появления в следовых количествах или постепенного увеличения или уменьшения ее выделения...».

Вторая важная особенность заболевания заключается в том, что оно «в подавляющем большинстве случаев является врожденным...». И в-третьих, «эта аномалия может проявляться у двух или большего числа братьев и сестер с нормальными родителями, среди предков которых не отмечалось случаев возникновения этого заболевания. В-четвертых, в шести из десяти описанных семей родители были кузенами, в то время как браки между кузенами в Англии тогда составляли не более 3%. Однако, с другой стороны, дети с алкаптонурией рождаются только в небольшом проценте случаев всех браков между кузенами.

«Нет оснований предполагать, что просто родство между родителями может приводить к такому нарушению у потомства, как алкаптонурия, и мы должны скорее искать объяснение в некоторых особенностях родителей, которые могли бы проявляться на протяжении

поколений, но имеют большую вероятность проявиться у потомков при союзе двух членов семьи, в которой имеются носители этих признаков».

Затем Гэррод упоминает закон наследования, обнаруженный Менделем, который «предлагает разумное объяснение этого явления», сходного с наследованием рецессивных признаков. Он цитирует высказывание Бэтсона и Сандерса, с которыми он обсуждал свои данные:

«... мы знаем, что при браках между кузенами создаются условия для проявления у потомства редких и обычно рецессивных свойств. Если носитель гамет с таким свойством вступает в брак с индивидом, им не обладающим, свойство едва ли проявится, но кузены часто имеют сходные гаметы, которые при браках между ними могут слиться и таким образом привести к проявлению в зиготе специфических рецессивных свойств».

После критического анализа возможных причин алкаптонурии Гэррод делает вывод:

«Взгляд на алкаптонурию как на отклонение от нормального метаболизма или иной тип метаболизма приобретет значительный вес, если можно будет показать, что это не единственный пример химических нарушений в организме и что имеются аналогичные отклонения, которые можно отнести к этой же категории».

Отметив в качестве возможных примеров альбинизм и цистинурию, он продолжил: «Может ли быть так, что имеются другие химические аномалии, которые не сопровождаются такими явными нарушениями (как три состояния, описанные выше) и которые можно выявить только с помощью химического анализа?». И далее:

«Если в случае алкаптонурии и при других упомянутых заболеваниях мы имеем дело с отдельными нарушениями метаболизма, а не с результатами патологического процесса, естественно было бы думать, что это всего лишь исключительные случаи химических нарушений в организме, которые, вероятно, в небольшой степени имеются у всех людей, и что точно так же, как среди представителей данного вида нет двух особей с идентичным строением тела, так не могут быть идентичными и химические процессы в их организмах».

Он высказал предположение, что различная реакция на лекарства и инфекционные агенты может обуславливаться такими индивидуальными (химическими) различиями. В работе Гэррода выдвигаются следующие новые положения.

1. У человека алкаптонурия или есть, или нет, промежуточных

состояний не бывает. Это действительно та ситуация, когда можно сразу распознать простые варианты наследования.

2. Аномалия является врожденной.

3. Она встречается у сибсов, а не у родителей

4. Родители часто кузены.

Два последних обстоятельства были объяснены с помощью менделевской гипотезы наследования рецессивных признаков. Особенно подчеркивается роль браков между кузенами в возникновении редких заболеваний; здесь мы оказываемся у истоков популяционной генетики.

5. Помимо алкаптонурии встречаются и другие отклонения от нормы. К ним относятся отсутствие пигмента в кожных покровах и цистинурия. Алкаптонурия может служить моделью «врожденных ошибок метаболизма». В 1908 г. Гэррод опубликовал свой классический труд, посвященный этой теме [75].

6. Отклонения от нормы могут быть выражены резко и обуславливать патологию. Менее выраженные химические различия между людьми встречаются очень часто. Можно сказать, что не найдется и двух «химически» идентичных людей.

В этой книге мы будем руководствоваться принципом генетической детерминированности биохимической индивидуальности человека. Интересно сравнить вклад Гэррода в генетику с вкладом Адамса. Помимо «семейной» распространенности некоторых наследственных заболеваний Адамс наблюдал ряд явлений, которые не были замечены Гэрродом, такие, как возникновение некоторых заболеваний в более позднем возрасте, внутрисемейная корреляция возраста проявления болезни. Однако в руках Адамса не было учения Менделя. Поэтому его попытки не могли привести к созданию четкой теории. Гэррод опирался на учение Менделя и, используя его, создал новое научное направление- биохимическую генетику человека.

2. Характеристика генных болезней

Моногенные формы генных заболеваний наследуются в соответствии с законами Г. Менделя. По типу наследования они делятся на аутосомно-доминантные, аутосомно-рецессивные и сцепленные с X- или Y-хромосомами.

Большинство генных патологий обусловлено мутациями в структурных генах, осуществляющих свою функцию через синтез полипептидов - белков. Любая мутация гена ведет к изменению структуры или количества белка.

Начало любой генной болезни связано с первичным эффектом мутантного аллеля. Основная схема генных болезней включает ряд звеньев: мутантный аллель → измененный первичный продукт → цепь последующих биохимических процессов клетки → органы → организм.

В результате мутации гена на молекулярном уровне возможны следующие варианты:

- 1) синтез аномального белка;
- 2) выработка избыточного количества генного продукта;
- 3) отсутствие выработки первичного продукта;
- 4) выработка уменьшенного количества нормального первичного продукта,

Не заканчиваясь на молекулярном уровне в первичных звеньях, патогенез генных болезней продолжается на клеточном уровне. При различных болезнях точкой приложения действия мутантного гена могут быть как отдельные структуры клетки - лизосомы, мембраны, митохондрии, пероксисомы, так и органы человека. Клинические проявления генных болезней, тяжесть и скорость их развития зависят от особенностей генотипа организма (гены-модификаторы, доза генов, время действия мутантного гена, гомо- и гетерозиготность и др.), возраста больного, условий внешней среды (питание, охлаждение, стрессы, переутомление) и других факторов.

Особенностью генных (как и вообще всех наследственных) болезней является их гетерогенность. Это означает, что одно и то же фенотипическое проявление болезни может быть обусловлено мутациями в разных генах или разными мутациями внутри одного гена. Впервые гетерогенность наследственных болезней была выявлена С.Н. Давиденковым в 1934 г.

Генные болезни - это большая группа заболеваний, возникающих в результате повреждения ДНК на уровне гена.

Общая частота генных болезней в популяции составляет 1-2%. Условно частоту генных болезней считают высокой, если она встре-

чается с частотой 1 случай на 10.000 новорожденных, средней - 1 на 10.000-40.000 и далее - низкой.

К генным болезням у человека относятся многочисленные болезни обмена веществ. Они могут быть связаны с нарушением обмена углеводов, липидов, стероидов, пуринов и пиримидинов, билирубина, металлов и др. Пока еще нет единой классификации наследственных болезней обмена веществ. Научной группой ВОЗ предложена следующая классификация:

- 1) болезни аминокислотного обмена (фенилкетонурия, алкаптонурия и др.);
- 2) наследственные нарушения обмена углеводов (галактоземия, гликогеновая болезнь и др.);
- 3) болезни, связанные с нарушением липидного обмена (болезнь Ниманна-Пика, болезнь Гоше и др.);
- 4) наследственные нарушения обмена стероидов;
- 5) наследственные болезни пуринового и пиримидинового обмена (подагра, синдром Леша-Найяна и др.);
- 6) болезни нарушения обмена соединительной ткани (болезнь Марфана, мукополисахаридозы и др.);
- 7) наследственные нарушения гема-и порфирина (гемоглобинопатии и др.);
- 8) болезни, связанные с нарушением обмена в эритроцитах (гемолитические анемии и др.);
- 9) наследственные нарушения обмена билирубина;
- 10) наследственные болезни обмена металлов (болезнь Коновалова-Вильсона и др.);
- 11) наследственные синдромы нарушения всасывания в пищеварительном тракте (муковисцидоз, непереносимость лактозы и др.).

Рассмотрим наиболее часто встречающиеся и генетически наиболее изученные в настоящее время генные болезни.

3. Болезни аминокислотного обмена

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. Болезни сопровождаются рвотой и обезвоживанием организма, летаргическим состоянием или возбуждением и судорогами. В позднем возрасте проявляется угасание умственного и физического развития.

К наследственным болезням с нарушенным аминокислотным обменом относится алкаптонурия, фенилкетонурия, альбинизм и др.

Первым, кто выдвинул предположение о существовании непосредственной связи между генами и ферментами, был английский врач Арчибальд Гэррод. В 1902 году он впервые четко описал эту взаимосвязь в случае **алкаптонурии** - заболевания, которое наследуется в соответствии с законами Менделя.

В моче больных алкаптонурией, страдающих от артрита, содержатся вещества, чернеющие при стоянии на воздухе. Гэррод предположил, что алкаптонурия связана с блокированием некоего метаболического процесса. Ему удалось обнаружить, что у больных алкаптонурией с мочой выделяются большие количества (несколько граммов ежедневно) гомогентизиновой кислоты, и таким образом установить природу блокируемого процесса. Гэррод предположил, что больные алкаптонурией лишены фермента, в норме метаболизирующего гомогентизиновую кислоту. Таким образом, он впервые отметил связь между геном и ферментом (рисунок 4.1).

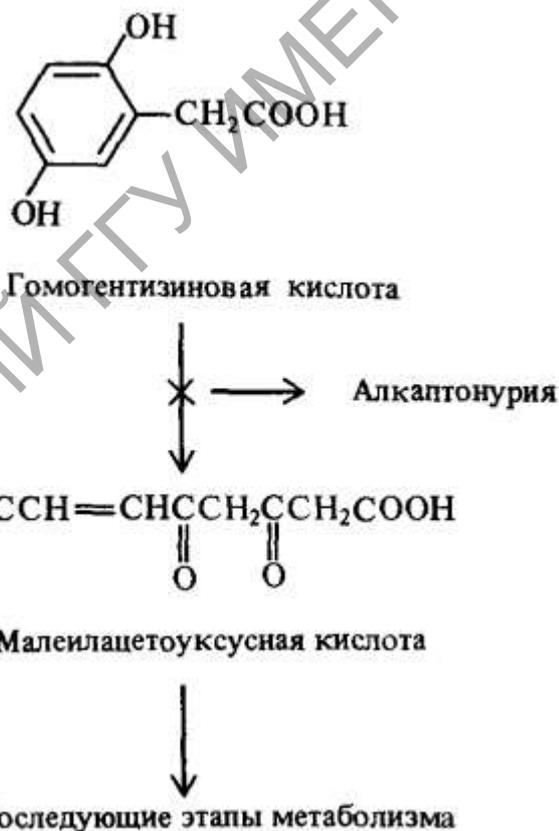


Рисунок 4.1 – Метаболизм гомогентизиновой кислоты

Гэррод предложил аналогичную интерпретацию еще для трех аномалий, включая и альбинизм, который, по его мнению, вызывается

блокированием метаболического пути, ведущего от тирозина к меланину.

Гэррод назвал эти наследственные биохимические аномалии врожденными ошибками метаболизма. Ему удалось сделать свои открытия благодаря осознанию того обстоятельства, что метаболический «блок» можно идентифицировать по накоплению в организме вещества, которое образуется на стадии, предшествующей этому блоку. В дальнейшем использование этого простого принципа сыграло важнейшую роль в изучении многочисленных метаболических процессов.

Алкаптонурия – наследственное заболевание, в основе которого лежит нарушение аминокислотного обмена, связанное с отсутствием в организме фермента гомогентизиназы (рисунок 4.1). Это приводит к тому, что метаболизм аминокислот заканчивается на стадии образования гомогентизиновой кислоты. Данный метаболит выводится через почки, а также накапливается в разных тканях (в склерах, сухожилиях, суставных хрящах, кожных покровах и др.). Алкаптонурия встречается редко. Она диагностируется с частотой 1 случая на 500 000 человек. Согласно медицинской статистике, заболевание чаще всего выявляется у лиц мужского пола, проживающих в США, Доминиканской республике, Словакии, Чехии, Германии и Индии.

Алкаптонурия – это энзимопатия, обусловленная генетическими (наследственными) причинами. Она наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Это означает, что для возникновения заболевания ребенок должен получить мутантный ген и от отца, и от матери. Если он получит патологический ген от одного из родителей, то заболевание не разовьется и обмен аминокислот будет соответствовать норме, однако ребенок будет носителем измененного гена и в дальнейшем может передать его потомству. Мутация, приводящая к развитию алкаптонурии, затрагивает находящийся на длинном плече третьей хромосомы ген (3q 21-23), ответственный за синтез оксидазы гомогентизиновой кислоты (гомогентизиназы). Названный фермент необходим для правильного метаболизма фенилаланина и тирозина. В норме при расщеплении данных аминокислот образуется промежуточное вещество – гомогентизиновая кислота, – которое затем под влиянием гомогентизиназы превращается в малеилацетоуксусную кислоту, распадающуюся на фумаровую и ацетоуксусную кислоты. Эти две кислоты в дальнейшем используются в различных биохимических циклах.

Фенилкетонурия (ФКУ) впервые была описана А. Фелингом в 1934 г. У больных нарушено превращение аминокислоты фенилала-

нина в тирозин из-за резкого снижения активности фермента фенилаланингидроксилазы (рисунок 4.2). В результате содержание фенилаланина в крови и моче больных значительно возрастает. Далее фенилаланин превращается в фенилпировиноградную кислоту, которая является нейротропным ядом и нарушает формирование миелиновой оболочки вокруг аксонов центральной нервной системы.

Фенилкетонурия встречается в среднем в мировом масштабе с частотой 1 на 1000 новорожденных. Однако по этому показателю имеются значительные различия между популяциями: 1:2600 в Турции, 1:4500 в Ирландии, 1:30000 в Швеции, 1:119000 в Японии. Частота гетерозиготного носительства в большинстве европейских популяций составляет 1:100.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРНИЦЫ

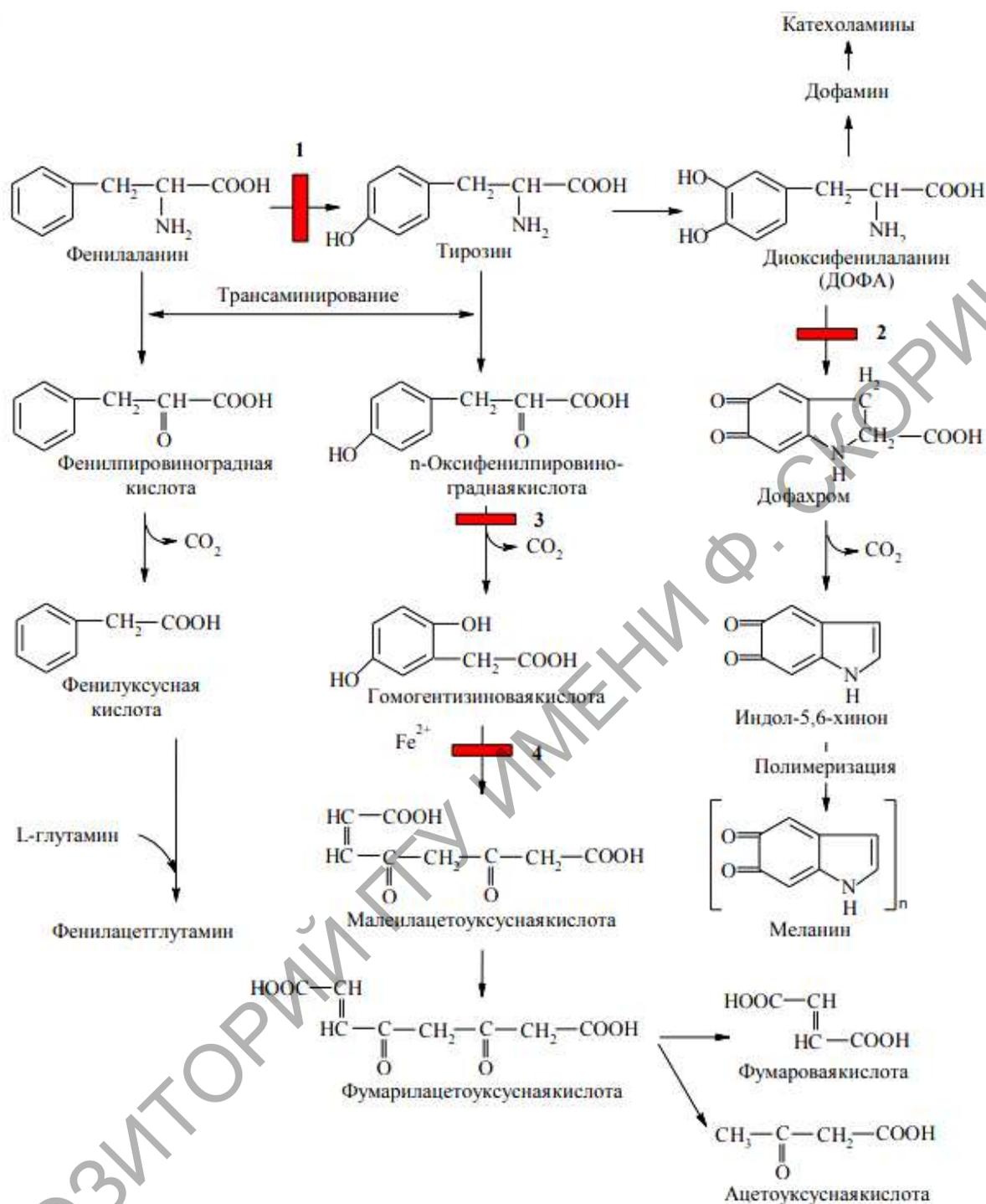


Рисунок 4.2 – Основные метаболические превращения фенилаланина и тирозина. Цифры – участки блокирования реакций при фенилкетонурии (1), тирозинозе (2), альбинизме (3) и алкаптонурии (4).

Локус (фенилгидроксилазы) расположен в длинном плече 12-й хромосомы. В настоящее время для большинства семей возможна молекулярно-генетическая диагностика и выявление гетерозиготного носительства. Болезнь наследуется по аутосомно-доминантному типу. Известно несколько форм фенилкетонурии, которые различаются по

тяжести протекания болезни. Это связано с наличием 4-х аллелей гена и их комбинациями.

Ребенок с фенилкетонурией рождается здоровым, но в первые же недели в связи с поступлением фенилаланина в организм с молоком матери развивается повышенная возбудимость, судорожный синдром, склонность к дерматитам, моча и пот больных имеют характерный "мышинный" запах, но главными симптомами ФКУ являются судорожные припадки и олигофрения.

Большинство больных - блондины со светлой кожей и голубыми глазами, что определяется недостаточным синтезом пигмента меланина. Диагноз заболевания выявляют на основании клинических данных и результатов биохимического анализа мочи (на фенилпировиноградную кислоту) и крови (на фенилаланин). С этой целью несколько капель крови на фильтровальной бумаге подвергают хроматографии и определяют содержание фенилаланина. Иногда используют пробу Феллинга - в 2,5 мл свежей мочи ребенка добавляют 10 капель 5% раствора треххлористого железа и уксусной кислоты. Появление сине-зеленого окрашивания указывает на наличие заболевания.

Метод лечения фенилкетонурии в настоящее время хорошо разработан. Он состоит в назначении больному диеты (овощи, фрукты, варенье, мед) и специально обработанных гидролизатов белков с низким содержанием фенилаланина (лофелак, кетонил, минафен и др). В настоящее время разработаны методы дородовой диагностики. Ранняя диагностика и профилактическое лечение предупреждают развитие болезни.

Альбинизм (глазо-кожный) описан в 1959 г. Болезнь обусловлена отсутствием синтеза фермента тирозиназы. Для нее характерна обесцвеченность кожи, волос, глаз, независимо от расы и возраста (рисунок 4.3). Кожа больных розово-красная; совершенно не загорает. Имеет предрасположенность к злокачественным новообразованиям. Волосы белые или желтоватые. Радужка серо-голубого цвета, но может быть и розоватая из-за отражения света от глазного дна. Больным свойственна сильная светобоязнь, их зрение снижено и не улучшается с возрастом.



Рисунок 4.3 – Альбинизм

Альбинизм встречается с частотой 1 на 39.000, наследуется по аутосомно-рецессивному типу (рисунок 4.3). Ген локализован на длинном плече 11-й хромосомы.

Литература:

1. Шевченко, В.А. Генетика человека / В.А. Шевченко, Н.А. Топорнина, Н.С. Стволинская. – М.: Владос, 2004. – 240 с.
2. Айала, Ф. Современная генетика / Ф. Айала, Дж. Кайгер. – Т. 2. . – М.: Мир, 1988. – 368 с.
3. Источник: <http://www.neboleem.net/alkaptonurija.php>

ЛЕКЦИЯ 5. СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ХРОМОСОМ ЧЕЛОВЕКА. КАРИОТИП

1. История развития цитогенетики человека
2. Нормальный кариотип человека
3. Структурная организация хромосом

1. История развития цитогенетики человека

Впервые митотические хромосомы человека были описаны в работах Дж. Арнольда (1879) и В. Флемминга (1882). В последующие годы различные оценки их количества давали результаты от 47 до 49 хромосом, причем у мужчин и женщин находили разное их число. Эти первые исследования проводились на гистологических срезах тестикул или яичников. В то время техника получения срезов была такова, что митозы в готовых препаратах были, как правило, разрушены. Хромосомы на них накладывались одна на другую, образовывали клубки и плохо поддавались анализу. Эти трудности удалось преодолеть только к 50-м гг. XX в., когда для получения препаратов хромосом стали использовать суспензии клеток, выращенных в клеточных культурах. Так, первые препараты хромосом человека с хорошим разрешением были получены на клетках фибробластов эмбриона легкого, выращенных *in vitro*. Суспензии клеток промывали гипотоническим раствором, в результате чего клетки набухали и лопались, а хромосомы свободно распределялись на стекле. Позже этот способ был усовершенствован. Перед гипотоническим шоком на клетки воздействовали колхицином - веществом, которое, разрушая нити веретена деления, останавливает митоз на стадии метафазы, когда хромосомы наиболее легко идентифицировать. Это позволило получить большое число клеток в метафазе митоза, и препараты, приготовленные таким образом были более удобны для подсчета хромосом. Пользуясь подобным методическим подходом, в 1955 году А. Леван и Дж. Тио, изучив 261 метафазную пластинку, пришли к выводу, что количество хромосом в клетках человека равно 46, причем как в мужских, так и в женских клетках. Годом позже и другие исследователи на препаратах тестикул трех пожилых мужчин на стадии метафазы мейоза I нашли 23 бивалента, что соответствует 46 хромосомам в диплоидном наборе. Эти результаты ознаменовали возникновение новой отрасли исследований - клинической цитогенетики. В настоящее время цитогенетика человека достигла высокого уровня и находится на переднем крае фундаментальной цитогенетики.

2. Нормальный кариотип человека

Препараты хромосом человека можно приготовить из любых тканей и клеточных суспензий, но лишь, если в них содержатся делящиеся клетки, т. к. вне деления (во время интерфазы) хромосомы депирализируются и переходят в состояние хроматина. Чаще всего препараты готовят из клеток костного мозга, кратковременной культуры клеток крови или из перевиваемой культуры фибробластов. Наиболее прост и доступен метод культивирования клеток крови лейкоцитов и лимфоцитов. Митозы в таких культурах стимулируют искусственно. Чтобы остановить жизненный цикл клеток в прометафазе, в них подавляют образование веретена деления, обрабатывая веществами с колхициноподобными свойствами. Для свободного распределения хромосом на стекле клетки обрабатывают гипотоническим раствором, вызывая гипотонический шок. Затем препарат фиксируют смесью этанола и уксусной кислоты, высушивают и окрашивают. Когда с помощью стандартных методов хромосомы окрашиваются целиком, равномерно и интенсивно, их систематизируют согласно Денверской классификации, принятой в 1960 г., нумеруя пары хромосом от 1 до 23.

В кариотипе человека различают метацентрические, субметацентрические и акроцентрические хромосомы. Учитывая относительную длину плечей, положение центромеры и центромерный индекс, который отражает процентное соотношение длин короткого плеча и всей хромосомы, 23 пары хромосом человека разбивают на 7 групп (рис. 3.13). В группу А (№№ 1-3) входят пары наиболее крупных метацентрических аутосом. Группа В (№№ 4-5) объединяет две пары субметацентрических хромосом, неразличимых между собой. Группа С (№№ 6-12) содержит семь пар аутосом среднего размера. Размеры и форма этих хромосом неодинаковы, однако стандартные методы окрашивания не позволяют их идентифицировать. В группу D (№№ 13-15) объединены три пары акроцентрических хромосом среднего размера, морфологически сходных между собой. Все хромосомы группы D содержат спутник, который не всегда выявляется, может быть очень большим, а иногда и двойным. Длина короткого плеча этих хромосом также изменчива. К группе E (№№ 16-18) относятся три пары почти метацентрических хромосом, из которых в 16-й паре центромера наиболее близка к середине, а две другие пары неотличимы друг от друга. Группа F содержит мелкие метацентрические аутосомы (№№ 19-20), группа G - мелкие акроцентрические (№№ 21-22). Внутри групп F и G пары хромосом неразличимы. Длина коротких

плечей у них изменчива, как и у хромосом группы D. Короткие плечи хромосом групп D и G содержат районы ядрышкового организатора. Перечисленные 22 пары хромосом относятся к аутосомам, одинаковым у мужчин и женщин.

Половые хромосомы составляют 23-ю пару. У женщин - это две X-хромосомы. У мужчин - X- и Y-хромосомы. Половая X-хромосома неотличима от аутосом группы C. При стандартном окрашивании она включается в состав этой группы: №№ 6-12 и X. Мужская половая Y-хромосома является акроцентрической, сходна по морфологии с хромосомами группы G, но ее легко отличить по морфологическим критериям. Длина короткого плеча Y-хромосомы изменчива и индивидуальна, причем варианты длины плеча наследуются от отца к сыну. Y-хромосома, в отличие от хромосом последней группы, не имеет спутников. В интерфазных ядрах концевой участок длинного плеча Y-хромосомы можно выявить в составе хроматина, пользуясь специфическим окрашиванием акрихин-ипритом : в результате этот участок выявляется как яркое пятно диаметром 0,3-1,0 мкм,

Во многих хромосомах человека обнаружены ломкие (фрагильные) участки, подверженные хромосомным и хроматидным разрывам. Такие разрывы легко получить в клеточных культурах, удаляя фолиевую кислоту из питательной среды культивируемых клеток. В настоящее время показано, что одна из форм умственной отсталости человека связана с наличием определенного фрагильного участка в концевом районе длинного плеча X-хромосомы.

Длина одной и той же хромосомы в разных фазах митоза различна, поскольку конденсация хромосом продолжается до конца метафазы. Кроме того их конденсация значительно усиливается в присутствии применяемого для приготовления препаратов колхицина.

Анализ препаратов хромосом человека показал, что в ряде случаев, как уже говорилось выше, на некоторых хромосомах могут существовать вторичные перетяжки. Спутничными перетяжками обладают все акроцентрические хромосомы (пары №№ 13, 14, 15, 21, 22). Вторичная перетяжка бывает также в аутосомах пары № 9. В них она располагается в околоцентромерном районе длинного плеча.

3. Структурная организация хромосом

Хромосома – дискретная динамическая внутриядерная структура клетки, состоящая из одной (до завершения S-фазы клеточного цикла) или двух (после завершения S-фазы клеточного цикла и до анафазы митоза или анафазы II мейоза) идентичных линейных двуце-

почечных молекул ДНК и хромосомальных белков (белков хроматина) и имеющая в зависимости от фазы клеточного цикла разную степень компактизации. Заметим, что это определение не является универсальным и имеет некоторые недостатки. Так, строго говоря, во время митоза или мейоза, когда происходит разрушение ядерной оболочки и содержимое ядра смешивается с содержимым цитоплазмы, хромосому нельзя считать внутриядерной структурой. Кроме того, это определение не позволяет провести грань между понятиями хромосома и хроматида, хотя таковая и существует. Под хроматидами правильнее понимать две идентичные копии хромосомы, связанные между собой в области центромеры (т. е. понятие хроматида применимо к хромосоме в период ее существования от момента репликации до начала анафазы митоза или анафазы II мейоза).

Совокупность числа, величины и морфологии хромосом называется кариотипом данного вида. Рисунки же хромосом, расположенных в ряд в порядке убывания размера называют кариограммой. Как правило, изучение кариотипа данного вида (в том числе и человека) и составление его кариограммы проводится на прометафазных или метафазных клетках, когда хромосомы имеют максимальную компактизацию.

В обычный световой микроскоп при использовании стандартных методов окрашивания метафазные хромосомы видны как палочковидные структуры разной длины с довольно постоянной толщиной (рисунок 5.1). Толщина хромосомы нарушается только в одном месте – в области первичной перетяжки, или центромеры, – где она минимальна.

Первичная перетяжка делит хромосому на два плеча, длина которых может быть различной. В том случае, когда длина двух плеч хромосомы одинакова, такую хромосому называют метацентрической. Если одно плечо хромосомы короче, чем другое, то такую хромосому называют субметацентрической. Палочковидную хромосому с очень коротким, почти незаметным вторым плечом называют акроцентрической. У человека известно 23 пары хромосом. Согласно Денверской классификации 1960 года все эти хромосомы располагаются и нумеруются в зависимости от их длины от 1 до 23. Однако в том же 1960 году Патау К. показал, что при использовании простых методов окрашивания в некоторых случаях хромосомы нельзя однозначно идентифицировать. Для решения этой проблемы он предложил идентифицировать пары хромосом на основании их относительной длины и положения центромеры. Кроме того, Па-

тау К. предложил разбить все 23 пары хромосом человека на восемь групп – от А до Г. Тем не менее, даже если использовать предложенные Патау К. подходы, а так же такой параметр хромосом, как центромерный индекс (отношение (в %) длины короткого плеча к длине всей хромосомы), то из всех хромосом человека можно идентифицировать только три пары метацентрических хромосом группы А, хромосому 16 из группы Е, а так же Y-хромосому (на препаратах высокого качества удается еще идентифицировать и хромосомы 17 и 18). Все же остальные хромосомы групп В, С (включая X-хромосому), D, F и G идентифицируются только с помощью дифференциального окрашивания.

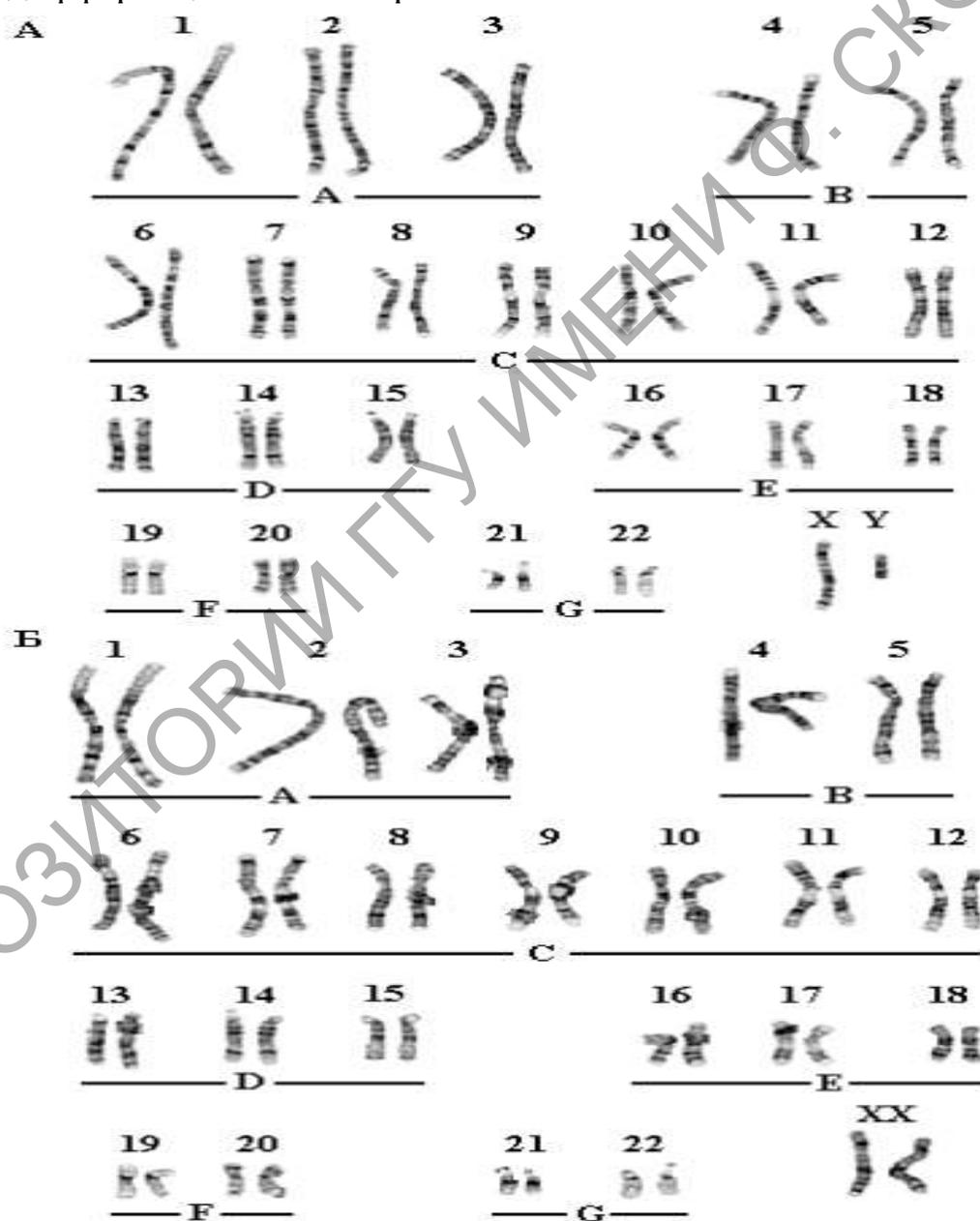


Рисунок 5.1 – Нормальный кариотип человека. Дифференциальное окрашивание (G-метод). А) Кариотип мужчины. Б) Кариотип женщины.

Номенклатура.

В соответствии с Парижской номенклатурой, принятой в 1971 году в Париже, короткое плечо хромосомы обозначается латинской буквой *p* (маленький, от фр. *petit*), а длинное – *q* (коса, от англ. *queue*). Каждое плечо хромосомы делят на несколько регионов, обозначаемых как *p1*, *p2*, *p3*, *q1*, *q2*, *q3* и т. д., причем их нумерацию ведут от центромеры. Каждый регион состоит из последовательных морфологически различимых элементов хромосомы (например, несколько сегментов и теломер). В зависимости от разрешающей способности микроскопа в каждом регионе можно идентифицировать сегменты (обозначаются как *p11*, *p12*, *p13* и т.д.), субсегменты (записываются *p11.1*, *p12.1*, *p13.2* и т. д.) и субсубсегменты (обозначаются как *p11.11*, *p12.12*, *p13.23* и т. д.).

Так же как и в случае с регионами нумерацию сегментов, субсегментов и субсубсегментов ведут от центромеры. Центромера по Парижской номенклатуре обозначается "*cen*", а теломер - "*ter*".

Индивидуальные характеристики хромосом человека.

Нормальный кариотип человека (мужчины и женщины) представлен на рис. 19. Хромосомы, изображенные на этом рисунке, окрашены G-методом. Обобщенная схема (кариограмма) G-сегментации хромосом человека представлена на рис. 20. Соотношение реальной G- и R-сегментации со схематическим изображением G- и R-сегментов показано на рис. 21 (на примере хромосомы 1).

Группа А (1-3). Большие, метацентрические и субметацентрические хромосомы. Хромосома 1 – самая большая метацентрическая хромосома. Центромера расположена посередине, центромерный индекс равен 48-49. В проксимальной части длинного плеча вблизи центромеры часто обнаруживается вторичная перетяжка, что в ряде случаев приводит к удлинению *q*-плеча. Растянутый сегмент по сравнению с остальной частью хромосомы может выглядеть очень тонким, а по сравнению со сверхспирализованными метафазными – недоспирализованным (*uncoiler*). Признак недоспирализации, как и другие индивидуальные особенности хромосомной морфологии, обнаруживается во всех соматических и в половине половых клеток, т. е. наследуется как простой доминантный признак. Локус *uncoiler-1*, определяющий этот признак, был использован для картирования локуса Даффи на хромосоме 1. При окрашивании Q-методом вторичная перетяжка флуоресцирует слабо, при использовании G-метода она выглядит как плотный сегмент.

Самой большой субметацентрической хромосомой является

хромосома 2 (центромерный индекс 38-40). Радиоавтографическое исследование показало, что хромосома 2, особенно проксимальные районы обоих плеч, реплицируется относительно поздно. Хромосома 3 с центромерным индексом 45-46 почти на 20% короче хромосомы 1 и, следовательно, легко идентифицируется. При окрашивании Q-методом в проксимальном районе ее длинного плеча часто выявляется ярко флуоресцирующий сегмент. Интенсивность флуоресценции значительно варьирует у разных индивидов, но постоянна во всех клетках для одного и того же хромосомного варианта.

Группа В (4 и 5). Большие субметацентрические хромосомы (центромерный индекс 24-30) не различаются между собой без радиоавтографии или дифференциального окрашивания. Согласно данным радиоавтографических исследований, хромосома 4 является поздно реплицирующейся по всей своей длине, в то время как в хромосоме 5 поздно реплицируется только короткое плечо. Рисунки распределения R-и G-сегментов у этих хромосом совершенно различны.

Группа С (6-12). Хромосомы среднего размера, субметацентрические. При стандартном окрашивании X-хромосомы нельзя отличить от других хромосом этой группы. Хромосомы 6, 7, 8, 11 и 12 являются относительно субметацентрическими, их центромерный индекс 27-35. В хромосоме 9 часто обнаруживают вторичную перетяжку в проксимальной части длинного плеча. Все эти хромосомы легко идентифицируются с помощью Q- и G-окрашивания. Вторичная перетяжка хромосомы 9 не окрашивается ни акрихином, ни красителем Гимза. Хромосомы 11 и 12 обнаруживают очень сходный рисунок сегментации, что наводит на мысль об их общем происхождении и эволюции (они содержат локусы лактат-дегидрогеназы А и В, соответственно, общее происхождение которых предполагается на основании биохимических данных). Однако хромосома 11 заметно более метацентрическая, чем хромосома 12.

X-хромосома. В противоположность другим хромосомам группы С X-хромосома значительно варьирует по длине. В целом она сходна с самыми длинными из С хромосом. Центромерный индекс высокий, но довольно переменный. В клетках женщин одна из двух X-хромосом реплицируется в поздней S-фазе, когда репликация других С-хромосом (за исключением ряда коротких сегментов) уже завершена. Важно, что поздним является не только завершение, но также и начало репликации ДНК.

Группа D (13-15). Эти хромосомы акроцентрические по форме, сильно отличаются от всех других хромосом человека. Центромерный

индекс около 15 – наименьший в кариотипе человека. Все три пары содержат спутник. Короткое плечо этих хромосом обнаруживает сильную межхромосомную вариабельность. Длина проксимальных участков коротких плеч варьирует, спутники могут отсутствовать, а могут быть очень большими, могут ярко флуоресцировать, а могут и не давать флуоресценции. В некоторых случаях наблюдаются двойные (тандемные) спутники. Длинные плечи трех хромосом четко различаются по Q- и G-сегментам. Для выявления вариантов в группе D-G сравнивают длины короткого плеча этих хромосом с длиной короткого плеча хромосомы 18 в той же клетке. Плечо считают длинным, если оно такой же длины, как короткое плечо хромосомы 18, и очень длинным, если оно длиннее короткого плеча этой хромосомы. Большие спутники обозначают (ps+), двойные спутники (pss), укороченное p-плечо со спутниками или без них (ph-). Частота гетероморфизма гомологов в этой группе составляет 3,7% (8 из 216) в препаратах после дифференциального окрашивания и 2,3% (411 из 24400) в стандартных препаратах.

Группа E (16-18). Относительно короткие метацентрические или субметацентрические хромосомы. Хромосома 16 имеет центромерный индекс около 40. В среднем ее длина составляет чуть более одной трети длины хромосомы 1, но обнаруживает значительную изменчивость. В длинном плече примерно в 10% случаев выявляется вторичная перетяжка. Длина проксимального G-сегмента варьирует в зависимости от выраженности этой перетяжки. Хромосома 18 примерно на 5-10% короче хромосомы 17 и имеет более короткое длинное плечо (у хромосомы 17 центромерный индекс составляет 31 по сравнению с 26 у хромосомы 18). Хромосома 17 реплицируется рано, хромосома 18 - поздно.

Группа F (19-20). Эти две хромосомы имеют центромерный индекс в пределах 36-46. В стандартных препаратах они выглядят одинаково, но при дифференциальном окрашивании резко различаются.

Группа G (21 и 22). У этих маленьких акроцентрических хромосом центромерный индекс варьирует в пределах 13-33. Они легко различаются по рисунку сегментации. Изменчивость их коротких плеч так же значительна, как и в хромосомах группы D. Здесь классифицируют такие же варианты, как и в группе D. Флуоресценция спутников и коротких плеч может быть слабой, умеренной и сильной, так же как и интенсивность окрашивания при использовании G-метода. В выборке из 2444 новорожденных 3,5% обнаруживают удлинённые короткие плечи. Другие варианты, такие, как гигантские спутники,

удлиненные или укороченные короткие плечи, встречаются намного реже. По данным некоторых исследователей, общая частота вариантов хромосом группы G составляет 1,8% по препаратам с дифференциальным окрашиванием и 1,6% в стандартных препаратах. Короткие плечи хромосом группы D и G содержат ядрышковый организатор и специфично окрашиваются методом серебрения.

Общая характеристика хромосом человека.

Хромосома	Относительная длина	Центромерный индекс	Количество ДНК (Мб)
1	8,44 ± 0,433	48,36 ± 1,166	250
2	8,02 ± 0,397	39,23 ± 1,824	240
3	6,83 ± 0,315	46,95 ± 1,557	190
4	6,30 ± 0,284	29,07 ± 1,867	180
5	6,08 ± 0,305	29,25 ± 1,739	175
6	5,90 ± 0,264	39,05 ± 1,665	165
7	5,36 ± 0,271	39,05 ± 1,771	155
8	4,93 ± 0,261	34,08 ± 1,975	135
9	4,80 ± 0,244	35,43 ± 2,559	130
10	4,59 ± 0,221	33,95 ± 2,243	130
11	4,61 ± 0,227	40,14 ± 2,328	130
12	4,66 ± 0,212	30,16 ± 2,339	120
13	3,74 ± 0,236	17,08 ± 3,227	110
14	3,56 ± 0,229	18,74 ± 3,596	105
15	3,46 ± 0,214	20,30 ± 3,702	100
16	3,36 ± 0,183	41,33 ± 2,740	85
17	3,25 ± 0,189	33,86 ± 2,771	80
18	2,93 ± 0,164	30,93 ± 3,044	75
19	2,67 ± 0,174	46,54 ± 2,299	70
20	2,56 ± 0,165	45,45 ± 2,526	65
21	1,90 ± 0,170	30,89 ± 5,002	55
22	2,04 ± 0,182	30,48 ± 4,932	60
X	5,12 ± 0,261	40,12 ± 2,117	140
Y	2,15 ± 0,137	27,17 ± 3,182	60

Y-хромосома. Y-хромосома обычно (но не всегда) больше, чем хромосомы группы G, и хроматиды ее длинного плеча, как правило, лежат параллельно одна другой. Этим она отличается от хромосом группы G, у которых хроматиды длинных плеч часто образуют широкий угол. Центромера видна менее четко, спутники отсутствуют, размер длинного плеча сильно варьирует, и некоторые варианты его длины наследуются. Центромерный индекс варьирует от 0 до 26 (в среднем ~16). При окрашивании акрихином обнаруживается довольно изменчивый ярко флуоресцирующий дистальный участок длинного плеча. Во многих случаях находят два сильно флуоресцирующих

сегмента, реже – три. В популяционных исследованиях частота выраженных вариантов размеров длинного плеча Y-хромосомы составляет 5,6% (в выборке из 2444 новорожденных). В большинстве случаев Y-хромосома была удлинённой; у 5% новорожденных она оказалась длиннее F-хромосомы, у 0,33% – длиннее хромосомы 18; однако в 0,25% образцов была обнаружена очень маленькая Y-хромосома.

Обобщённая характеристика хромосом человека представлена в таблице. В этой таблице приведены данные по относительной длине (в процентах от длины гаплоидного набора аутосом) индивидуальных хромосом человека, их центромерному индексу и количеству ДНК.

Литература:

1. Шевченко, В.А. Генетика человека / В.А. Шевченко, Н.А. Топорнина, Н.С. Стволинская. – М.: Владос, 2004. – 240 с.
2. Айала, Ф. Современная генетика / Ф. Айала, Дж. Кайгер. – Т. 2. – М.: Мир, 1988. – 368 с.
3. Гринев, В.В. Генетика человека: курс лекций / В. В. Гринев. – Мн. : БГУ, 2006. – 131 с.

ЛЕКЦИЯ 6. ХРОМОСОМНЫЕ БОЛЕЗНИ ЧЕЛОВЕКА

1. Гаметогенез
2. Оплодотворение
3. Хромосомные заболевания

1. Гаметогенез

Гаметогенез – это процесс образования гамет, мужских и женских половых клеток.

Яйцеклетки образуются в женских гонадах (яичниках) и имеют относительно крупные размеры (от 60 мкм до нескольких сантиметров в диаметре), шарообразную или слегка вытянутую форму, они неподвижны. Состав и структура цитоплазмы яйцеклеток являются видоспецифичными. Они содержат полный набор органоидов, индукторов и запас питательных веществ (желток). Яйцеклетки покрыты оболочкой, а у млекопитающих – и клетками фолликулярного эпителия (рис. 6.1).

Сперматозоиды образуются в мужских гонадах (семенниках). имеют малые размеры (40–500 мкм длиной) и в типичном случае состоят из головки, шейки и хвоста. Они подвижны. На переднем конце головки расположена акросома (видоизмененный комплекс Гольджи), способствующая проникновению сперматозоида в яйцеклетку. Ядро занимает всю головку и окружено тонким слоем цитоплазмы. В шейке находятся центр ноль и спиральная нить митохондрий, которые поставляют энергию для движения хвоста.

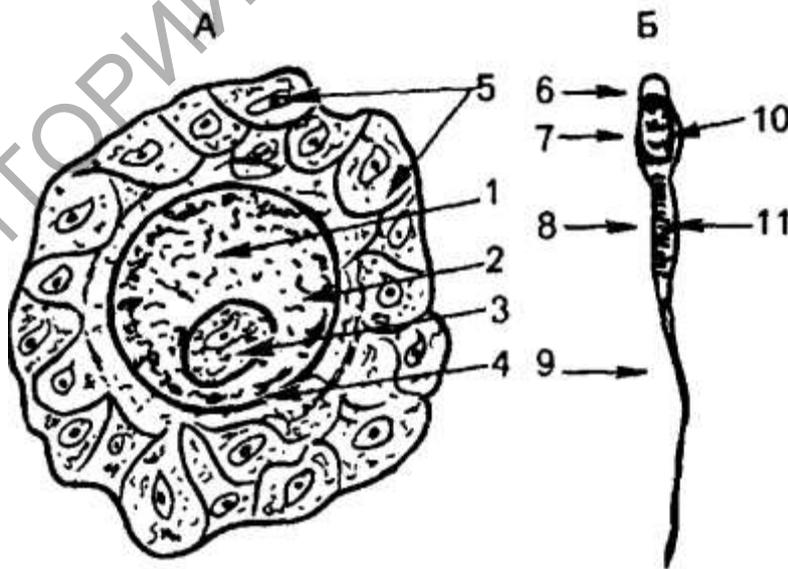


Рисунок 6.1 – Схема строения яйцеклетки (А) и сперматозоида (Б):
1 - цитоплазма, 2 - кортикальный слой цитоплазмы, 3 - ядро, 4 - мембрана, фолликулярные клетки; Б: 6 - акросома, 7 - головка, 8 - шейка, 9 - хвост, 10 - ядро, 11 - митохондрии

Сперматогенез (образование сперматозоидов) протекает в семенных канальцах и несколько отличается от овогенеза (образования яйцеклеток). Наружный слой семенных канальцев представлен диплоидными сперматогониями, которые начинают интенсивно делиться митотически с наступлением полового созревания организма. Эта зона семенника называется зоной размножения. Часть сперматогоний вступает в следующую зону – зону роста. Здесь они превращаются в сперматоциты I порядка. Далее эти клетки вступают в зону созревания (ближе к центру канальца), где происходит мейоз. В результате его первого деления образуются два сперматоцита II порядка, а в результате второго – 4 сперматиды. Сперматиды переходят в зону формирования, где из них образуются сперматозоиды (рис. 6.2).

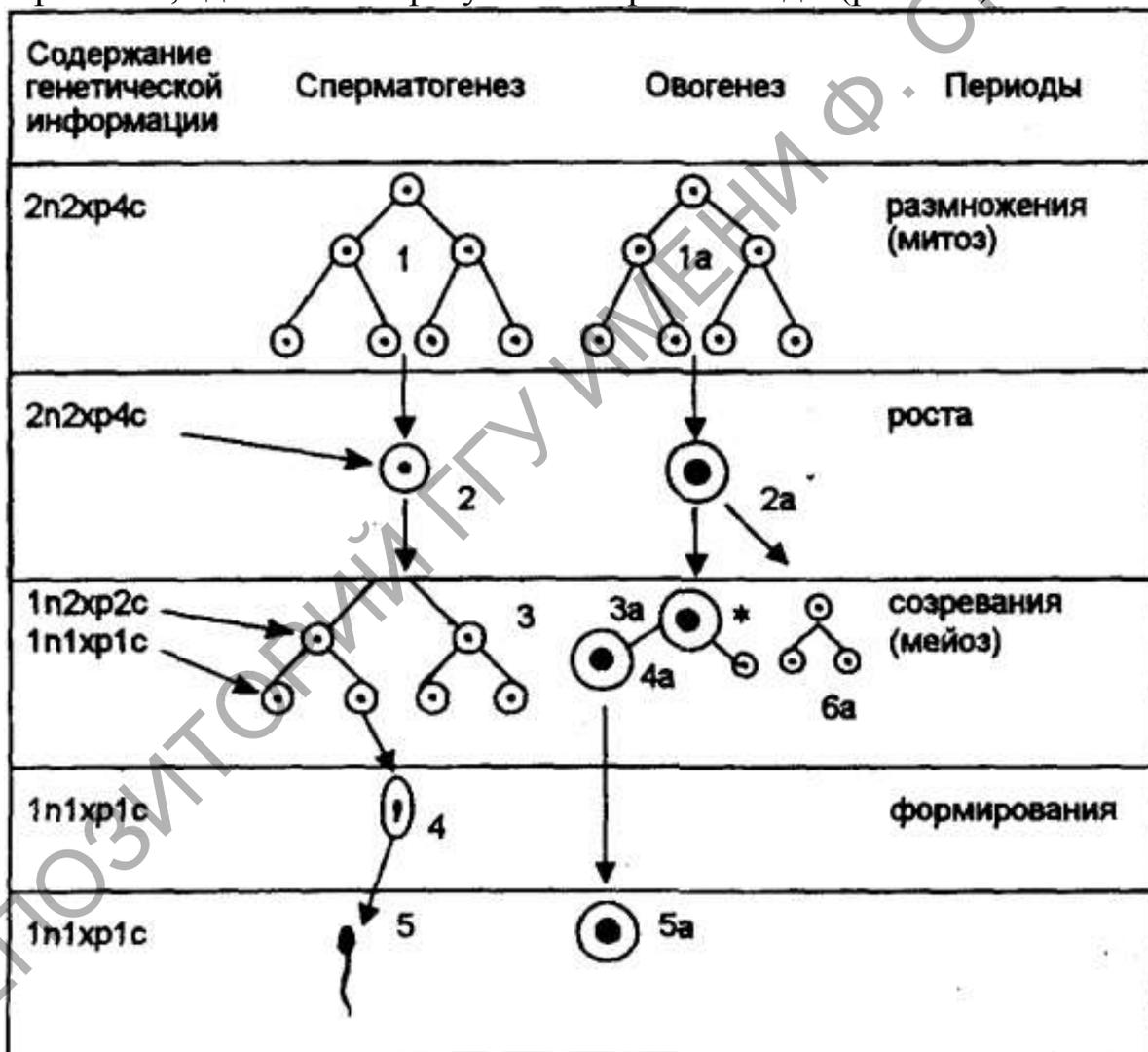


Рисунок 6.2 – Схема гаметогенеза:

1 - сперматогонии, 2 - сперматоцит первого порядка, 3 - сперматоцит второго порядка, 4 - сперматиды, 5 - сперматозоид; 1а - овогонии, 2а - овоцит первого порядка, 3а - овоцит второго порядка, 4а - овоциды, 5а - яйцеклетка, 6а - редукционные тельца

* Оплодотворение происходит, как правило, после первого деления мейоза.

Овогенез протекает в яичниках. Первичные клетки – диплоидные овогонии проходят период размножения и роста до рождения организма. Мейоз начинается на 2–4-м месяце эмбриогенеза. К моменту рождения мейоз останавливается на длительное время в стадии диакинеза (профаза мейоза-1). В период полового созревания в первой половине каждого лунного месяца лютеинизирующий гормон стимулирует мейоз. Он идет до метафазы мейоза- II и опять останавливается. Второе мейотическое деление завершается только после оплодотворения. В результате мейоза-1 из овоцитов / порядка образуются овоциты II порядка, а после мейоза-II – овоциты, превращающиеся в яйцеклетки. При делении овоцита I порядка образуется один овоцит II порядка, содержащий основное кол имеет- но цитоплазмы и одно маленькое редукционное тельце, которое в дальнейшем может разделиться еще раз. При делении овоцита II порядка также образуется редукционное тельце и одна овоцита (яйцеклетка).

Таким образом, в процессе овогенеза из одной овогонии образуются одна яйцеклетка и 3 редукционных тельца, которые в дальнейшем дегенерируют. При сперматогенезе из одного сперматогония образуется 4 равноценных сперматозоида.

Особенности репродукции человека

Особенности репродукции человека обусловлены его спецификой как биологического и социального существа.

Способность к репродукции становится возможной с наступлением половой зрелости, признаками которой являются первые менструации у девочек (с 14-16 лет) и поллюции у мальчиков (с 16-18 лет). Репродуктивная способность у женщин сохраняется до 40-45 лет, у мужчин – до старости.

Продукция гамет у человека в отличие от большинства животных не связана с сезонами года. С момента полового созревания яичник женщины периодически (один раз в лунный месяц) выделяет обычно одну яйцеклетку, созревающую из овоцитов, заложенных на ранних стадиях эмбриогенеза. За весь репродуктивный период у женщины образуется около 400 яйцеклеток. Чем старше женщина, тем больший отрезок времени разделяет мейоз-1 и мейоз-2 и тем выше вероятность нарушения нормального формирования яйцеклетки. Поэтому у пожилых женщин выше вероятность рождения детей с генетическими дефектами, особенно связанными с нерасхождением хромосом. Зрелый семенник человека непрерывно в течение всей жизни вырабатывает огромное количество сперматозоидов. Постоянное образование сперматозоидов практически не изменяет межмейо-

тический отрезок времени, однако способствует накоплению генных мутаций, в результате чего возраст отцов не влияет на частоту рождения детей с хромосомными болезнями, но способствует увеличению у потомства наследственной патологии, обусловленной генными мутациями.

Как существо социальное человек может сознательно регулировать свою сексуальную жизнь и деторождение. Репродукция человека зависит также от ряда социально-экономических факторов.

2. Оплодотворение

Оплодотворение - это сложный процесс, приводящий к слиянию яйцеклетки и сперматозоида, объединению их ядер и образованию диплоидной зиготы, из которой впоследствии будет развиваться новый организм. Генетическое значение процесса оплодотворения состоит в объединении гаплоидных наборов хромосом отцовских и материнских гамет. Отличающая их высокая степень генетического разнообразия (несмотря на количественное постоянство хромосомного набора), обеспечивает генетическое разнообразие особей. В результате процесса оплодотворения восстанавливается диплоидность зиготы, что становится толчком к последующим митотическим делениям. У человека, как и у других млекопитающих, процесс оплодотворения, начинающийся с проникновения сперматозоида в ооцит второго порядка, запускает механизм созревания яйцеклетки. Как уже говорилось выше, в ооците второго порядка второе мейотическое деление останавливается на стадии метафазы, а завершение развития яйцеклетки происходит только после оплодотворения.

Оплодотворение подразделяется на три последовательных этапа: в первом сперматозоид и яйцеклетка сближаются для возникновения контакта. Второй этап начинается с прикрепления сперматозоида к поверхности яйцеклетки и осуществления контактных взаимодействий между ними. События третьего периода разворачиваются после проникновения сперматозоида в яйцеклетку и завершается объединением их ядер.

Оплодотворение происходит в верхних концах фаллопиевых труб, куда сперматозоиды проходят из влагалища всего за несколько минут. Столь высокой скорости их движения способствуют активные сокращения матки и труб, инициируемые биологически активными соединениями, выделяющимися во время полового акта. Кроме того, на направленность движения сперматозоидов сильно влияет градиент рН среды в женских половых путях.

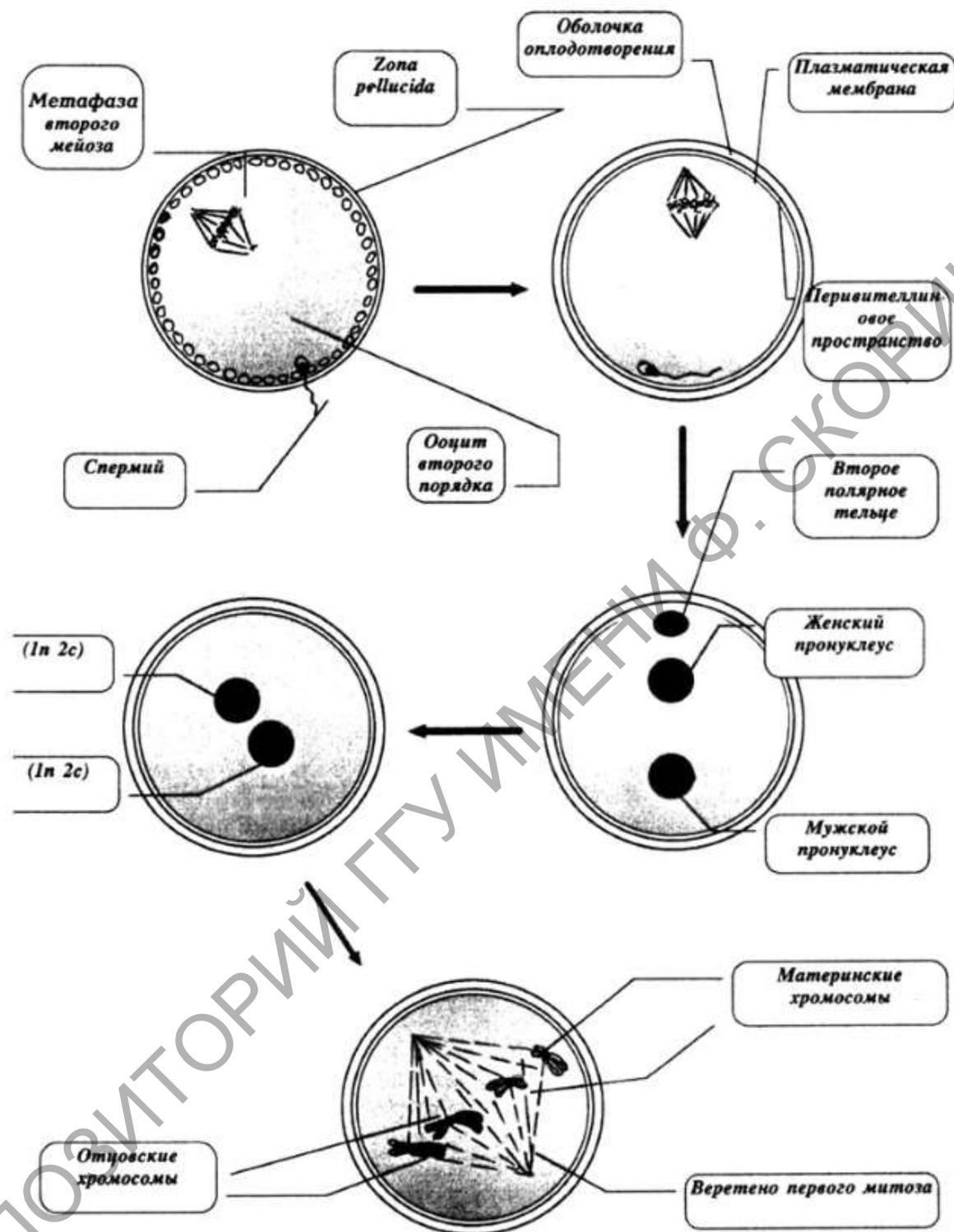


Рисунок 6.3 – Упрощенная схема оплодотворения

Жизнеспособность внутри организма сперматозоиды сохраняют в течение 1-3 суток, но период высокой фертильности длится лишь 12-24 часа. Сама способность к оплодотворению ооцита появляется только после того, как он проведет несколько часов в половых путях. За это время изменяются структура акросомы и свойства мембраны, ее ограничивающей.

Когда спермин скапливаются вокруг ооцита второго порядка, в головке одного из них происходит очень быстрая (не более 20 секунд) акросомальная реакция. Она состоит в том, что мембраны головки спермия и акросомы разрываются, так что излившиеся наружу ферменты акросомы "переваривают" клеточные слои, окружающие ооцит, включая zona pellucida. Затем внутренняя мембрана акросомы выворачивается наизнанку, и спермий проникает внутрь ооцита. У человека сперматозоид входит в ооцит целиком (рис. 6.3).

После того, как один пермий проник в яйцеклетку, под ее мембраной разрываются многочисленные вакуоли, освобождая вещество, под действием которого zona pellucida утолщается и образует поверх яйцеклетки непроницаемую для спермиев преграду - оболочку оплодотворения. Так предотвращается проникновение в ооцит других спермиев. У человека проникновение сперматозоида в ооцит является сигналом для завершения второго мейотического деления, ведущего к образованию гаплоидной яйцеклетки и сопутствующих клеток - полярных телец, впоследствии дегенерирующих. В это же время в цитоплазме ооцита рассасывается хвост сперматозоида. Следующий этап процесса оплодотворения связан с объединением генетического материала яйцеклетки и сперматозоида в одно диплоидное ядро.

Высококонденсированное ядро сперматозоида начинает набухать, его хроматин разрыхляется, и ядро превращается в структуру, называемую мужским пронуклеусом. Аналогичные изменения происходят в женском ядре, что приводит к образованию женского пронуклеуса. В процессе формирования пронуклеусов и в мужском, и в женском ядре, происходит синтез ДНК ($4n \rightarrow 2n$), в результате чего каждая хромосома удваивается и состоит из двух сестринских хроматид. После того, как репликация ДНК закончена, пронуклеусы перемещаются к центру яйцеклетки (рис. 6.6). Постепенно мембраны пронуклеусов разрушаются, а отцовские и материнские хромосомы, состоящие каждая из двух хроматид, прикрепляются к нитям сформировавшегося веретена деления. Затем хромосомы выстраиваются по экватору веретена, создавая характерную для метафазы митоза картину.

Объединение отцовских и материнских хромосом в общем митозе переводит оплодотворенную яйцеклетку в качественно новое состояние - зиготу. Зигота проходит стадии анафазы и телофазы и завершает свое первое митотическое деление. В результате образуются две дочерние диплоидные клетки - два бластомера. Генетический материал бластомеров представляет собой совокупность хромосом отца

и матери: в каждой паре гомологичных хромосом одна хромосома отцовская, а другая - материнская.

3. Хромосомные заболевания

К хромосомным относятся болезни, обусловленные геномными мутациями или структурными изменениями отдельных хромосом.

Хромосомные болезни возникают в результате мутаций в половых клетках одного из родителей. Из поколения в поколение передаются не более 3-5 % из них. Хромосомными нарушениями обусловлены примерно 50 % спонтанных аборт и 7 % всех мертворождений. По данным 1987 г. из 1000 новорожденных 7 имели различные хромосомные аномалии.

Все хромосомные болезни принято делить на две группы.

Связанные с аномалиями числа хромосом.

В эту группу входят три подгруппы:

1. Болезни, обусловленные нарушением числа аутосом.
2. Болезни, связанные с увеличением или уменьшением числа половых X- и Y-хромосом.
3. Болезни, причиной которых является полиплоидия - кратное увеличение гаплоидного набора хромосом.

Связанные со структурными нарушениями (абберациями) хромосом

Их причинами бывают:

1. Транслокации - обменные перестройки между негомологичными хромосомами.
2. Делеции - потери участка хромосомы.
3. Инверсии - повороты участка хромосомы на 180 градусов.
4. Дупликации - удвоения участка хромосомы.
5. Изохромосомия - хромосомы с повторяющимися генетическим материалом в обоих плечах.
6. Возникновение кольцевых хромосом (соединение двух концевых делеций в обоих плечах хромосомы).

В настоящее время у человека известно более 700 таких заболеваний, вызванных структурными нарушениями хромосом. Имеющиеся данные показывают, что около 25% приходится на аутосомные трисомии, 46% - на патологию половых хромосом. Структурные перестройки составляют 10,4%. Среди хромосомных перестроек наиболее часто встречаются транслокации и делеции.

Рассмотрим наиболее часто встречаемые хромосомные болезни.

Синдром Дауна (трисомия по 21-й хромосоме). Данное заболевание относится к числу наиболее распространенных патологий человека. Встречается у новорожденных с частотой 1 : 700-800. Частота рождения детей с болезнью Дауна зависит от возраста матери и в меньшей степени от возраста отца. Риск рождения больного ребенка матерью в 40-46 лет в 16 раз выше, чем в 20-24 года. Заметных различий по частоте заболевания болезнью Дауна в разных географических и расовых популяциях (табл. 6.1. и 6.2) не отмечается.

Таблица 6.1. Частота рождения детей с хромосомными болезнями в зависимости от возраста матери

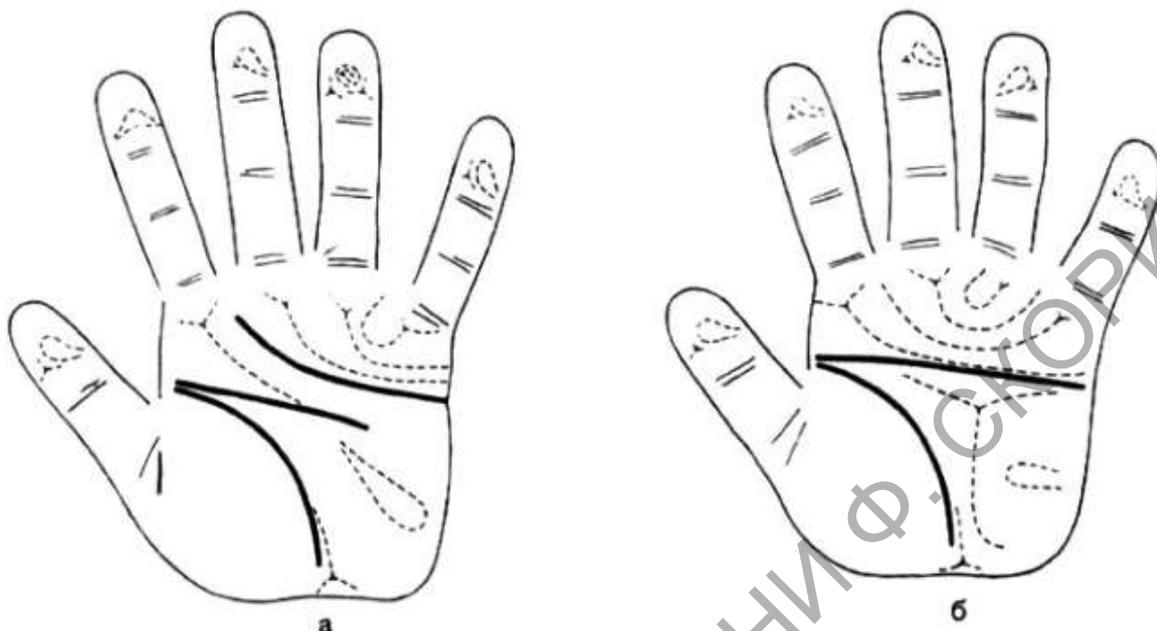
Возраст матери, годы	Частота рождения детей	
	с болезнью Дауна	с любой хромосомной болезнью
20	1:1667	1:526
25	1:1250	1:476
30	1:952	1:385
35	1:378	1:192
40	1:106	1:66
45	1:30	1:21
49	1:12	1:8

Обычно трисомия по 21-й паре хромосом составляет около 95% от общего числа больных с синдромом Дауна. Примерно 4% больных страдает транслокационной формой и около 2% - мозичными. При транслокационном варианте в кариотипе наблюдается 46 хромосом, а лишняя 21-я хромосома транслоцирована чаще всего на хромосому из групп D или G. Лежащее в основе синдрома Дауна нерасхождение 21-й пары хромосом происходит либо в яйцеклетке во время мейоза, либо на ранних стадиях дробления зиготы.

Таблица 6.2 Частота рождения детей с болезнью Дауна

Автор	Местность	Частота
Jenkins (1933)	Чикаго	1:636
Malpas (1937)	Ливерпуль	1:776
Parker (1950)	Вашингтон	1:873
Hug (1951)	Цюрих	1:520
Carter, Mc Karty (1951)	Лондон	1:666
Collman, Stoller (1961)	Австралия (штат Виктория)	1:688
Oster (1953)	Копенгаген	1:765
Schul, Neel (1962)	Хиросима и Нагасаки	1:785
Wagner (1962)	Гонолулу	1:478
Jaworska (1962)	Польша	1:575
Е. Ф. Давиденкова (1966)	Ленинград	1:912

Соотношение больных мальчиков и девочек среди новорожденных составляет 1:1. Признаки синдрома заметны уже при рождении и позднее проявляются более четко. Больные обычно невысокого роста,



Дерматоглифика при болезни Дауна,

а - ладонь нормального субъекта, б - ладонь при болезни Дауна

отличаются слабоумием. У них характерная внешность: монголоидный разрез глаз, круглое уплощенное лицо, короткий нос, плоская переносица, эпикант (полулунная вертикальная складка у внутреннего угла глаза), маленькие деформированные уши, полуоткрытый рот со слегка высунутым языком и выступающей нижней челюстью (рисунок 6.4).



Рисунок 6.4 – Дети с болезнью Дауна

За счет сильной мышечной гипотонии объем движений в суставах увеличен. Дети с синдромом Дауна в первый год жизни заметно отстают в психомоторном развитии. Они позже начинают ходить и сидеть. Нередко у них отмечаются врожденные пороки сердца, характерные изменения дерматоглифики (на ладони имеется глубокая "обезьянья борозда").

Умственное развитие больных с синдромом Дауна отстает; если не применяются специальные методы обучения возможно, развитие тяжелой идиотии. Болезнь сопровождается расстройством эндокринных желез, нарушением обмена веществ, снижением иммунитета. По этой причине они часто болеют пневмонией, инфекционными заболеваниями.

Продолжительность жизни больных ограничена. Однако с помощью специальных методов обучения, укрепления физического здоровья, правильного питания и ухода, применения лекарственных препаратов и др. ее можно значительно продлить. Многие люди с синдромом Дауна способны жить самостоятельно, овладевать несложными профессиями, создавать семьи.

Синдром Патау (трисомия по 13-й хромосоме) описан в 1960 г. у детей с множественными врожденными пороками развития. Встречается у новорожденных с частотой 1:5000 - 1:7000. Болезнь обусловлена трисомией по 13-й хромосоме у 80-85% больных с синдромом Патау. Нерасхождение хромосом в мейозе происходит чаще всего у матери. Другие случаи (мозаицизм, изохромосома, транслокация и др.) встречаются очень редко (рис. 6.5). Мальчики и девочки с синдромом Патау рождаются с одинаковой частотой.

При рождении больные дети отличаются малым весом, хотя рождаются в срок. Для беременных женщин типично многоводие. При синдроме Патау характерны различные врожденные пороки развития лица и головного мозга. Определяют типичный внешний вид больного: окружность черепа уменьшена, низкий скошенный лоб, узкие глазные щели, запавшая переносица, ушные раковины низко расположены и деформированы. Часто встречается расщелина верхней губы и неба. Из аномалий костно-мышечной системы характерны полидактилия (шестипалость), повышенная подвижность суставов. Среди патологии внутренних органов всегда отмечаются врожденные пороки сердца (дефекты межжелудочковой и межпредсердной перегородок), органов пищеварения, кисты почек и др.). Кроме того, в большинстве случаев поражены гениталии: у девочек - это удвоение

матки и влагалища, у мальчиков - крипторхизм (задержка яичка при спускании в мошонку). У 80-85% больных выявляется глухота.



Рисунок 6.5 – Синдром Патау

а - аномалии лица, б - полисиндактилия обеих стоп

В связи с тяжелыми пороками развития 95% больных детей умирают в возрасте до одного года. Практически все дети с синдромом Патау страдают глубокой идиотией.

Синдром Эдвардса (трисомия по 18-й хромосоме). Описан в 1960 г. Эдвардсом. Частота больных среди новорожденных равна 1:5000 - 1:7000. Соотношение мальчиков и девочек с синдромом Эдвардса составляет 1:3. Причины преобладания больных девочек пока не известны.



Рисунок 6.6 – Синдром Эдвардса черепно-лицевые аномалии и характерное расположение пальцев кисти того же больного (а, б)

Наиболее характерными особенностями синдрома являются изменения мозгового черепа и лица, дефекты опорно-двигательного аппарата, сердечно-сосудистой системы и половых органов.

Внешняя картина нарушений многообразна : маленький рот, узкие и короткие глазные щели, косоглазие, низкорасположенные и деформированные уши, вывернутая нижняя губа, короткая и складчатая шея, выступающий затылок, удлиненный череп.

Отмечаются также флексорное положение кистей, аномально развитые стопы, косолапость и др. Для синдрома характерны дефекты мочевой системы, пороки сердца (рис. 6.6).

90% детей с синдромом Эдвардса погибают до 1 года. Причиной смерти становятся пневмонии, кишечная непроходимость, сердечно-сосудистая недостаточность.

Синдромы с числовыми аномалиями половых хромосом

Синдром Шерешевского-Тернера впервые описан Н.А. Шерешевским в 1925 г., а позднее, в 1938 г. Х.Х. Тернером.

Причиной болезни является нарушение расхождения половых хромосом. Болеют только женщины, у них отсутствует одна X-хромосома (45 XO). Частота встречаемости синдрома 1 : 3000 новорожденных девочек.



Рисунок 6.7 – Внешний вид больной с синдромом Шерешевского –Тернера

Отмечается, что только у 20% женщин беременность большим плодом сохраняется до конца и рождается живой ребенок. В остальных случаях происходит самопроизвольный аборт или мертворождение.

Для синдрома характерны: низкорослость, половой инфантилизм, соматические нарушения. У детей уже на первом году жизни отмечается отставание в росте, что становится наиболее четко заметно к 9-10 годам. Средний рост больных взрослых женщин составляет в среднем 135 см. У них имеются аномалии в развитии скелета: короткая шея с боковыми кожными складками, короткая и широкая грудная клетка, чрезмерная подвижность локтевых и коленных суставов, укорочение 4-5-го пальцев на руках. Характерен внешний вид больных: микрогнатия (недоразвитие нижней челюсти), эпикант, низкопосаженные деформированные уши, высокое твердое небо и др. (рис. 6.7). Нередко отмечается косоглазие, катаракта, дефекты слуха, аномалии мочевой системы (удвоение почек, мочевыводящих путей).

Важной особенностью этого заболевания является половой инфантилизм. Внутренние и наружные гениталии недоразвиты, в период полового созревания вторичные половые признаки отсутствуют или развиты слабо, недоразвиты влагалище и матка, менструаций нет, больные бесплодны. Однако в литературе существуют данные о рождении детей у женщин с синдромом Шерешевского-Тернера.

В 50 % случаев больные страдают умственной отсталостью, они пассивны, склонны к психогенным реакциям и психозам.

Продолжительность жизни близка к норме. Лечение направлено на стимуляцию роста и уменьшение полового инфантилизма (длительные курсы половых гормонов и др.).

Синдром Клайнфельтера описан в 1942 г. Н. Клайнфельтером. Болеют только мальчики. Частота встречаемости - 2 из 1000 новорожденных мальчиков. Установлено, что больные имеют лишнюю X-хромосому (кариотип 47, XXУ, вместо 46, XY). Наряду с этим, встречаются варианты полисомии с большим числом X- и Y-хромосом, которые также относят к синдрому Клайнфельтера (табл. 6.2).

До рождения заболевание клинически не диагностируется. Генетические аномалии проявляются в период полового созревания в виде недоразвития семенников и вторичных половых признаков.

Для мужчин с синдромом Клайнфельтера характерны высокий рост, евнухоидный тип сложения (широкий " таз, узкие плечи), гинекомастия (развитие грудных желез больше, чем в норме), слабый рост

волос на лице, в подмышечных впадинах и на лобке. Яички уменьшены в размерах, отмечается половой инфантилизм, склонность к ожирению. При этом у больных нарушен сперматогенез и они бесплодны. Их умственное развитие отстает, однако иногда интеллект нормальный.

Таблица 6.2. Типы полисомии по половым хромосомам у человека

X-полисомии при отсутствии Y-хромосомы	X-полисомии с одной Y хромосомой	Y-полисомии с одной X-хромосомой	Полисомия по обеим хромосомам
47, XXX	47, XXU	47, XU	48, XXUU
48, XXXX	48, XXXU	48, XU	49, XXXUU
49, XXXXX	49, XXXU	49, XU	

Увеличение числа X-хромосом в генотипе сопровождается усилением умственной отсталости, нарушением психики, антисоциальными поступками и алкоголизмом (рис. 6.8).



Рисунок 6.8 – Внешний вид больного с синдромом Клайнфельтера

Синдромы, обусловленные внутриврохромосомными перестройками

К этому типу перестроек хромосом (наряду с делениями, дупликациями и инверсиями) относятся частичные трисомии и моносомии аутосом. Обнаружение указанных хромосомных нарушений стало возможным после разработки методов дифференциальной окраски

хромосом, позволяющих не только идентифицировать каждую хромосому набора, но и судить о происхождении аномальной хромосомы, ее дополнительного или утраченного участка. В настоящее время для большинства хромосом человека обнаружены частичные дупликации или делеции. Они могут затрагивать как короткое или длинное плечо хромосомы, так и одновременно оба плеча. Для многих хромосом выявлена относительная клиническая специфичность фенотипических отклонений при аутомсомных частичных трисомиях или моносомиях, однако клинко-цитогенетические синдромы пока выделить не удалось.

Приведем два примера синдромов, обусловленных внутрихромосомной патологией.

Синдром "кошачьего крика" связан с делецией короткого плеча 5-й хромосомы. Впервые описан Дж. Леженом в 1963 г. Признаком его служит необычный плач детей, напоминающий мяуканье или крик кошки. Это связано с патологией гортани или голосовых связок. Однако с возрастом этот крик исчезает.

Клиническая картина синдрома значительно варьирует. Наиболее типичным, помимо "кошачьего крика", является умственное и физическое недоразвитие, микроцефалия (аномально уменьшенная голова).



Рисунок 6.9 – Синдром "кошачьего крика"
а - внешний вид больного; б - кариотип больного

Своеобразен внешний вид больных: лунообразное лицо, микрогения (маленькие размеры верхней челюсти), эпикант (вертикальная складка кожи у внутреннего угла глазной щели), высокое небо, плоская спинка носа, косоглазие. Ушные раковины расположены низко и деформированы. Отмечаются также врожденные пороки сердца, патология костно-мышечной системы, синдактилия стоп (полное или частичное сращение соседних пальцев), плоскостопие, косолапость и др.), мышечная гипотония (рис. 6.9).

Большинство детей умирает в раннем возрасте. Вместе с тем известны описания больных старше 50 лет. По-пуляционная частота синдрома "кошачьего крика" 1:40000 - 1:50000 новорожденных. Размер делеции в разных случаях различен.

Болезнь характеризуется многочисленными врожденными пороками развития, задержкой умственного и психомоторного развития.

У новорожденных небольшой вес при нормальной продолжительности беременности. Среди внешних признаков отмечаются: микроцефалия, клювовидный нос, эпикант, антимонголоидный разрез глаз (опущение наружных углов глазных щелей), аномальные ушные раковины, расщелина верхней губы и неба, маленький рот, деформация стоп и др.

Дети с синдромом Вольфа-Хиршхорна маложизнеспособны, как правило умирают в возрасте до одного года. Частота этого синдрома низкая - 1 : 100000 рождений.

Факторы, повышающие риск рождения детей с хромосомными болезнями

Причины возникновения хромосомных болезней до настоящего времени недостаточно изучены. Имеются экспериментальные данные о влиянии на мутационный процесс таких факторов, как: действие ионизирующих излучений, химических веществ, вирусов. Другими причинами нерасхождения хромосом могут быть: сезонность, возраст отца и матери, порядок рождения детей, прием лекарств во время беременности, гормональные нарушения, алкоголизм и др. Не исключается до определенной степени и генетическое детерминирование нерасхождения хромосом. Повторим, однако, что причины образования геномных и хромосомных мутаций на ранних стадиях развития зародыша до сих пор окончательно не раскрыты.

К биологическим факторам повышения риска рождения детей с хромосомными аномалиями может быть отнесен возраст матери. Как видно из таблицы 8.1, риск рождения больного ребенка особенно рез-

ко возрастает после 35 лет. Это характерно для любых хромосомных болезней, но наиболее четко наблюдается для болезни Дауна.

В медико-генетическом планировании беременности особое значение уделяется двум факторам - наличию анеуплоидии по ауто-сомам у ребенка и возрасту матери старше 35 лет.

К кариотипическим факторам риска у супружеских пар относятся: анеуплоидия (чаще в мозаичной форме), Робертсоновские транслокации (слияние двух телоцентрических хромосом в области деления) кольцевые хромосомы, инверсии. Степень повышения риска зависит от типа хромосомных нарушений.

В настоящее время оценка степени риска уступает более точной пренатальной цитогенетической диагностике эмбриона или плода.

Литература:

1. Шевченко, В.А. Генетика человека / В.А. Шевченко, Н.А. Топорнина, Н.С. Стволинская. – М.: Владос, 2004. – 240 с.
2. Фогель, Ф. Генетика человека / Ф. Фогель, А. Мотульски. – М.: Мир, 1989. – Т. 1. – 312 с.
3. Заяц, Р.Г. Основы общей и медицинской генетики / Р.Г. Заяц, И.В. Рачковская. – Мн.: Выш. шк., 1998. – 255 с.

ЛЕКЦИЯ 7. ГРУППЫ КРОВИ АВ0 У ЧЕЛОВЕКА. МНОЖЕСТВЕННЫЙ АЛЛЕЛИЗМ.

1. Общая характеристика групп крови
2. Система групп крови АВ0
3. Система групп крови Резус-фактор (Rh)

1. Общая характеристика групп крови

Группа крови является генетически обусловленным биологическим признаком и определяется наличием или отсутствием в плазменных и клеточных элементах крови конкретного индивидуума соответствующих групповых изоантигенов и изоантител.

На основании изучения реакции изогемагглютинации (склеивание эритроцитов одного человека при смешивании их с сывороткой крови другого) К. Ландштейнер (K. Landsteiner) в 1900-1901 гг. впервые выделил у человека три группы крови – А, В и 0. В 1900-1901 гг. Декастелло (Dekastello), Штурли (Schturli) впервые описали IV группу крови. В 1906 г. Я. Янский (J. Jansky) окончательно доказал, что для человека закономерными являются четыре группы крови, и предложил классификацию (I, II, III, IV), которой пользуются до настоящего времени во всем мире.

В 1910 г. Мосс (Moss) (США) приготовил типизирующие сыворотки для определения групп крови. В 1911 г. ван Дунгерн и Гиршфельд подтвердили, что группы крови наследуются. Эти факты доказали применимость законов Менделя к наследованию признаков у человека. В 1924 г. Бернштейн установил, что система групп крови АВ0 контролируется серией множественных аллелей одного локуса. Благодаря совместным усилиям Винера, Левина и Ландштейнера спустя 25-30 лет был обнаружен резус-фактор (Rh) и показано, что гемолитическая желтуха новорожденных возникает вследствие иммунологической несовместимости матери и плода. Эти открытия позволили в 60-е гг. наглядно продемонстрировать возможность предупреждения гемолитической болезни новорожденных путем введения анти-Rh-антител матерям из группы риска развития этого заболевания.

В 1928 г. утверждена международная классификация групп крови. Принято различать четыре группы: О(I), А(II), В(III) и АВ(IV). В Европе 44% людей имеют группу крови А(II); группа О(I) является второй по частоте и составляет 39%, группа В(III) встречается в 12%, группа АВ(IV) – в 4-5%.

К настоящему времени в крови человека обнаружено более 700

различных эритроцитарных антигенов крови, образующих 75 антигенных систем. Лишь 29 из них имеют клиническое значение, а наиболее значимы 14 антигенных систем: ABO, Rh-Hr, Kell-Gellano, Duffi, Kidd, Lewis (Льюис), MNSs, Lutheran, Pp, Xq, Ji, Auberger, Diego, Dombrok, Colton, Scianna и другие. По каждой из этих систем существуют свои группы крови. Так, по системе MNSs выявлено 43 группы крови, по системе Rh-Hr – 48 групп. Если учитывать комбинации по различным антигенным системам, то получаются более 11 млн. групп крови, и практически подобрать идентичную кровь по всем антигенным системам невозможно. Одинаковые группы крови определяются только у однойяцевых близнецов.

В лейкоцитах обнаружено более 250 специфических антигенов (HLA – Human Leukocyte Antigen), которые формируют 162 антигенные системы HLA, в тромбоцитах 26 специфических антигенов (HPA – Human Platelet Antigens) образуют 10 антигенных систем HPA. Существует более 100 антигенов плазменных белков, образующих 20 антигенных систем.

Для гемотрансфузиологии представляют интерес антигены поверхности клеточных элементов крови, способные напрямую реагировать с антителом и являющиеся причиной посттрансфузионных осложнений. Вместе с тем деструкция клеток при онкологических и гнойно-некротических процессах, болезнях крови может сопровождаться «высвобождением» антигенов клеточной протоплазмы, к которым отсутствует «узнавание» иммунокомпетентных образований. Развивается аутоиммунный процесс. Иммуные антитела могут оказаться способными агглютинировать как собственные эритроциты, приводя к их разрушению в сосудах и нарастанию анемии, так и переливаемые, что удается обнаружить при проведении проб на индивидуальную совместимость.

В литературе имеются сведения о связи патологии с определенной группой крови. Так, заболеваемость гастритом и язвой желудка достоверно выше среди лиц первой группы крови, имеющих антиген системы Lewis (Le^b).

Среди людей, имеющих A(II) группу крови, чаще встречаются ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь, сахарный диабет. Наличие лейкоцитарных антигенов HLA-A8 способствует развитию аллергических заболеваний.

Антигенные маркеры эритроцитов

Изучение антигенов эритроцитов составляет период длительностью более ста лет. Группоспецифические антигены были обнаруже-

ны в связи с аллогенными гемотрансфузиями и нарушением гомеостаза организма при попадании в него чужеродных антигенов. Поэтому наиболее очевидной была иммунологическая функция этих структур. Успехи биохимии, в частности мембранологии, молекулярной биологии, позволили получить представление об общебиологических функциях антигенов групп крови. Установлено, что они участвуют в переносе веществ в клетку, служат рецепторами экзогенных лигандов, вирусов, бактерий, паразитов, выполняют ферментативную роль, участвуют в адгезии различных молекул, выполняют структурную роль в биомембране. В настоящее время изучена иммуногенная активность более 250, а, по мнению других авторов – 450 антигенных детерминант-групп крови.

Группы крови, образованные антиген-антительным представителем, выполняют исключительно важную роль в жизнедеятельности человека как биологического вида. Группоспецифические полисахариды, подобные групповым антигенам человека, широко распространены в природе. Их находят у животных, растений, бактерий. Контакт с этими веществами в процессе естественного отбора привел к дифференцировке человека как вида на 4 типа по содержанию или отсутствию антигенов А и В. Люди, не содержащие антигены А и В, имеют α - и β -антитела.

Групповые антигены крови человека называют агглютиногенами, так как они обычно выявляются реакцией агглютинации. Агглютиногены являются составной частью клеточных структур форменных элементов крови (гликопротеины клеточной мембраны), но некоторые из них могут находиться в водорастворимой форме в плазме крови, слюне, желудочном соке, моче, тканевой и других жидкостях организма. Антигены, аналогичные агглютиногенам крови, имеются в клетках других тканей. Наиболее богаты групповыми антигенами и антителами ткани и жидкости генеративных органов, где они обезвреживают антитела, препятствующие оплодотворению и развитию плода. Четвертое место по содержанию групповых антигенов и антител занимает кровь – эритроциты и плазма.

Агглютиногены обладают следующими свойствами:

1) иммуногенностью, т. е. способностью вызывать образование иммунных антител при поступлении антигена в организм, не имеющего его;

2) специфичностью (серологической активностью), т. е. способностью вступать с соответствующим антителом в иммунологическую реакцию, такую, как агглютинация, преципитация и флоккуля-

ция.

Разные антигены обладают этими свойствами в разной мере, и у кого-то более выражено одно из них, у кого-то - другое. Антигены могут быть полноценными, если они обладают обоими указанными свойствами, и неполноценными (гаптены), если они обладают одним из этих свойств.

Все групповые антигены являются наследственными, врожденными и не меняются в течение жизни. В большинстве групповых систем антигены полностью развиваются к моменту рождения, и активность их сохраняется на таком же уровне, как и перед рождением. Исключением являются антигены системы Левис, Р, которые слабо выражены при рождении, и антиген системы Ай, который почти совсем не развит у новорожденных. Напротив, антиген Rh⁰(D) к концу эмбрионального периода имеет активность выше, чем у взрослого человека.

Практическое значение имеют те агглютиногены крови, которые расположены на поверхности форменных элементов, ибо они являются причиной изоиммунизации (изосенсибилизации) и с этими антигенами соединяются антитела при гемотрансфузиях, вызывая агглютинацию и гемолиз.

Такое расположение имеют агглютиногены систем АВО, Rh-Hr и Kell, что и явилось основной причиной подбора крови для переливания именно по этим агглютиногенным системам.

Международное общество переливания крови в 1980 году систематизировало антигены эритроцитов и разделило их на три категории: систему, коллекцию и серию.

Выделены:

- 1) системы группы крови;
- 2) коллекции группы крови;
- 3) редко встречающиеся антигены (700-е серии);
- 4) часто встречающиеся антигены (901-е серии).

К системам группы крови относятся: система АВО, Келл, Левис, Даффи, резус-система и другие. Коллекция содержит антигены, которые не отвечают критериям для формирования системы группы крови. Известно 5 коллекций, содержащих 11 антигенов. Эритроцитарные антигены, которые не принадлежат к системам или коллекциям группы крови, сортируются на две серии: если они редки (частота менее 1%), они находятся в 700-й серии, если они являются общими (частота выше 90%), они помещаются в 901 серии.

Закономерности наследования позволяют объединить известные

группы крови в 25 генетически дискретных систем. Буквы алфавита используют для обозначения антигенов системы ABO и резус (С, Д, Е). Новые антигены назывались по имени первого обладателя антител к неизвестному ранее антигену: Левис (Le^a , Le^b , Le^c , Le^d), Сцианна (Sc^1 , Sc^2 , Sc^3), Даффи (Fy^a , Fy^b), Домброк (D^0), Колтон (Co^a , Co^b , Co^c), Гербих (Ge), Кромер (Crom), Кнопс (Kn), Диего (Di^a , Di^b), Келл (K, k, Kp^a , Kp^b , Js^a , Js^b) и другие. Короткий символ – первые буквы полного названия: Rh, Le (Lewis), Lu (Lutheran) и другие. Для обозначения системы Kidd взяты инициалы ребенка Ik (John Kidd), родившегося с гемолитической анемией к неизвестному антигену Kidd на его эритроцитах. Ряд систем и антигенов именованы географическими названиями тех мест, где впервые были обнаружены: Индиан (In), Бомбей. Антиген S системы MNS – от Sidney. Современная номенклатура антигенов включает исторические названия и цифровые обозначения для автоматизированного считывания. Почти все известные антигены из диаллельных превратились в полиаллельные, насчитывающие десятки антигенов. Были обнаружены слабые и редко встречающиеся антигены, относящиеся особенно к системе ABO и Rh: A_2 , A_3 , A_x , A_u , A_m , A_{cl} , A_{end} , B_3 , B_x , B_m , D_u , C_u , C_x , E_u и другие.

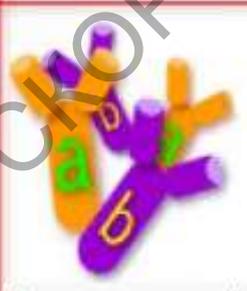
Антигены многих эритроцитарных систем (ABO, Rh, P, Levis) экспрессированы не только на мембране эритроцитов, но и на мембранах клеток практически всех тканей организма человека, а также определяются в биологических жидкостях, что используется в судебно-медицинской практике для идентификации личности.

2. Система групп крови ABO

Систему антигенов ABO составляют два антигена: А и В, которые, кроме эритроцитов, имеются в лейкоцитах, тромбоцитах, тканевых клетках и плазме. К этой антигенной системе относятся два естественных антитела – агглютинины α (анти-А) и β (анти-В). Агглютинин α соединяется только с антигеном А, а агглютинин β – только с антигеном В. Генетически возможны 6 комбинаций аллельных антигенов – 00, А0, АА, В0, ВВ, АВ. Так как гетеро- и гомозиготные варианты сочетаний антигенов (А0 и АА, В0 и ВВ) входят в одну группу, фенотипически выделяют четыре основные группы крови: $O_{\alpha\beta}$ (I) – первая, A_{β} (II) – вторая, B_{α} (III) – третья и AB_0 (IV) – четвертая. В нашей стране и в большинстве других стран принято буквенно-цифровое обозначение групп крови: O(I), A(II), B(III), AB(IV).

Антиген О является самостоятельным слабым антигеном. Он выявляется только специальными сыворотками и практическое его

значение невелико.

Группа крови (генотип)	Группа А (AA, A0)	Группа В (BB, B0)	Группа АВ (AB)	Группа 0 (00)
Белки поверхности эритроцитов (фенотип)	 Агглютиноген А	 Агглютиноген В	 Агглютиногены А и В	 Агглютиногенов нет
Антитела плазмы (фенотип)	 Агглютинин b	 Агглютинин a	NONE Агглютининов нет	 Агглютинины a и b

Антиген А представлен несколькими разновидностями от A_1 до A_{64} , которые встречаются с неодинаковой частотой у лиц, имеющих кровь группы А. Абсолютное число людей II группы крови имеют антиген A_1 (примерно у 88%), реже встречается антиген A_2 (до 12%). Антигены A_1 и A_2 отличаются по своей способности вступать в реакцию агглютинации с одноименными моноклональными антителами. Эритроциты подгруппы A_1 дают крупнозернистую и быстро проявляющуюся агглютинацию, наступающую через 3-5 секунд. Эритроциты подгруппы A_2 дают мелкозернистую агглютинацию, проявляющуюся к концу 3 минуты. Это имеет практическое значение, так чтобы не допустить ошибку при определении группы крови [вместо A(II) и АВ(IV) можно определить O(I) или B(III)], учет реакции агглютинации следует осуществлять не ранее чем через 3 минуты, ввиду более позднего появления агглютинации с эритроцитами, содержащими слабые разновидности антигена А.

Имеются сообщения о неоднородности антигена В и наличии его различных вариантов. При переливании крови варианты антигена В практического значения не имеют, они учитываются в судебной медицине.

При переливании крови, эритромаcсы руководствуются принципом переливания только одногруппной крови. Однако в исключительной ситуации, когда речь идет о сохранении жизни больного, возможно переливание иногруппной крови. Человек с первой группой

крови считается универсальным донором. O(I) Rh-отрицательные эритроцитсодержащие компоненты можно вливать по жизненным показаниям в экстренной ситуации реципиентам с группой крови A(II) или B(III), если нет одногруппной крови или эритроцитсодержащих компонентов. В экстренных случаях при невозможности определения группы крови по жизненным показаниям реципиенту можно переливать эритроцитсодержащие компоненты O(I) группы резус-отрицательные не более 500 мл независимо от групповой и резус-принадлежности реципиента.

Ранее реципиенты AB(IV) группы крови считались универсальными реципиентами и в экстренной ситуации им можно было переливать донорскую кровь O(I), A(II) и B(III) групп. В настоящее время реципиентам AB(IV) группы по жизненным показаниям могут быть перелиты резус-отрицательные эритроцитсодержащие компоненты B(III) или, если нет времени для определения группы крови пострадавшего, O(I) группы резус-отрицательные. Переливание крови универсального донора осуществляется только капельно, чтобы агглютинины разводились в крови реципиента.

В ситуации, когда имеется одногруппная кровь, но ее недостаточно, сначала переливается одногруппная кровь, а затем кровь универсального донора.

Иногруппную кровь вводят только для восполнения кровопотери в объеме не более 500 мл. Это соответствует *прямому правилу Оттенберга*: при переливании небольших доз крови (до 500 мл) учитываются агглютиногены переливаемой крови, т. к. именно они подвергаются агглютинации. Так, переливая кровь O(I) группы пациентам A(II), B(III) и AB(IV) групп, мы не вводим агглютиногены, и реакция агглютинации не развивается. Имеющиеся в плазме и тканевых жидкостях лиц с группой крови A(II), B(III) и AB(IV) водорастворимые антигены A и B связывают вливаемые естественные агглютинины α и β универсального донора, снижают их титр и тем самым препятствуют гемолизу эритроцитов реципиента.

При переливании больших доз крови учитываются вливаемые агглютиногены и агглютинины (*обратное правило Оттенберга*), т. к. количество агглютининов α и β будет достаточным не только для связывания водорастворимых антигенов A, B, но и для агглютинации собственных эритроцитов больного A, B, и AB.

У некоторых людей наряду с естественными агглютинами α и β обнаруживаются иммунные антитела анти-A или анти-B, которые не инактивируются растворимыми антигенами A и B и взаимодей-

ствуют только с эритроцитарными антигенами. Чаще всего они выявляются у людей группы O(I), значительно реже – у людей группы A(II) или B(III) в результате иммунизации чужеродными для них антигенами B или A. Универсальный донор, иммунизированный по эритроцитарным антигенам, или имеющий врожденный высокий титр естественных агглютининов, считается опасным универсальным донором, и переливание такой крови вызывает гемолиз эритроцитов реципиента. При переливании взрослому реципиенту 500 мл такой крови этот гемолиз не дает гемолитического шока, при трансфузии большего количества такая возможность вполне реальна.

Весьма редко обнаруживаются так называемые дефективные группы крови, когда обычными методами не выявляется какой-либо из естественных агглютининов (B₀, A₀, O_α, O_β, O₀₀) и возникают затруднения в определении группы крови перекрестным способом.

Еще более редкой является кровь типа «Бомбей», впервые описанная у одного из жителей Бомбея. (В настоящее время распространение такой разновидности крови зафиксировано в Средней Азии). В этом случае в эритроцитах отсутствуют антигены A, B и O (истинный «ноль»), а в сыворотках имеются агглютинины α, β и анти-O. Реципиентам с такой группой переливают только кровь типа «Бомбей», так как эритроциты универсального донора будут разрушаться антителами анти-O. Запасы такой крови есть в Международном банке крови.

Иногда в организме человека одновременно находятся эритроциты, принадлежащие двум фенотипам ABO – кровяные химеры. Для истинного (врожденного) кровяного химеризма характерно наличие в организме двух генетически отличающихся клеточных популяций кроветворных клеток. В естественных условиях кровяной химеризм бывает у близнецов, которые наследуют от родителей разные группы крови, но организм остается толерантным к клеткам, вырабатывающим антигены другой группы крови.

Ложный (временный, приобретенный) кровяной химеризм может наблюдаться при трансплантации аллогенного костного мозга, или при переливании больному крови или эритроцитов универсального донора. В трансфузиологии существует правило: любая «нестандартная» кровь донора для гемотрансфузии непригодна!

3. Система групп крови Резус-фактор (Rh)

Агглютиногенная система резус (Rh-Hr) имеет 88 антигенов с их вариантами, составляющими полиаллельную систему. После антигенов ABO они имеют наибольшее значение для клинической практики.

В трансфузиологии наибольшее клиническое значение имеют 6 антигенов. Для их обозначения используют две номенклатуры. По номенклатуре Wiener, предложенной в 1942 г., антигены резус обозначаются символами: Rh₀, Rh', Rh'', Rh₁^w, Hr', Hr''.

Другая номенклатура, предложенная в 1944 г. Fischer и R. Race, использует буквенные обозначения: D, C, E, C^w, c, e. Антигены резус, как и другие групповые признаки крови человека, наследуются от родителей и в течение жизни не изменяются. Они состоят из полипептидов, фосфолипидов и глико-протеиновых комплексов. Антигены резус находятся в мембране эритроцитов и определяются тремя сцепленными локусами генов, расположенными на одной аутосомной хромосоме. Пара хромосом контролирует аллельные антигены D-d, C-c, E-e. Антигены D, C, E наследуются по доминантному типу, а антигены c и e – по рецессивному. Генотипически каждая особь содержит 5 антигенов резус. Фенотипически их может быть меньше – 4 или 3 антигена.

Наибольшей антигенной активностью (иммуногенностью) и, соответственно, наиболее частой причиной изосерологических конфликтов при гемотрансфузиях и беременности обладает антиген D(Rh₀), меньшей антигенной активностью обладает антиген C(rh'), c(hr'), еще меньшей – E(rh''), затем – e(hr''). Антигенная активность D-фактора в 100 раз выше, чем у C-фактора. Существование антигена d(Hr₀) не доказано (это гипотетический фактор), так как к нему не получена соответствующая антисыворотка и его написание означает, что фактор D отсутствует. Фактор D(Rh₀) содержится в эритроцитах 85% людей. Он не однороден и включает в себя Rh^A, Rh^B, Rh^C, Rh^D факторы, благодаря которым в редких случаях возможно развитие гемолитической болезни новорожденных у резус-положительных матерей. В 1,0-1,5% случаев D(Rh₀) встречается в слабо выраженном генетически обусловленном варианте – разновидности Du (D-u), Dweak. Его низкая способность вступать в реакцию агглютинации с соответствующим антителом может привести к ошибке при определении резус-принадлежности. В то же время антиген Du является иммуногенным для резус-отрицательных лиц.

Переливание реципиентам, содержащим Du фактор, эритроцитов D(Rh₀) может приводить к сенсибилизации по D-антигену. В связи с этим донор, носитель фактора Du, считается резус-положительным, а реципиент – резус-отрицательным.

Антиген C(rh') встречается у 70% людей и имеет несколько вариантов (C^w, C^x), которые определяются значительно реже. Частота

фактора с(hr') составляет около 80%, фактора C^W – 2%. Однако у C-положительных лиц могут 35 вырабатываться анти C^W-антитела. Они возникают при беременности и при трансфузиях крови, могут служить причиной гемолитической болезни новорожденных и трансфузионных реакций.

Частота антигена E(rh") составляет около 30%, а e(hr") фактора – 97%.

При гемотрансфузиях пользуются весьма упрощенным и условным делением доноров и реципиентов на группы крови по системе резус, которое позволяет с минимальным риском осложнений осуществить переливание крови. Когда речь идет о реципиентах, прежде всего, следует учесть, что чаще вызывает иммунизацию при гемотрансфузиях антиген D(Rh₀), поэтому при переливании крови необходимо предупредить введение этого антигена с кровью донора реципиенту, у которого антигена D нет. В связи с этим среди реципиентов можно выделить две группы крови: резус-положительную (Rh+), к которой относится кровь всех лиц, имеющих в эритроцитах антиген D (упрощенно: DCE, DCe, DcE, Dce), и резус-отрицательную (Rh-), к которой относится кровь всех лиц, не имеющих антигена D (упрощенно dCE, dCe, dcE, dce).

При таком разделении на группы, переливая резус-положительную кровь реципиентам с резус-положительной кровью, а резус-отрицательную кровь – реципиентам с резус-отрицательной кровью, можно предупредить иммунизацию по антигену D и избежать возможности тяжелых посттрансфузионных осложнений.

Если у доноров определять резус-принадлежность по тому же принципу, что и у реципиентов, то резус-отрицательная донорская кровь от 2-3% доноров будет содержать в эритроцитах антигены C или E, и возможна иммунизация по этим факторам. В связи с этим к группе доноров с резус-отрицательной кровью должны относиться только те лица, в эритроцитах которых нет доминантных резус-антигенов D, C, E (в упрощенном варианте только комбинация dce). Доноры же, в эритроцитах которых стандартными сыворотками обнаруживаются антигены D, C или E, должны быть отнесены в группу резус-положительных (упрощенно: DCE, DCe, DcE, Dce, dCE, dCe, dcE). Последние три группы доноров, в эритроцитах которых находятся антигены C или E, могут быть выделены в отдельную группу, так как лицо, в эритроцитах которого обнаруживаются антигены C или E, будучи донором, относится к группе резус-положительной, но, будучи реципиентом, должен считаться резус-отрицательным (ибо не

имеет антигена D).

Некоторые образцы крови человека не показывают положительных результатов ни с одной сывороткой против антигенов системы резус. Эти образцы эритроцитов обозначают Rhnull. Эритроциты Rhnull напоминают образец крови типа «Бомбей», лишенный всех антигенов системы АВО. Такие лица могут нормально передавать детям антигены системы резус, сами фенотипически не проявляя этих признаков.

Выбор крови для переливания по Rh-Нг системе осуществляется по единому принципу: кровь должна быть одноименной по резус-принадлежности. Лишь резус-положительным новорожденным с гемолитической болезнью показано введение резус-отрицательных эритроцитов.

Литература:

1. Шевченко, В.А. Генетика человека / В.А. Шевченко, Н.А. Топорнина, Н.С. Стволинская. – М.: Владос, 2004. – 240 с.
2. Фогель, Ф. Генетика человека / Ф. Фогель, А. Мотульски. – М.: Мир, 1989. – Т. 1. – 312 с.
3. Курлаев, П.П. Определение групп крови / П.П. Курлаев, В.К. Есипов. – Оренбург, 2016. – 86с.

ЛЕКЦИЯ 8. ПЦР-АНАЛИЗ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

1. Полимеразная цепная реакция
2. ПЦР-анализ как метод выявления мутаций

1. Полимеразная цепная реакция

Изобретение полимеразной цепной реакции (ПЦР) (Polymerase Chain Reaction – PCR) К.Мюллисом (К.Mullis) и его сотрудниками в 1985 году революционизировало молекулярную биологию и генную инженерию.

Полимеразная цепная реакция – это метод *in vitro*, используемый для того, чтобы ферментативно амплифицировать (умножить) специфический участок ДНК, расположенный между двумя участками ДНК с известной последовательностью. В то время, как прежде можно было получить только минимальные количества специфического гена, теперь с использованием ПЦР даже единичная копия может быть амплифицирована до миллиона копий за несколько часов.

Метод ПЦР основан на механизме репликации ДНК *in vivo*: двухцепочечная ДНК (dsДНК) раскручивается до одноцепочечных ДНК (ssДНК), дублируется и снова закручивается. Эта методика состоит из повторяющихся циклов (рис. 11.1):

- Денатурация (плавление) ДНК путем плавления при повышенной температуре для превращения двухцепочечной ДНК в одноцепочечную ДНК
- Отжиг (гибридизация) двух олигонуклеотидов, используемых в качестве праймеров для целевой ДНК
- Удлинение цепи ДНК, начиная от праймеров, путем добавления нуклеотидов с использованием ДНК полимеразы в качестве катализатора и в присутствии ионов Mg^{2+} .

Конструирование праймеров

Одним из главных этапов при проведении ПЦР является конструирование праймеров. Чтобы подобрать индивидуальные видоспецифичные праймеры необходимо учесть ряд переменных: длина праймера, температура плавления (T_m), специфичность, комплементарная последовательность праймера, G/C содержание и полипиримидиновые (T, C) или полипуриновые (A, G) протяженные участки (Состав нуклеотидов в праймере должен быть между 45% и 55% содержанием GC), 3'-концевая последовательность.

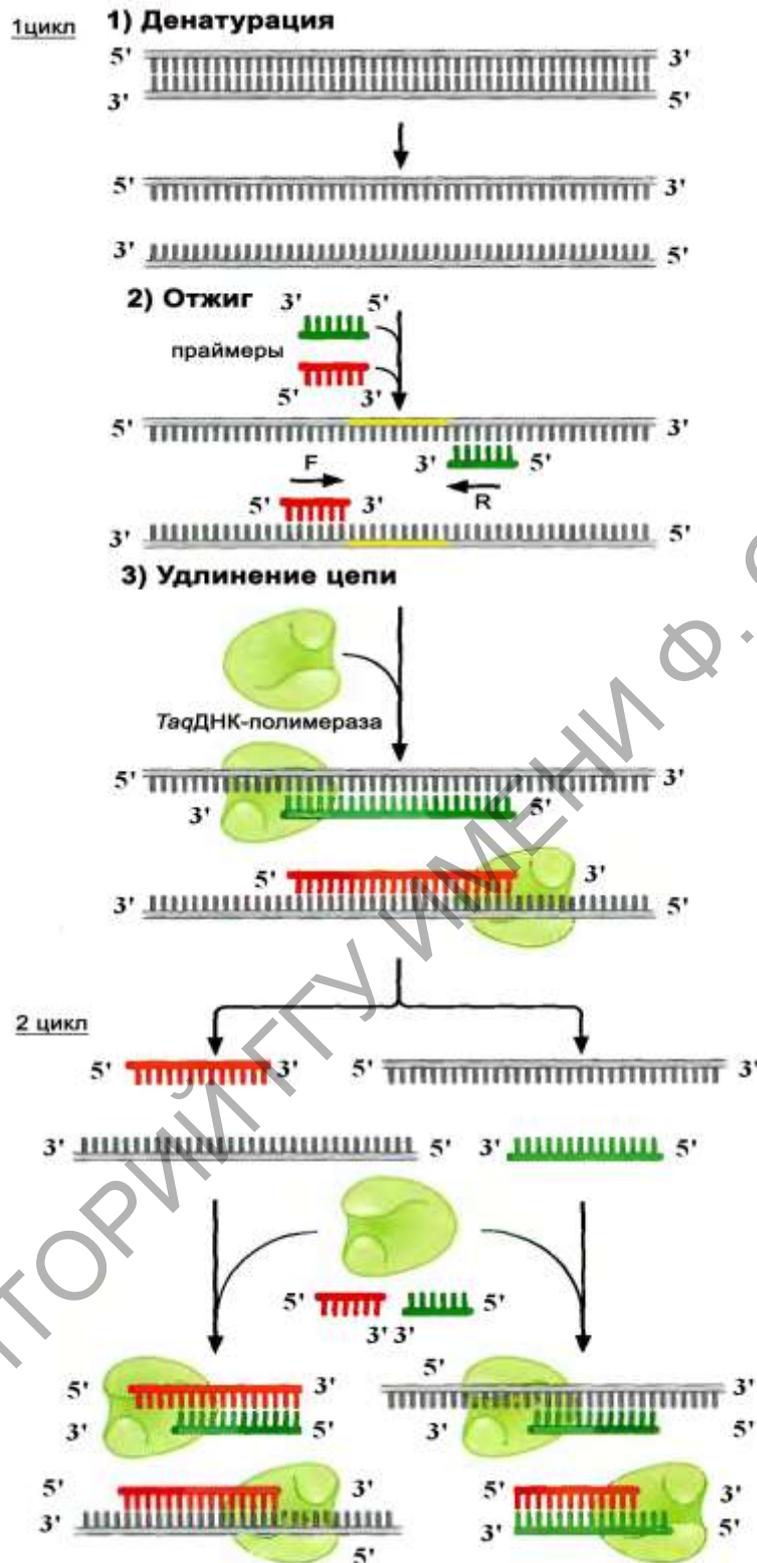


Рисунок 11.1 – Этапы ПЦР

Длина праймера

Поскольку специфичность, температура и время отжига частично зависят от длины праймера, этот параметр является критическим для успешного осуществления ПЦР. В целом, олигонуклеотиды длиной

от 18 до 24 оснований являются особенно последовательность-специфичными, при том, что температура отжига оптимальна.

Длина праймера также пропорциональна эффективности отжига. Если меньшее количество матриц на каждой стадии обеспечено праймерами, это может привести к значительному снижению выхода амплифицированного продукта. Праймеры, однако, не должны быть слишком короткими, если это только специально не требуется для особого применения. Как будет обсуждаться ниже, надо ставить цель сконструировать праймер с температурой отжига по крайней мере 50°C.

Отношение между температурой отжига и температурой плавления является одним из «черных ящиков» ПЦР. Общее практическое правило заключается в том, чтобы использовать температуру отжига, которая на 5°C ниже, чем температура плавления. Часто температура отжига, определенная таким образом, не оказывается оптимальной, и требуется проведение специальных экспериментов для определения оптимальной температуры эмпирическим путем. Это наиболее легко выполнить, используя градиентный термоамплификатор.

Температура плавления (T_m)

Важно помнить, что существуют два праймера, которые добавляют в ПЦР реакцию, ориентированную на конкретный сайт, или целевую последовательность. Оба олигонуклеотидных праймера следует конструировать таким образом, чтобы они имели одинаковую температуру плавления. Если праймеры не совпадают в отношении T_m , амплификация будет менее эффективной, или может вовсе не сработать, так как праймер с более высокой T_m будет неправильно работать при более низкой температуре, а праймер с более низкой T_m может не работать при более высокой температуре. Температура плавления олигонуклеотидов наиболее точно рассчитывается с использованием наиболее подходящих термодинамических расчетов по формуле:

$$T_m^{\text{primer}} = \Delta H [\Delta S + R \ln (c/4)] - 273.15^\circ\text{C} + 16.6 \log_{10} [K^*]$$

где H – это энтальпия, и S – энтропия для образования спирали, R – молярная газовая константа, а c – концентрация праймеров.

Самое простое для исполнения – воспользоваться программным обеспечением для конструирования праймеров, имеющимся в продаже (Sharrocks, 1994). К счастью, достаточно хорошо работает приблизительный расчет этой величины (в целом, пригодный для оли-

гонуклеотидов в пределах 18 - 24 оснований), с использованием следующей формулы:

$$T_m = 2(A+T) + 4(G+C)$$

A, T, G, C – пуриновые и пиримидиновые основания.

Таблица 11.1 демонстрирует величины, рассчитанные для праймеров различной длины, с использованием этого уравнения (известного, как формула Уоллеса (Wallace), допуская, что содержание GC составляет 50% (Suggs et al., 1981).

Таблица 11.1 – Расчет длины праймера с помощью уравнения Wallace

Длина праймера	$T_m = 2(A+T) + 4(G+C)$	Длина праймера	$T_m = 2(A+T) + 4(G+C)$
4	12°C	22	66°C
6	18°C	24	72°C
8	24°C	26	78°C
10	30°C	28	84°C
12	36°C	30	90°C
14	42°C	32	96°C
16	48°C	34	102°C
18	54°C	36	108°C
20	66°C	38	114°C

Величины температур, рассчитанные с помощью правила Wallace, являются неточными для крайних значений этой таблицы. При расчете температуры плавления праймера, следует убедиться, что температура плавления продукта достаточно низка, чтобы при 92°C произошло его 100% расплавление. Этот параметр поможет гарантировать более эффективное действие ПЦР, но он не всегда необходим для успешного ПЦР. В общем, продукт в пределах между 100 – 600 нуклеотидных пар эффективно амплифицируется во многих разновидностях реакций ПЦР. Если существует сомнение, T продукта можно рассчитать, используя следующую формулу:

$$T_m = 81.5 + 16.6 [K+] + 0.41 (\%G+C) - 675/\text{длина}$$

Специфичность

Как уже упоминалось выше, специфичность праймера, по крайней мере частично, зависит от длины праймера. Очевидно, что суще-

ствуется гораздо больше уникальных олигонуклеотидов из 24 оснований, чем из 15 оснований. Таким образом, праймеры следует выбирать так, чтобы они имели уникальную последовательность, находящуюся внутри матричной ДНК, которую предполагается амплифицировать.

Праймер, сконструированный так, что он содержит высокоповторяющуюся последовательность, в результате даст размазанное пятно при амплификации геномной ДНК. Однако, тот же самый праймер может дать и единичную полосу, если амплифицируется единичный клон из геномной библиотеки. Вследствие того, что Taq ДНК-полимераза активна в широком диапазоне температур, удлинение праймера будет происходить при более низких температурах отжига. Если температура слишком низка, может происходить неспецифическое функционирование праймера, который может расти под действием полимеразы, если имеется короткая гомология у 3' конца.

В целом, температура плавления в 55° - 72°C дает наилучшие результаты (следует отметить, что это относится к длине праймера в 18 – 24 оснований, при использовании правила Wallace).

Комплементарная последовательность праймера

Праймер следует конструировать так, чтобы в нем абсолютно отсутствовала внутренняя гомология, превышающая 3 нуклеотидные пары. Если праймер имеет такой участок само-гомологии, могут создаваться частично двухцепочечные структуры, типа “обратного схлопывания” или “шпилек”, которые будут мешать отжигу с матрицей. Другая относительная опасность – это гомология между праймерами. Частичная гомология в центральных участках двух праймеров может помешать гибридизации. Если гомология встречается у 3' конца любого праймера, будет происходить образование димера, который, чаще всего будет противодействовать образованию желаемого продукта путем конкуренции.

G/C содержание и полипиримидиновые (T, C) или полипуриновые (A, G) протяженные участки

Состав оснований в праймере должен быть между 45% и 55% содержанием GC. Последовательность праймера должна быть выбрана таким образом, чтобы не было поли-G или поли-C протяженных участков, которые могут способствовать неспецифическому отжигу. Поли-A и поли-T протяженных участков тоже следует избегать, так как они будут «дышать» и раскрывать протяженные участки комплекса праймер-матрица. Это может снизить эффективность

амплификации. Не следует допускать также образования полипиримидиновых (Т, С) или полипуриновых (А, G) протяженных участков. Идеально, праймер должен содержать почти случайную смесь нуклеотидов, иметь содержание GC – 50% и длину ~ 20 оснований. Это даст T_m в пределах $56^\circ - 62^\circ\text{C}$.

3'-концевая последовательность

Хорошо известно, что 3' концевая позиция в праймере для ПЦР очень существенна для предотвращения неправильной работы праймера. Проблема гомологии праймера, встречающейся в этих участках уже рассматривалась. Другая переменная, которую следует рассмотреть, это включение G или C остатков на 3' конце праймера. Это «GC» схлопывание помогает обеспечить правильное связывание на 3' конце вследствие существования более сильных водородных связей между G и C остатками. Это также помогает увеличить эффективность реакции путем минимизации любого «дыхания» структуры, которое может происходить.

2. ПЦР-анализ как метод выявления мутаций

С помощью ПЦР и последующего электрофореза продуктов амплификации в полиакриламидном или агарозном геле обнаруживают мутации, изменяющие длину амплифицированных фрагментов. К таким мутациям относятся делеции и инсерции.

Делеции регистрируют по разнице в размерах и числе амплифицированных фрагментов на электрофореграмме нормального и мутантного образцов ДНК. При отсутствии делений на электрофореграмме выявляются все амплифицированные фрагменты в виде соответствующих полос.

Небольшие по размеру делеции и инсерции лишь слегка меняют размеры амплифицированных фрагментов ДНК. Именно так была обнаружена в гене муковисцидоза делеция трех нуклеотидов – $\Delta F508$.

Протяженные деления в генах, находящихся в состоянии гемизиготности, выявляют при электрофорезе продуктов мультиплексной амплификации экзонов, наиболее подверженных такой мутации. Если в исследуемом образце ДНК какие-то экзоны делегированы, то на электрофореграмме соответствующие им полосы отсутствуют. Используя перекрывающиеся участки гена для амплификации, можно оценить размер делеции и определить ее внутривенную локализацию. Этот метод применяют для выявления делеции в гене дистрофина.

Для обнаружения протяженных делений, находящихся в гетеро-

зиготном состоянии, используют мультиплексную ПЦР с обязательной количественной оценкой результатов амплификации (количественная ПЦР). Этот метод основан на амплификации кДНК, полученной путем обратной транскрипции из эктопической мРНК или из мРНК, изолированной из экспрессирующих данный ген тканей или культур клеток пациента. В качестве олигопраймеров для ПЦР используют последовательности из фланкирующих делению экзонов гена. При амплификации будут получены лишь фрагменты мутантной молекулы кДНК, небольшие по размеру вследствие близкого расположения граничащих с делецией экзонов. Участок между фланкирующими делецию экзонами в нормальной молекуле кДНК может быть слишком велик для амплификации при выбранных условиях.

На практике проводят мультиплексную ПЦР с использованием набора олигопраймеров, обеспечивающего амплификацию фрагментов, полностью перекрывающих всю молекулу кДНК. Наличие делеции регистрируют по появлению продуктов амплификации необычного размера.

Выявление мутаций, представляющих собой замену одного или нескольких нуклеотидов, с помощью ПЦР-анализа невозможно: длина мутантного фрагмента ДНК остается прежней; нарушается лишь конформационная структура, а вместе с ней и некоторые физико-химические свойства молекулы ДНК. Для обнаружения мутаций в виде замен используют анализ конформационного полиморфизма одноцепочечной ДНК (SSCP) и метод денатурирующего градиентного гель-электрофореза (DGGE). Еще два метода выявления точковых мутаций – гетедуплексный анализ (НА) и химическое расщепление «некомплементарных сайт» (СМС) – основаны на возникновении структурных нарушений в месте петмологического спаривания при гибридизации нормальной и мутантной цепей ДНК. Все эти методы анализа амплифицированных продуктов (кроме СМС-метода) для точной идентификации точковых замен в обязательном порядке предполагают секвенирование. Схематическое изображение принципов и методов идентификации точковых мутаций представлено на рис. 18.9.

Анализ конформационного полиморфизма одноцепочечной ДНК (SSCP – англ, single strand conformation polymorphism). SSCP-анализ – наиболее часто используемый метод для выявления точковых замен внутри фрагмента ДНК (как правило, размером от 50 до 300 п.н.), полученного в результате ПЦР. Этот метод, предложенный в 1989 году, чрезвычайно эффективен, так как основан на регистрации различий электрофоретической подвижности одноцепочечной ДНК исследуе-

мого и контрольного образцов одинаковых по длине, но различающихся по нуклеотидному составу (см. рис. 18.9, а). Различие в нуклеотидной последовательности обуславливает разницу вторичной конформации одноцепочечных фрагментов, образующихся при денатурации (химической или температурной). Именно от вторичной конформации зависит электрофоретическая подвижность молекул ДНК в полиакриламидном геле. На процесс конформации также влияют различные внешние факторы: температура, концентрация акриламида и глицерина в геле, ионная сила буферных растворов.

Эффективность выявления мутаций этим методом существенно зависит от размера анализируемого фрагмента: при его длине менее 200 п.н. она составляет 80-95%, а при размере более 400 п.н. - около 50%.

После обнаружения фрагмента с измененной электрофоретической подвижностью, как правило, проводится секвенирование первичной последовательности ДНК мутантного фрагмента для определения конкретной нуклеотидной замены.

Гетеродуплексный анализ (НА – англ, heteroduplex analysis). Метод НА позволяет идентифицировать мутации, находящиеся в компаунде (мутации в гомологичных генах различные по молекулярной природе и внутригенной локализации) или в гетерозиготном состоянии. Метод основан на выявлении различий электрофоретической подвижности гомодуплексов и гетеродуплексов, полученных при ПЦР (см. рис, 18.9, б). При амплификации небольших фрагментов генов гетерозигот и гомозиготных компаундов образуются три типа молекул ДНК: два типа гомодуплексов – из двух нормальных и из двух мутантных цепей, и молекулы, несущие мутацию лишь в одной из цепей (гетеродуплексы). Отличие электрофоретической подвижности гетеродуплексных молекул ДНК от обоих типов гомодуплексов обусловлено конформационными особенностями вследствие наличия мест несовпадения нуклеотидов. Вероятность идентификации точечных мутаций методом НА при длине фрагментов ДНК <300 п.н. составляет 90-98%.

Денатурирующий градиентный гель-электрофорез (DGGE – англ, denaturation gradient gel electrophoresis). Метод DGGE – основан на различиях в условиях и характере денатурации нормальных и мутантных двухцепочечных фрагментов ДНК, выявляемых путем сравнения их электрофоретической подвижности в полиакриламидном геле с линейно возрастающим градиентом концентраций денатурирующих агентов (мочевины и формальдегида) (см. рис. 18.9, в).

 нормальная двухцепочечная молекула ДНК
 двухцепочечная молекула ДНК с точковой мутацией

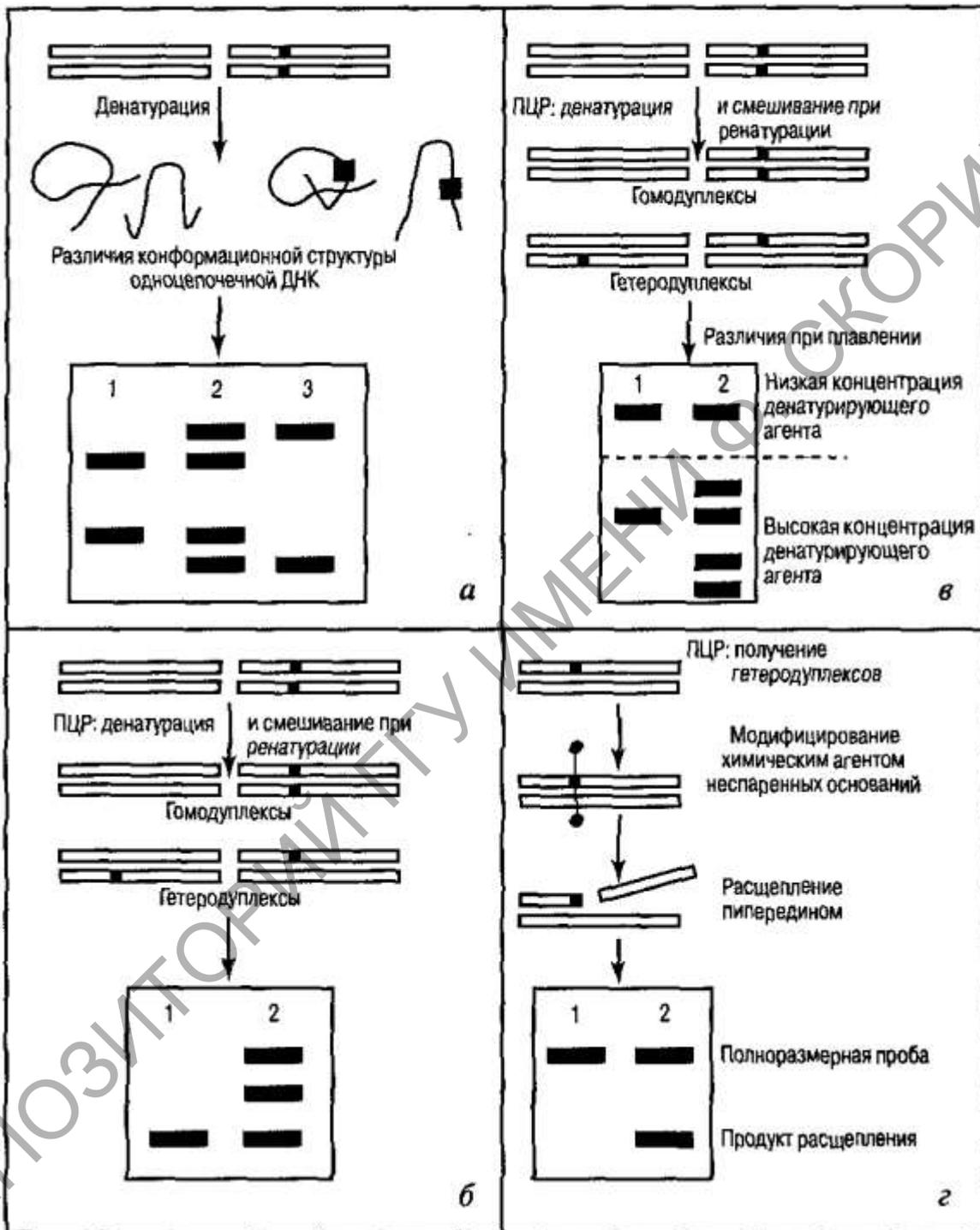


Рисунок 11.2 – Принципы и результаты идентификации точковых мутаций различными методами

а - SSCP-анализ; б - HA-метод; в - DGGE-метод; г) СМС-метод.

Дорожка 1 - образец ДНК нормальной гомозиготы; дорожка 2 - образец ДНК гетерозиготы точковой мутации; дорожка 3 - образец ДНК гомозиготы по точковой мутации

Скорость денатурации (или плавления) зависит от соотношения А–Т/Г–С пар в исследуемых фрагментах (Г–С-связь более устойчива). При известной нуклеотидной последовательности для подбора условий плавления или определения скорости денатурации при выбранном градиенте концентрации применяют специальную компьютерную программу. Плавление двухцепочечных фрагментов ДНК происходит в строго специфичной для данной последовательности области, эквивалентной температуре плавления (температура, при которой каждая пара оснований с 50%-ой вероятностью может соединиться или разойтись). После начала плавления продвижение двухцепочечного фрагмента ДНК в геле резко замедляется, вследствие изменения пространственной конфигурации молекулы, до момента полной денатурации. Скорость дальнейшего продвижения денатурированных фрагментов ДНК зависит от их нуклеотидного состава.

Для предотвращения денатурации концов молекул ДНК до достижения оптимальной области плавления (обусловлено определенным нуклеотидным составом фрагмента ДНК), к концам молекул ДНК присоединяют так называемые зажимы {синтетические фрагменты из GC-нуклеотидов размером в несколько десятков ил.}. Использование GC-зажимов позволяет выявить все мутации, локализованные вблизи концов амплифицированных участков ДНК, и при длине цепи до 600 п.н. эффективность выявления мутаций методом DGGE достигает 95%.

К достоинствам этого метода, отличающим его от SSCP и НА, следует отнести возможность его использования для анализа крупных амплифицированных фрагментов ДНК и высокую чувствительность (позволяет улавливать точковые мутации, возникшие даже в одной из 100 обработанных мутагеном клеток, что используется при анализе индуцированных мутаций). Чаще всего DGGE применяют для скрининга мутаций в амплифицированных экзонах, при этом в качестве матрицы используют геномную ДНК. К недостаткам метода, ограничивающим его широкое применение в диагностике наследственных заболеваний следует отнести техническую сложность получения равномерного градиента концентрации денатурирующего агента в полиакриламидном геле и высокую стоимость искусственно синтезированных GC-концов.

Химическое расщепление некоплементарных сайтов (СМС – от англ, chemical mismatch cleavage). Метод СМС основан на способности ряда химических агентов специфически разрывать цепь ДНК в месте локализации неспаренного основания: например, цитозин чув-

ствителен к действию гидроксиламина, тимин – к действию осмия тетраоксида, а тимин и гуанин – к карбодиимиду. Тестируемые образцы ДНК (или РНК) смешивают с образцом радиоактивно меченного ДНК-зонда и создают условия для образования дуплексов (нагревание с целью полной денатурации и последующее охлаждение). При наличии мутации в тестируемых молекулах образуются гетеродуплексы с участками негомологичного спаривания, что и является мишенью для специфического химического агента. Последующая обработка пиперидином приводит к полному разрыву молекулы ДНК в данной точке и образованию двух коротких фрагментов, обнаруживаемых при электрофорезе (рис. 18.9, г) и последующей радиоавтографии. При определении длины каждого фрагмента не составляет труда установить локализацию мутации. Эффективность выявления мутаций методом СМС при использовании радиоактивно меченных ДНК-зондов составляет 95-100%.

Литература:

1. Saiki, R.K. Enzymatic amplification of β -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia / R.K. Saiki, S.J. Scharf, F. Falloona, K.B. Mullis, G.T. Horn, H.A. Erlich, N. Arnheim // Science, 1985. – Vol. 230. – P. 1350.
2. Mullis, K.B. Specific synthesis of DNA in vitro a Polymerase Catalysed Chain Reaction / K.B. Mullis, F.A. Falloona // Method in Ensymol. – 1987. – Vol. 155. – P. 335-349.
3. Sharrocks, A.D. The design of primers for PCR. In: Griffin, H.G. and Griffin, A.M (Eds.) PCR Technology: Current Innovations. London: CRC Press, 1994. – pp. 5–11.
4. Suggs, S.V. Using Purified Genes. In ICN-UCLA Symp. Developmental Biology / S.V. Suggs, T. Hirose, E.H. Miyake, M.J. Kawashima, K.I. Johnson, R.B. Wallace. – Brown, D.D. Ed., Academic Press, New York, 1981, Vol. 23. – 683 p..
5. Шевченко, В.А. Генетика человека / В.А. Шевченко, Н.А. Топорнина, Н.С. Стволинская. – М.: Владос, 2004. – 240 с.
6. Генетика / Под ред. В.И. Иванова. – М.:ИКЦ Академкнига, 2006. – 638 с.

ЛЕКЦИЯ 9. ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ

1. Особенности генной терапии человека
2. Пути доставки генов
3. Примеры использования генной терапии

1. Особенности генной терапии человека

Генная терапия определяется как терапевтический подход, при котором клетки пациента генетически модифицируются с целью облегчить течение болезни. Существует важное различие между соматической генной терапией, когда модификации вводятся в соматические клетки и ограничены организмом пациента, и зародышевой генной терапией, когда модификации вводятся в клетки, дающие гаметы, и, таким образом, могут передаваться другим поколениям. В настоящее время правовые основы имеет только соматическая генная терапия. Хотя могут существовать неопровержимые аргументы в пользу применения зародышевой генной терапии при некоторых исключительных обстоятельствах (например, когда родитель уверен, что передал своему потомку мутацию, вызывающую болезнь), сама процедура повсеместно запрещена по этическим соображениям.

Известны несколько методов соматической генной терапии, и в зависимости от природы болезни выбирают наиболее подходящий (рисунок 9.1).

Добавление гена. Этот метод генной терапии используется для лечения наследственных болезней, вызываемых потерей продукта функционального гена. Задача терапии – добавить в геном функциональную копию потерянного или мутированного гена и экспрессировать этот ген на достаточном уровне, чтобы восполнить отсутствующий белок. Метод применим лишь в том случае, если последствия болезни обратимы.

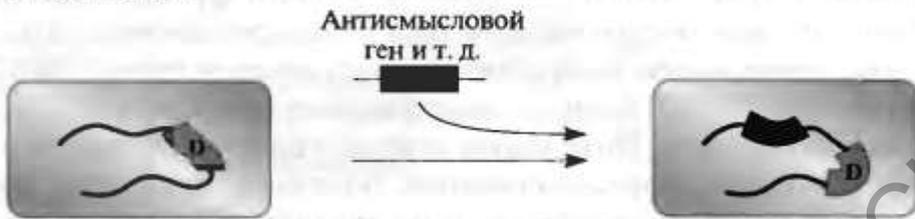
Ингибирование гена. Этот метод генной терапии пригоден для лечения инфекционных и наследственных болезней, рака, если они вызваны неадекватной активностью гена (активность гена чрезмерна). Задача терапии – введение нового гена, продукт которого ингибирует экспрессию патогенного или поврежденного гена или подавляет активность продукта

Заместительная генная терапия. Этот метод генной терапии пригоден для лечения только наследственных заболеваний (ни в коем случае нельзя использовать в случае инфекционных болезней или ра-

1 Добавление гена



2 Ингибирование гена



3 Заместительная генная терапия



4 Помощь в уничтожении специфических клеток



5 Уничтожение специфических клеток путем превращения пролекарства в лекарство

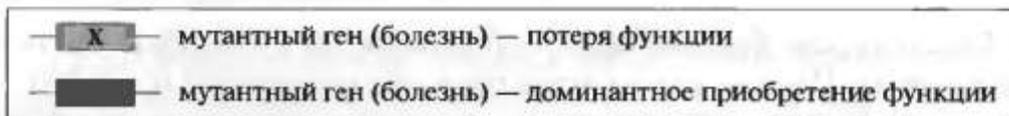


Рисунок 9.1 – Методы генной терапии

ввести нормальную функционирующую копию дефектного целевого гена, а затем заставить экзогенную ДНК рекомбинировать с целевым

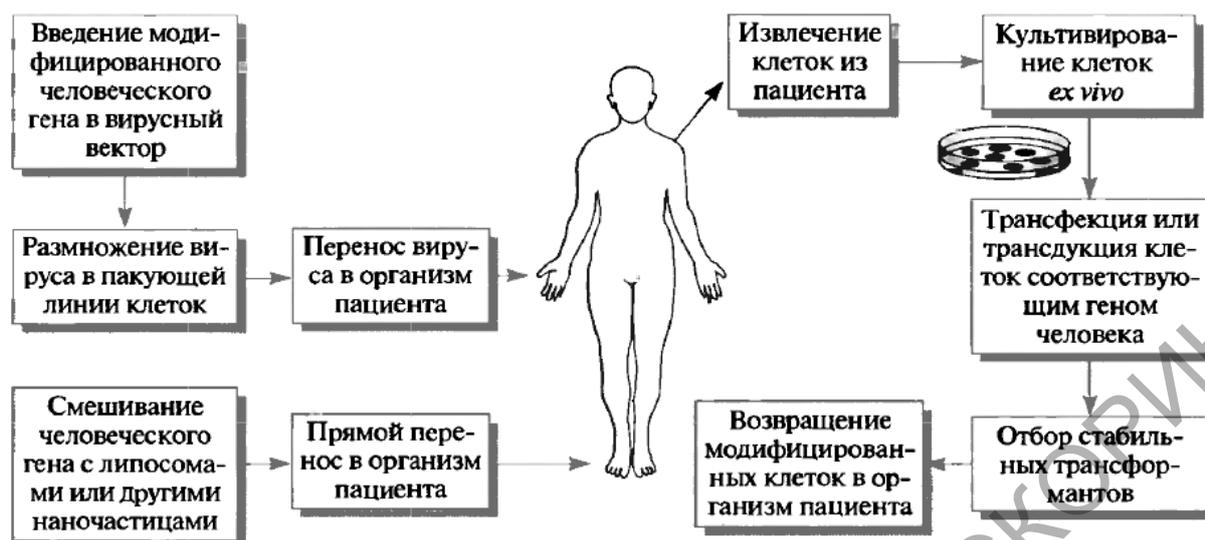
ка), но может быть использован для лечения болезней, характеризующихся как потерей, так и приобретением функции генов. Задача – геном с целью замещения последнего. Потенциально это самый простой путь исправления генетических дефектов, однако он основан на гомологичной рекомбинации, которая в большинстве клеток протекает с крайне низкой эффективностью.

Уничтожение специфических клеток. Этот метод терапии пригоден для лечения болезней (таких как рак), которые можно лечить путем устранения определенных популяций клеток. Основная задача этой терапии – экспрессировать внутри таких клеток ген-самоубийцу, продукт которого токсичен. Один из подходов – экспрессия белка – делает клетки уязвимыми для атаки иммунной системы. Другой подход включает экспрессию фермента, который превращает безвредное вещество (пролекарство) в более токсическое соединение. Из-за летального эффекта, вызываемого генами-самоубийцами, их действие должно быть с особой тщательностью направлено на целевые клетки, чтобы избежать побочных эффектов.

2. Пути доставки генов

Генетические болезни обычно проявляются в специфических популяциях клеток. Иногда, как в случае рака, это происходит из-за того, что вызывающая болезнь мутация присутствует во всех клетках, но эффект ограничен лишь теми клетками, где этот ген экспрессируется (или где нормальная экспрессия гена утрачена). Выбор метода доставки ДНК при генной терапии, следовательно, зависит в значительной степени от доступности соответствующих клеток (рисунок 9.2).

Если есть возможность извлечь и культивировать клетки, не нанося вред пациенту, то их можно генетически модифицировать в культуре, а затем снова ввести в организм пациента. Такой подход, называемый генная терапия *ex vivo*, применим для лечения заболеваний крови и иммунной системы, поскольку гемопоэтические стволовые клетки относительно легко можно извлекать, культивировать и видоизменять. Более того, будучи введенными обратно в организм пациента они сохраняются в течение длительного времени и, следовательно, могут дать неограниченное число (генетически модифицированных) дочерних клеток. Генная терапия *ex vivo* позволяет тщательно контролировать целевые клетки в культуре, так что можно отобрать клетки с нужным типом генетической модификации. В случае недоступных клеток или



9.2 – Подходы генной терапии. Слева — принцип генной терапии *in vivo* с использованием вирусного и невирусного векторов. Справа — принцип генной терапии *ex vivo* с использованием вирусного и невирусного векторов

клеток, которые невозможно эффективно культивировать, генная терапия включает прямое введение ДНК в клетки, находящиеся в организме. Такой подход называется генной терапией *in vivo*, а система доставки гена должна быть эффективной и селективной для конкретного типа клеток-мишеней. Это особенно важно, если задачей является уничтожение данных клеток.

2. Примеры использования генной терапии

Генная терапия - лечение наследственных заболеваний путем введения генов в клетки пациентов с целью направленного изменения генных дефектов или придания клеткам новых функций.

Первым моногенным наследственным заболеванием, в отношении которого были применены методы генной терапии, оказался наследственный тяжёлый комбинированный иммунодефицит (ТКИД), обусловленный мутацией в гене аденозиндезаминазы (ADA).

14 сентября 1990 г. в США четырехлетней девочке Ашанти Де-Сильва, страдающей этим редким заболеванием (10^{-5}), были пересажены ее собственные Т-лимфоциты, предварительно трансформированные вне организма геном ADA при помощи ретровирусного вектора. Лечебный эффект наблюдался в течение нескольких месяцев, после чего процедура была повторена с интервалом 3-5 месяцев. За три года терапии в общей сложности проведены 23 внутривенные трансфузии ADA-трансформированных Т-лимфоцитов без видимых неблагоприятных эффектов. После лечения Ашанти в 25-30% ее Т-лимфоцитах уровень фермента аденозиндезаминазы стал нормальным и сейчас она совершенно здорова. Столь же успешным

оказалось и лечение второй пациентки с этим заболеванием. В настоящее время генная терапия этого заболевания проводится в Италии, Франции, Великобритании и Японии.

Ашани Де-Сильва. Первый человек, вылеченный с помощью генной терапии

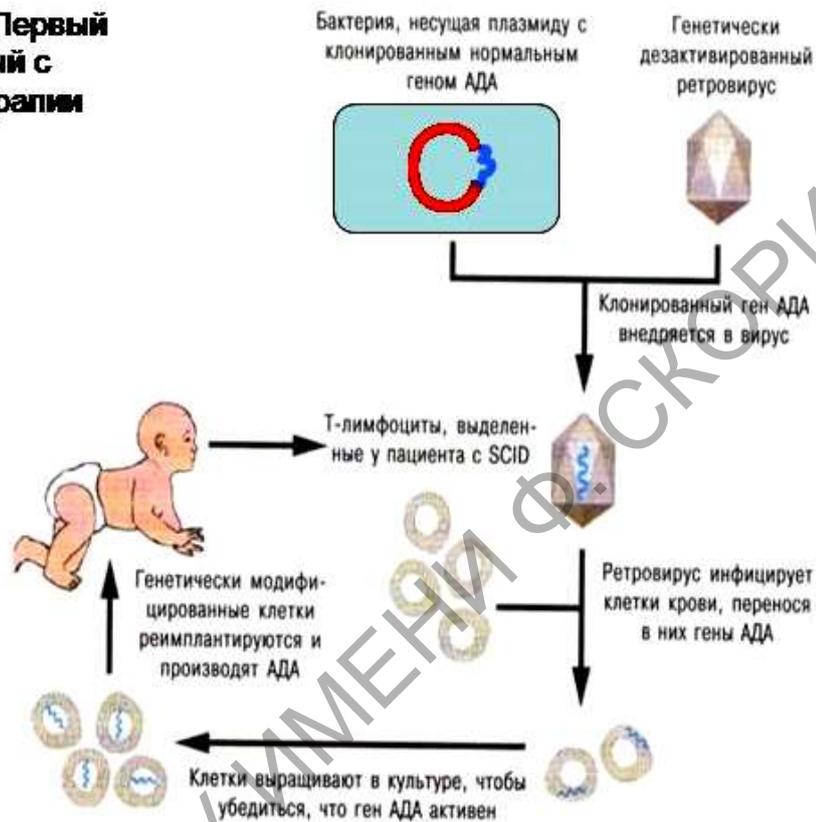


Рисунок 9.3 – Схема генной терапии тяжелого комбинированного иммунодефицита (SCID), вызванного дефектом гена аденозиндезаминазы (АДА)

Генетическая конструкция используемая для генной терапии должна удовлетворять следующим требованиям:

1. Сочетать вирусные и невирусные системы доставки
2. Содержать гидрофобный фрагмент для сродства с мембраной
3. Обеспечивать эффективную доставку чужеродного гена в клетки-мишени, а также длительное его функционирование в этих клетках и создание условий для полноценной работы гена (экспрессии)

В качестве клеток-мишеней чаще всего используются лимфоциты, клетки костного мозга, печени, легких, сердца, скелетных мышц и др.

Прямая инъекция генетического материала – самый простой метод доставки трансгена в клетки *in vivo*, при котором ДНК вводится непосредственно в ткань путем инъекции. Область использования данного метода ограничена такими тканями, как кожа, тимус и поперечно-полосатые мышцы.

Американскими исследователями успешно осуществлено введение векторной конструкции, несущей ген фактора VIII свертываемости крови **больным гемофилией А**. Результаты клинических исследований свидетельствуют, что такое «генное» лечение предупреждает возникновение кровотечений и пациенты с гемофилией А более года не испытывают необходимости в инъекциях фактора. Сейчас на проведение курсов заместительной терапии для одного больного гемофилией А затрачивается 100 тыс. \$ в год. Считается, что новый метод позволит пациентам обходиться без дорогостоящих инъекций 5-10 лет.

Введение генетического материала внутрь кровеносных сосудов, питающих трансфецируемый орган, применяется в первую очередь для лечения болезней печени, почек и мочевыводящих путей. Аэрозольное введение генетического материала в дыхательные пути используется при заболевании легких.

Разрабатывают также методы коррекции дефектных генов (при мутациях, изменяющих небольшой участок ДНК), замены дефектного гена нормальным, методы усиления экспрессии нормального гена, восстановления экспрессии заблокированного гена или методы блокады экспрессии болезнетворного гена.

С точки зрения генной терапии самыми простыми заболеваниями являются **моногенные**, которые требуют работы с одним геном. Например, серповидноклеточная анемия, гемофилия, мышечная дистрофия Дюшена. Ведется разработка экспериментальных подходов и проведение клинических испытаний методов генной терапии почти 30 моногенных заболеваний человека.

Более сложными являются исследования в направлении ряда приобретенных заболеваний, развитие которых обусловлено комплексным взаимодействием генов с факторами окружающей среды – диабета, остеопороза, ревматоидного артрита, рака. Результаты первых клинических испытаний этих подходов оказались в высшей степени обнадеживающими, в особенности при лечении нейродегенеративных и онкологических заболеваний нервной системы.

В настоящее время нет способов для исправления дефектов генетического материала человека, являющихся причиной развития наследственной патологии. Следовательно, отсутствует рациональная этиотропная терапия таких заболеваний, направленная на устранение их основной причины.

При всех наследственных заболеваниях широко применяется симптоматическое лечение, с помощью которого удается в той или

иной мере снизить тяжесть клинической картины болезни. Оно включает применение различных лекарственных препаратов, физиотерапевтическое лечение, климатолечение и др. При некоторых наследственных болезнях такое лечение является единственно возможным способом облегчения развившейся симптоматики.

Некоторых больных с наследственной патологией лечат оперативным путем после рождения, применяя реконструктивную хирургию ("волчья пасть", "заячья губа", заращение анального отверстия, стеноз привратника, косолапость, врожденный вывих тазобедренного сустава, пороки сердца), при необходимости используя трансплантацию тканей и органов. Ряд дефектов, возникших как следствие нарушения генотипа, могут быть устранены только оперативным путем (поражение глаза при ретинобластоме, мекониальный илеус у новорожденных при муковисцидозе).

При заболеваниях, связанных с нарушением обмена веществ (фенилкетонурия, галактоземия, фруктоземия и др.), применяют патогенетическое лечение, которое может значительно исправлять изменения нормального фенотипа индивидуума путем воздействия на биохимический механизм развития болезни. При этом существенное значение имеют сведения о конкретных молекулярных нарушениях звеньев метаболического процесса у того или иного больного.

Примером такого лечения является обсуждавшееся ранее успешное применение диетотерапии для коррекции фенотипа ребенка при фенилкетонурии и галактоземии. В случае нарушения синтеза какого-либо гормона проводят прямую заместительную терапию путем введения этого гормона в организм ребенка. Применяется и внутриутробное лечение заболеваний, таких как резус-несовместимость, галактоземия. Особые надежды возлагаются на терапию плода (фетальную терапию), например, при наличии у него иммунодефицита или α -талассемии.

Наиболее радикальным и эффективным способом лечения наследственных заболеваний человека является генная терапия, возможности которой сегодня интенсивно изучают, экспериментируя на различных биологических моделях (клетках бактерий, растений, животных, человека и др.) и используя в клинической практике.

Принципиальный смысл методов генной терапии состоит в замещении мутантного белка клеток человека, с которым связано развитие болезни, на соответствующий нормальный белок, который будет синтезироваться в таких клетках. С этой целью в клетки больного вводят ген нормального белка (трансген), находящийся в составе ген-

но-инженерной конструкции, т.е. экспериментально сконструированной рекомбинантной молекулы ДНК (на основе молекулы векторной ДНК).

Генная терапия может быть связана с коррекцией генетических дефектов в соматических клетках больного человека либо в зародышевых клетках на ранних стадиях развития зиготы. В настоящее время успешно синтезируются отдельные гены в экспериментах *in vitro*, разработаны различные способы их переноса в клетки человека. Наиболее сложные проблемы генной терапии связаны с механизмами доставки гена в нужные клетки, возможностями его эффективной экспрессии в этих клетках и мерами безопасности организма. Для переноса генов чаще всего используют относительно легко доступные для вмешательства клетки внутренних органов и тканей человека (клетки красного костного мозга, фибробласты, клетки печени, лимфоциты). Такие клетки можно выделить из организма, включить в них нужную генную конструкцию и затем вновь ввести их в организм больного.

Для введения нужных генов в организм человека чаще всего используют вирусные векторы (комплекс вирусная ДНК – ген человека), плазмидные векторы (плазмидная ДНК – ген человека), а также искусственные макромолекулярные системы (транс-ген в составе липосомного комплекса). Ограниченное применение вирусных векторов связано с возможной патогенностью используемых в этих целях вирусов (ретровирусы), их способностью индуцировать иммунный ответ (аденовирусные конструкции). Кроме того, в некоторых случаях встраивание вирусных комплексов в геном человека может быть причиной инсерционных мутаций, приводящих к нарушению активности отдельных генов. Играет отрицательную роль и ограничение размера генетической конструкции, которая включается в геном вируса.

В то же время большинство невирусных комплексов низкотоксично, немутагенно, поэтому их использование более предпочтительно. Однако, они также не лишены недостатков, к которым относится короткое время экспрессии включенных в них генов и отсутствие достаточной специфичности в отношении тех или иных тканей организма.

В настоящее время поиски наиболее оптимальных вариантов генной терапии ведутся в разных направлениях. Так, например, делаются попытки использования искусственно синтезированных фрагментов РНК (РНК-олигонуклеотидов) для блокирования тех или иных комплементарных им участков определенных генов в целях регуля-

ции их функциональной активности ("антисмысловая" терапия). Разработаны методы введения ДНК гибридных плазмид путем их инъекций в мышечные и другие клетки (ДНК-иммунизация) либо с помощью систем ДНК-катионных липосом (комплекс называют геносомой), которые, взаимодействуя с клеточной мембраной, легко проникают в клетки, доставляя туда плазмидную ДНК. Считают также перспективным использование некоторых других искусственных макромолекулярных комплексов невирусной природы (синтетических пептидов, катионных или липидных лигандов, в частности гидрофобных поликатионов), на основе которых созданы системы, обеспечивающие перенос генов в определенные ткани. Следует отметить, что в предпринимаемых попытках генотерапии человека используют разные пути переноса нормальных генов. Такой перенос (трансгенез) осуществляют либо путем введения необходимых генов в выделенные из организма соматические клетки (*in vitro*) с дальнейшим их введением в органы или кровоток, либо проводят прямой трансгенез (*in vivo*), используя рекомбинантный вектор с необходимым геном.

Генная терапия находит применение в лечении различных моногенных, мультифакториальных, инфекционных заболеваний человека и даже при попытках лечения СПИДа. В настоящее время ведутся работы по генной терапии гемофилии, тяжелого комбинированного иммунодефицита с недостаточностью аденозиндезаминазы, миодистрофии Дюшенна, болезни Паркинсона, рака и атеросклероза.

Хороший эффект трансгенеза *in vitro* получен при лечении иммунодефицита с недостаточностью аденозиндезаминазы путем встраивания гена этого фермента человека в моноклеарные клетки периферической крови, извлеченные из организма, с последующим возвращением таких клеток обратно в организм.

Имеются сообщения о возможности лечения методом генной терапии семейной гиперхолестеринемии, причиной которой является недостаточность рецептора липопротеинов низкой плотности. Нормальный ген рецептора липопротеинов вводили в клетки печени больных с помощью ретровирусного вектора *in vitro*, а затем такие клетки возвращали в организм больного. При этом у одного больного удалось получить стойкую ремиссию со снижением уровня холестерина на 50 %.

В настоящее время разрабатывается ряд подходов для лечения некоторых опухолей генно-инженерными методами. Так, например, для лечения меланом используют инфилтрирующие опухоль лимфоциты, в которые введен ген фактора некроза опухоли. При введении

таких лимфоцитов в пораженный организм наблюдается лечебный эффект. Имеются данные о возможности лечения опухолей головного мозга при использовании ретровирусных векторов, которые переносят обладающий лечебным эффектом трансген только в делящиеся клетки опухоли, но не затрагивают при этом нормальные клетки.

Таким образом, в будущем генная терапия может стать одним из ведущих направлений в лечении наследственной патологии человека в связи с возможностью исправлять функции генетического аппарата больного, нормализуя таким образом его фенотип.

Базисные термины и понятия: вирусный вектор; генетическая инженерия; генная терапия; геносoma; ДНК-иммунизация; ДНК-липосомный комплекс; иммунный ответ; патогенетическое лечение; ретровирусы; симптоматическое лечение; структура ДНК-липосомы; трансгеноз; этиотропное лечение.

Генная терапия, направленная на лечение мышечной слабости у пожилых людей и наследственного заболевания миодистрофии вдохновила спортсменов, склонных для достижения высоких спортивных результатов применять допинги. Всемирный антидопинговый комитет даже обратился к ученым с просьбой приостановить проникновение генной терапии в спорт. Речь о высокотехнологическом способе мошенничества в спорте.

Лыжник Эро Мянтюранта, завоевавший в 1964 г II Олимпийские медали, имеет мутацию, повышающую уровень эритроцитов за счет большей чувствительности к эритропоэтину. Есть данные, что один из чемпионов Мира по штанге имел мутацию в гене миостатина.

Продукт синтетического трансгена не отличим от натурального. Естественные комбинации генов тоже могут давать преимущества. Есть опасность, что будущих спортсменов будут отбирать по генетическому статусу

Таким образом, генетическая революция, апофеозом которой явилась генотерапия, не только предлагает пути лечения тяжелых наследственных и ненаследственных заболеваний, но и в своем стремительном развитии ставит перед обществом новые проблемы, решение которых необходимо уже в ближайшем будущем.

Литература:

1. Шевченко, В.А. Генетика человека / В.А. Шевченко, Н.А. Топорнина, Н.С. Стволинская. – М.: Владос, 2004. – 240 с.
2. Щипков, В.П. Общая и медицинская генетика / В.П. Щипков, Г.Н. Кривошеина. – М.: Академия, 2003. – 256 с.

ЛЕКЦИЯ 10. КЛОНИРОВАНИЕ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

1. Открытие клонирования
2. Особенности и этапы клонирования

1. Открытие клонирования

История клонирования начинается в 40-е годы XX в., когда российский эмбриолог профессор **Георгий Викторович Лопашов** разработал **метод пересадки (трансплантации) ядер** в яйцеклетку лягушки. В июне 1948 г. он отправил в “Журнал общей биологии” статью, написанную по материалам собственных экспериментов. Однако на беду Г.В. Лопашова в августе 1948 года состоялась печально известная сессия ВАСХНИЛ и набор статьи Г.В. Лопашова, принятой к печати, был рассыпан, потому что она доказывала ведущую роль ядра и содержащихся в нем хромосом в индивидуальном развитии организмов. Работу Г.В. Лопашова забыли, а в 50-е годы американские эмбриологи **Бриггс** и **Кинг** выполнили сходные опыты, и приоритет достался им.

Затем Джон Гордон из Великобритании усовершенствовал методику и стал удалять из яйцеклетки лягушки собственное ядро и трансплантировать в нее разные ядра, выделенные из специализированных клеток. В дальнейшем он начал пересаживать ядра из клеток взрослого организма, в частности из эпителия (покровные клетки) кишечника. Более того, Дж. Гордон добился того, чтобы яйцеклетки с чужим ядром развивались и в определенном количестве случаев до достаточно поздних стадий. И вот 1–2% особей проходили стадию метаморфоза и превращались во взрослых лягушек (рис. 1).

Однако достижение таких же успехов в опытах с млекопитающими оказалось принципиально иным делом, поскольку клонировать млекопитающего технически гораздо более сложно, чем амфибию. В частности, получить яйцеклетки млекопитающего труднее, чем лягушки, поскольку этих клеток гораздо меньше и для удаления они требуют инвазивной методики. Затем клонированных зародышей требуется пересадить в матку, чтобы вызвать беременность для воспроизводства клона млекопитающего. Поэтому на протяжении многих лет клонирование таких более сложных видов, как млекопитающие, представлялось делом далекого будущего и в целом не интересовало никого, кроме ученых.

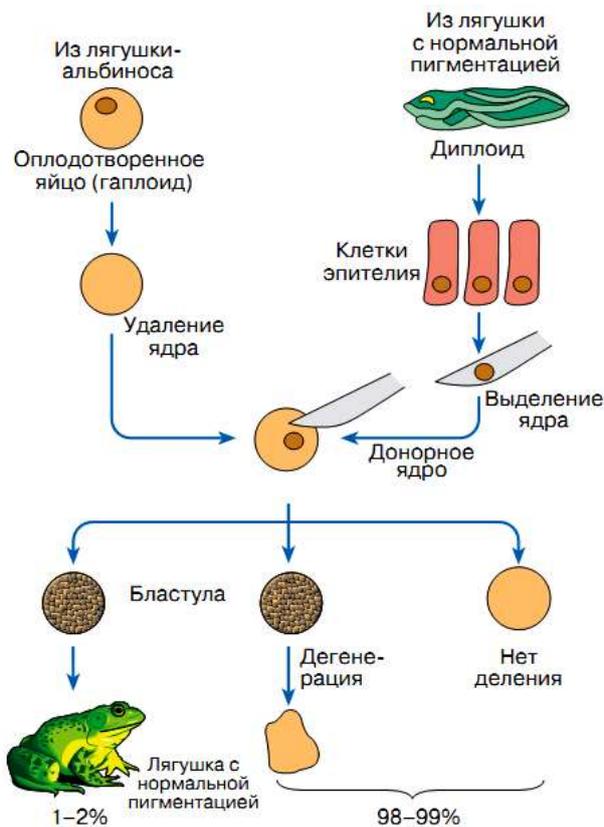


Рис. 1. Сокращенная схема (выпущены серийные трансплантации ядер) получения клонированной лягушки

Рис. 2. а – лягушка – донор ядер, б – одна из клонированных лягушек (для трансплантации были использованы ядра, выделенные из клеток плавательной перепонки донора)

2. Особенности и этапы клонирования

В феврале 1997 года появилось сообщение, что в лаборатории Яна Вильмута в Рослинском институте (Эдинбург, Шотландия) разработали эффективный метод клонирования млекопитающих и на основе его использования получили овечку Долли (рис. 3). Прежде всего, естественно, необходимо было выделить ооциты (яйцеклетки). Их извлекли из овец породы Шотландская черномордая, поместили в искусственную питательную среду с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки при температуре 37° С и провели операцию энуклеации (удаление собственного ядра). После этого возникла задача обеспечения яйцеклетки генетической информацией от организма, который надлежало клонировать. Для этой цели использовали разные клетки донора, но наиболее удобными оказались диплоидные клетки молочной железы взрослой беременной овцы породы Финский дорсет. Эти клетки выводили из стадии роста клеточного цикла, разбав-

ляя сыворотку, и через пять дней сливали с энуклеированным ооцитом. Последний затем активировали к развитию посредством электрического удара. Развивающийся зародыш культивировали в течение 6 дней в искусственной химической среде или яйцевом ооците овцы, перетянутом лигатурой ближе к рогу матки. На стадии морулы или бластоцисты эмбрионы (от одного до трех) трансплантировали в матку приемной матери, где они могли развиваться до рождения.

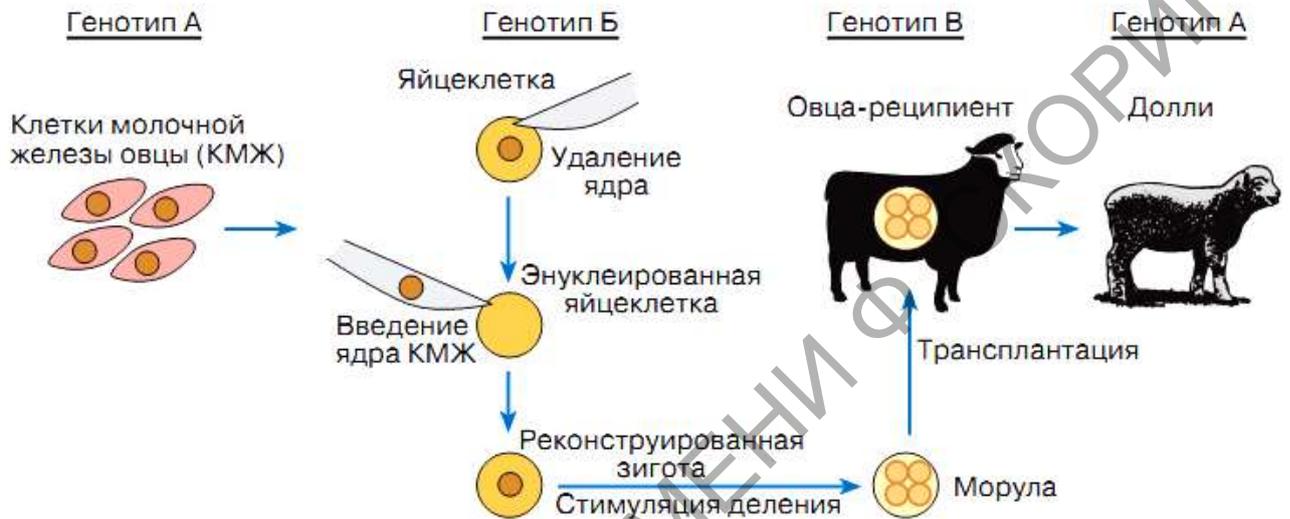
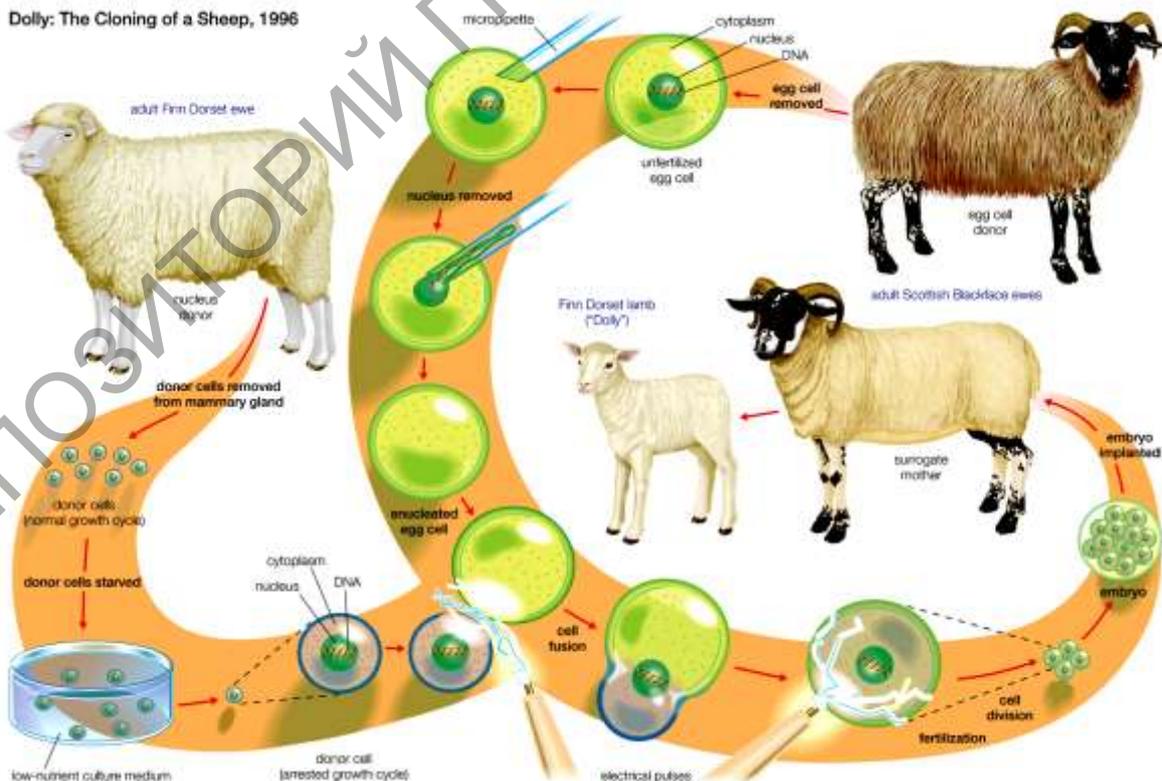


Рис. 3. Принцип получения клона млекопитающих, использованный в опытах Яна Вильмута. Цитоплазма яйцеклетки и клетки донора окрашены в разный цвет

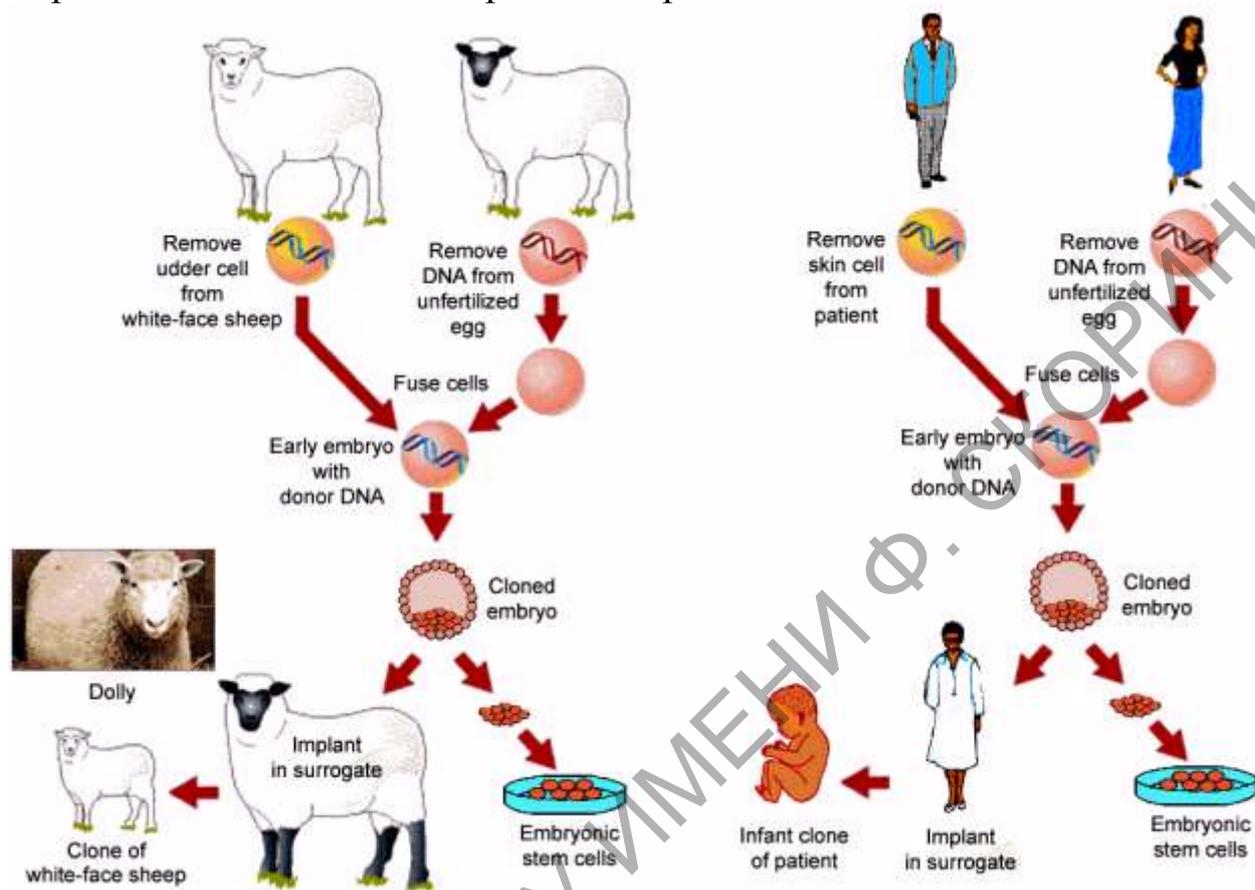


Из 236 опытов успех сопутствовал лишь одному, в результате которого и родилась овечка Долли, содержащая генетический материал взрослой овцы, умершей три года назад. Авторы использовали некоторые методы, чтобы сопоставить геном овец-доноров и реципиентов, в частности метод определения так называемых микросателлитных последовательностей ДНК, который позволяет идентифицировать личность объекта наподобие отпечатков пальцев, хотя и с гораздо меньшей степенью точности. После этого Вильмут заявил, что технически возможно осуществить и клонирование человека, но в этом случае возникают моральные, этические и юридические проблемы, связанные с манипуляциями над эмбрионами человека.

После рождения Долли путем клонирования появилось много животных. Успешно были клонированы свиньи, овцы, кошки, грызуны и, совсем недавно, мул (но пока не собаки и не обезьяны). Клонированный мул привлек к себе особое внимание, поскольку этот биологический вид – помесь лошади и осла – в нормальных условиях не может иметь потомства. Примечательно, что клонирование не всегда приводит к внешнему сходству, как обстояло дело с клонированной в 2001 г. домашней кошкой, которая своим окрасом отличается от генетического донора. За окрас кошки "отвечают" несколько генов, присутствующих в X-хромосоме, и некоторые из них произвольно теряют активность в ходе развития зародыша кошек-самок, поскольку у них две X-хромосомы. Таким образом, некоторые клетки, даже полученные у одного и того же донора, будут "окрашивать" кошку в черный цвет при подавлении других цветообразующих генов, тогда как другие клетки, помещенные в энуклеированное ядро и развившиеся в клетка, дадут рыжий окрас.

Таким образом, клонирование животных представляло бы интерес для некоторых отраслей фармацевтической промышленности и производства продуктов питания, если бы смогло обеспечить постоянный выпуск высококачественной рыночной продукции, такой, как молоко или мясо, терапевтических белков из козьего или коровьего молока либо белка куриного яйца (так называемый "фарминг") или даже внутренних органов свиньи для пересадки человеку без риска отторжения его иммунной системой. В 1997 г. биотехнологическая компания PPL Therapeutics Inc. совместно с Розлинским институтом клонировала овцу по кличке Полли из генетически измененной зародышевой клетки. В молоке Полли содержится белок, вызывающий свертывание крови человека, который может быть использован для лечения гемофилии. Международные нормы регулирования такой ме-

тодики пока что не установлены, а те или иные эксперименты по клонированию животных тем временем продолжаются.



Литература:

1. Шевченко, В.А. Генетика человека / В.А. Шевченко, Н.А. Топорни-на, Н.С. Стволинская. – М.: Владос, 2004. – 240 с.

2 ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

2.1 Перечень лабораторных работ

Лабораторное занятие 1 Генеалогический метод. Анализ родословных	122
Лабораторное занятие 2 Закономерности наследования групп крови человека	127
Лабораторное занятие 3 Изучение наследственных заболеваний с различными типами наследования	130
Лабораторное занятие 4 Установление генотипа человека молекулярно-генетическими методами. Амплификация фрагментов ДНК гена ACE	133
Лабораторное занятие 5 Установление генотипа человека молекулярно-генетическими методами. Амплификация фрагментов ДНК гена ACE	135
Лабораторное занятие 6 Генная дактилоскопия человека, на примере генов ACE и ACTN3	137
Лабораторное занятие 7 Распространение аллелей системы группы крови АВО. Расы человека	147

ЗАНЯТИЕ 1

Генеалогический метод. Анализ родословных

ЦЕЛЬ: Ознакомиться с генеалогическим методом, закрепить полученные знания путем решения задач по анализу родословных

1. Теоретическая часть

Суть генеалогического метода заключается в составлении родословной и последующий ее анализ. Впервые такой подход был предложен английским ученым Ф. Гальтоном в 1865 г. Генеалогический метод включает два этапа: *составление родословных* и их *генеалогический анализ*.

Составление родословной

Сбор сведений о семье начинается с человека, называемого *пробандом*. Обычно это больной с изучаемым заболеванием. Дети одной родительской пары называются *сибсами* (братья-сестры). В большинстве случаев родословная собирается по одному или нескольким признакам. Родословная может быть полной или ограниченной. Чем больше поколений прослежено в родословной, тем она полнее и тем выше шансы на получение полностью достоверных сведений. Сбор генетической информации проводится путем опроса, анкетирования, личного обследования семьи. Опрос начинается обычно с родственников по материнской линии: бабушки и дедушки по материнской линии, с указанием внуков, детей каждого ребенка бабушки и дедушки. В родословную вносят сведения о выкидышах, абортах, мертворожденных, бесплодных браках и др.

При составлении родословной ведется краткая запись данных о каждом члене рода с указанием его родства по отношению к пробанду. Обычно указываются: фамилия, имя и отчество, дата рождения и смерти, возраст, национальность, место жительства семьи, профессия, наличие хронических заболеваний в семье, причину смерти умерших и др.

После сбора сведений составляют графическое изображение родословной, используя систему условных обозначений (рис.).

Выполняя эту работу, важно соблюдать следующие правила:

1. Составление родословной начинают с пробанда. Братья и сестры располагаются в порядке рождения слева направо, начиная со старшего.
2. Все члены родословной располагаются строго по поколениям в один ряд.
3. Поколения обозначаются римскими цифрами слева от родословной сверху вниз.
4. Арабскими цифрами нумеруется потомство одного поколения (один ряд) слева направо.

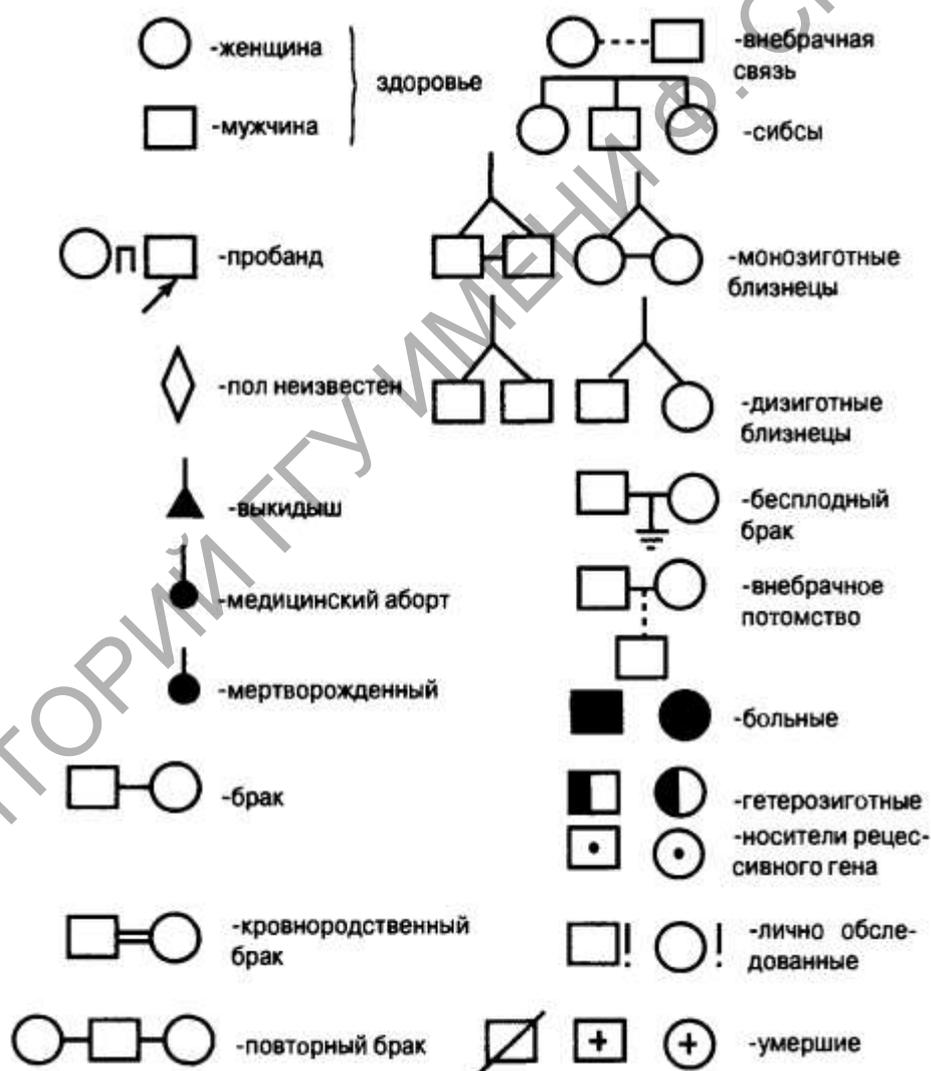
5. В связи с тем, что некоторые болезни проявляются в разные периоды жизни, указывается возраст членов семьи.

6. Отмечаются лично обследованные члены родословной.

Графическое изображение родословной может быть вертикально-горизонтальным или расположенным по кругу (в случае обширных данных). Схема родословной сопровождается описанием обозначений под рисунком, которое называется легендой.

Генетический анализ родословной

Задача генетического анализа - установление наследственного характера заболевания и типа наследования, выявление гетерозиготных носителей мутантного гена, а так же прогнозирование рождения больных детей в семьях с наследственной патологией.



Анализ родословной включает следующие этапы:

1. Установление, является ли данный признак или заболевание единственным в семье или имеется несколько случаев (семейный характер). Если признак встречается несколько раз в разных поколениях, то можно предполагать, что этот признак имеет наследственную природу.

2. Определение типа наследования признака. Для этого анализируют родословную, учитывая следующие моменты: 1) встречается ли изучаемый признак во всех поколениях и многие ли члены родословной обладают им; 2) одинакова ли его частота у лиц обоих полов и у лиц какого пола он встречается чаще; 3) лицам какого пола передается признак от больного отца и больной матери; 4) есть ли в родословной семье, в которых у обоих здоровых родителей рождались больные дети, или у обоих больных родителей рождались здоровые дети; 5) какая часть потомства имеет наследуемый признак в семьях, где болен один из родителей.

В зависимости от типа наследования общая картина родословной выглядит по-разному.

Существуют следующие типы наследования морфологических признаков:

- * аутосомно-доминантный;
- * аутосомно-рецессивный;
- * сцепленный с X-хромосомой (с полом) доминантный;
- * сцепленный с X-хромосомой (с полом) рецессивный;
- * голландрический.

В настоящее время генеалогический метод широко используется в практике медико-генетического консультирования. С его помощью устанавливается, главным образом, тип наследования заболевания и определяется, если это возможно, примерный генотип пробанда, а также его близких родственников, и, самое главное, рассчитывается вероятность проявления болезни в потомстве пробанда.

Для заболеваний характерны те же типы наследования, что и для морфологических признаков.

Аутосомно-доминантный тип наследования:

1. Больные встречаются в каждом поколении.
2. Болеют в равной степени и мужчины, и женщины.
3. Больной ребенок рождается у больных родителей с вероятностью 100%, если они гомозиготны, 75%, если они гетерозиготны.
4. Вероятность рождения больного ребенка у здоровых родителей 0%.

Аутосомно-рецессивный тип наследования:

1. Больные встречаются не в каждом поколении.
2. Болеют в равной степени и мужчины, и женщины.
3. Вероятность рождения больного ребенка у здоровых родителей 25%, если они гетерозиготны; 0%, если они оба, или один из них, гомозиготны по доминантному гену.
4. Часто проявляется при близкородственных браках.

Сцепленный с X-хромосомой (с полом) доминантный тип наследования:

1. Больные встречаются в каждом поколении.
2. Болеют в большей степени женщины.
3. Если отец болен, то все его дочери больны.
4. Больной ребенок рождается у больных родителей с вероятностью 100%, если мать гомозиготна; 75%, если мать гетерозиготна.
5. Вероятность рождения больного ребенка у здоровых родителей 0%.

Сцепленный с X-хромосомой (с полом) рецессивный тип наследования:

1. Больные встречаются не в каждом поколении.
2. Болеют, в основном, мужчины.
3. Вероятность рождения больного мальчика у здоровых родителей 25%, больной девочки – 0%.

Голандрический тип наследования:

1. Больные встречаются в каждом поколении.
2. Болеют только мужчины.
3. Если отец болен, то все его сыновья больны.
4. Вероятность рождения больного мальчика у больного отца равна 100%.

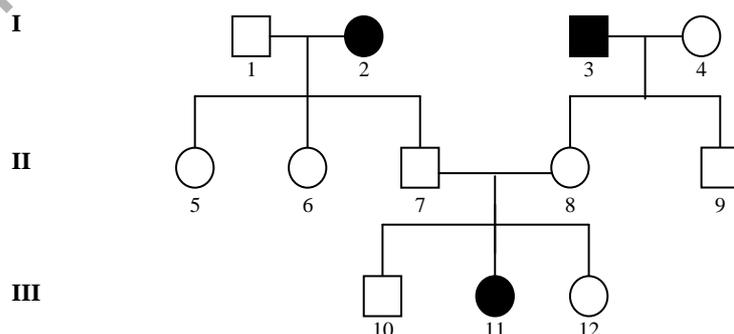
2. Ключевые слова и понятия

Составление родословных Генеалогический анализ Ф. Гальтоном Аутосомно-доминантный тип наследования	Сцепленный с полом рецессивный тип наследования Голандрический тип наследования Пробанд Сибсы
---	--

3. Практическая часть

Закрепить полученные знания путем решения задач по анализу родословных.

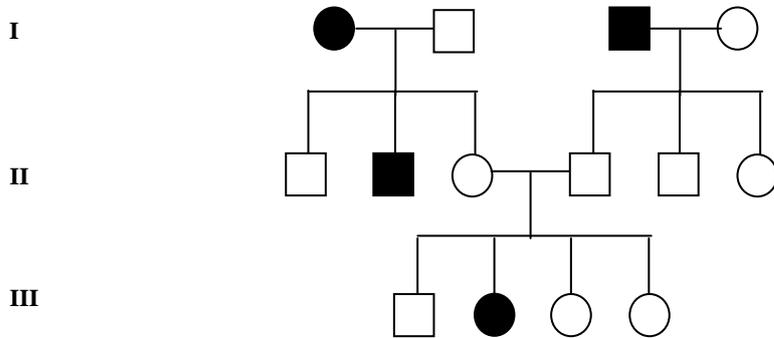
3.1. Рассмотрите приведенную ниже родословную.



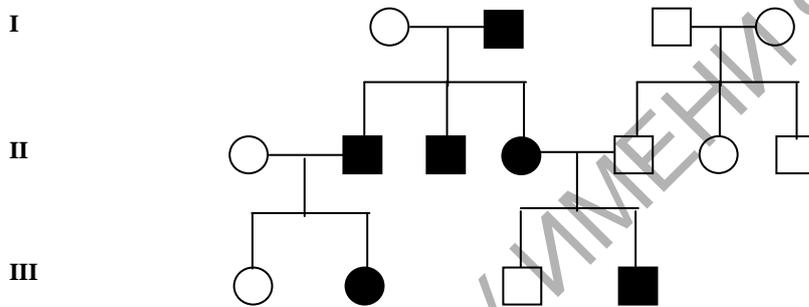
Определите характер наследования голубоглазости и, по возможности, укажите генотип родителей и потомства.

3.2. Рассмотрите приведенные ниже родословные и определите характер наследования указанных там признаков:

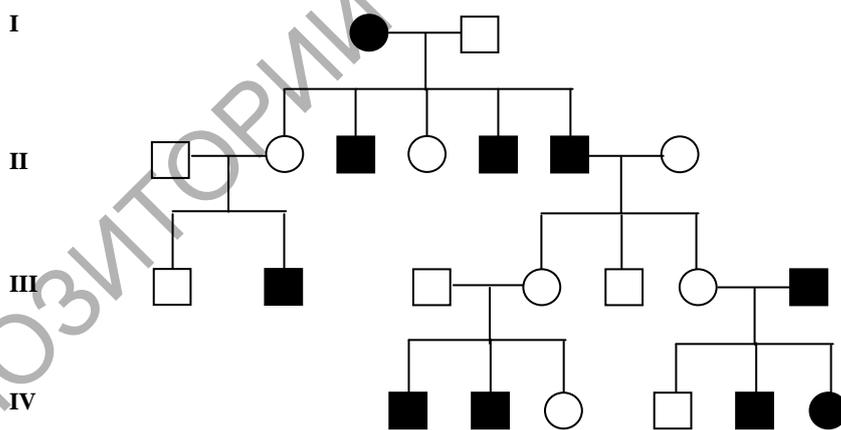
а) Леворукость



б) Пятнистость (на коже и волосах белые пятна)



в) Атрофия зрительного нерва



ЗАНЯТИЕ 2

Закономерности наследования групп крови человека

ЦЕЛЬ: Ознакомиться с основными закономерностями наследования групп крови человека, закрепить полученные знания путем решения задач

1. Теоретическая часть

Генетико-физиологическая характеристика системы АВ0

В 1900 г. К Ландштейнер описал систему групп крови АВ0. В 1924 г. Ф. Бернштейн установил, что АВ0-система групп крови контролируется серией множественных аллелей одного локуса.

Известно, что наиболее изученной является система групп крови АВ0, определяющая I (0), II (A), III (B) и IV (AB) группы крови. На поверхности эритроцитов могут находиться агглютиногены (антигены) А и В, а в плазме крови – агглютинины (антитела) а и b. В норме одноименные агглютиногены и агглютинины совместно не обнаруживаются. Нужно отметить, что А- и В-антигены образуют многочисленный ряд антигенов ($A_1, A_2 \dots A; B_1, B_2 \dots B$).

В системе АВ0 синтез агглютиногенов и агглютининов определяется аллелями гена $I: I^0, I^A, I^B$. Ген I контролирует и образование антигенов, и образование антител. При этом наблюдается полное доминирование аллелей I^A и I^B над аллелем I^0 , но совместное доминирование (кодминирование) аллелей I^A и I^B . Соответствие генотипов, агглютиногенов, агглютининов и групп крови (фенотипов) можно выразить в виде таблицы:

Генотипы	Антигены (агглютиногены)	Антитела (агглютинины)	Группы крови (фенотипы)
I^0I^0	нет	a, b	I (0)
I^AI^A, I^AI^0	A	b	II (A)
I^BI^B, I^BI^0	B	a	III (B)
I^AI^B	A, B	<i>нет</i>	IV (AB)

Если по каким-либо причинам агглютиноген А встречается с агглютинином а или агглютиноген В встречается с агглютинином b, то происходит реакция агглютинации – склеивания эритроцитов. В дальнейшем агглютинированные эритроциты подвергаются гемолизу (разрушению), продукты которого ядовиты.

Из-за кодоминирования наследование групп крови системы АВ0 происходит сложным образом. Например, если мать гетерозиготна по **II** группе крови (генотип $I^A I^0$), а отец гетерозиготен по **III** группе крови (генотип $I^B I^0$), то в их потомстве с равной вероятностью может родиться ребенок с любой группой крови. Если у матери **I** группа крови (генотип $I^0 I^0$), а у отца **IV** группа крови (генотип $I^A I^B$), то в их потомстве с равной вероятностью может родиться ребенок или со **II** (генотип $I^A I^0$), или с **III** (генотип $I^B I^0$) группой крови (но не с **I**, и не с **IV**).

Генетико-физиологическая характеристика резус-фактора

Резус-система (**Rhesus**) определяется тремя сцепленными генами (*CDE*); все эти гены локализованы в 1-й хромосоме. Наиболее сильным антигеном резус-системы является антиген RhD, который контролируется соответствующим геном *D*. При этом резус-положительная группа крови доминирует над резус-отрицательной.

Наследование резус-фактора происходит сложным образом, но, учитывая ведущую роль гена *D*, его можно представить как моногенное наследование с полным доминированием: при генотипе *DD* или *Dd* резус положительный (**Rh⁺**), а при генотипе *dd* – отрицательный (**Rh⁻**). Соответствие генотипов, антигенов, антител и групп крови можно отразить в виде таблицы:

Генотипы	Антигены	Нормальные антитела	Иммунные антитела	Группы крови (фенотипы)
<i>DD, Dd</i>	есть	нет	нет	Rh⁺
<i>dd</i>	нет	нет	есть	Rh⁻

Переливание резус-положительной крови человеку с резус-отрицательной группой крови приводит к развитию иммунной реакции на резус-антиген: синтезируются резус-антитела, то есть происходит иммунизация организма против резус-антигена. Этот процесс продолжается в течение 2...4 месяцев. Резус-антитела сохраняются в сыворотке длительное время. Если иммунизированному человеку перелить резус-положительную кровь, то резус-антитела разрушают резус-положительные эритроциты, что приводит к гемолитическому шоку, а нередко – и к смерти человека.

2. Ключевые слова и понятия

К Ландштейнер Ф. Бернштейн Система групп крови АВ0	Резус-фактор Агглютиноген Агглютинин
---	---

3. Практическая часть

Закрепить полученные знания путем решения задач по анализу групп крови.

3.1 У родителей, имеющих третью и первую группы крови, родился ребенок с первой группой крови. Какова вероятность того, что их следующий ребенок будет иметь первую группу крови?

3.2 Одна пара супругов имеет II и III группы крови, вторая – III и IV. У ребенка I группа. Определите, чей это ребенок.

3.3 У родителей II и III группы крови. Какие группы крови можно ожидать у детей?

3.4 У мальчика группа крови АВ, резус положительный, а у его брата – О, резус отрицательный. Каковы группы крови у родителей?

3.5 Мать со II группой крови имеет ребенка с I группой крови. Установите возможные группы крови отца.

3.6 У матери I группа крови, у отца – IV. Могут ли дети унаследовать группу крови одного из своих родителей?

3.7 У мальчика I группа крови, а у его сестры – IV. Определите группы крови родителей.

3.8 В семье, где жена имеет I группу крови, а муж – IV, родился сын-дальтоник с III группой крови. Оба родителя различают цвета нормально.

Определите вероятность рождения здорового сына и его возможные группы крови. Дальтонизм наследуется как рецессивный, сцепленный с X-хромосомой признак.

3.9 У родителей со II группой крови родился сын с I группой крови и гемофилик. Оба родителя не страдают этой болезнью.

Определите вероятность рождения второго ребенка здоровым и его возможные группы крови. Гемофилия наследуется как рецессивный, сцепленный с X-хромосомой признак.

3.10 Женщина с группой крови В возбудила дело о взыскании алиментов против мистера М с группой крови О, утверждая, что он отец ее ребенка. Ребенок имеет группу крови О. Какое решение должен вынести суд?

ЗАНЯТИЕ 3

Изучение наследственных заболеваний с различными типами наследования

ЦЕЛЬ: Ознакомиться с основными закономерностями наследования заболеваний с различными типами наследования, закрепить полученные знания путем решения задач

1. Теоретическая часть

Законы Менделя

1-й закон Менделя – закон единообразия гибридов первого поколения.

При скрещивании гомозиготных особей, отличающихся по одной паре альтернативных признаков, все гибриды первого поколения будут единообразны по генотипу (гетерозиготны) и фенотипу.

Правило чистоты гамет.

При гаметогенезе у гетерозигот в каждую из гамет с равной вероятностью переходит один из двух аллелей.

2-й закон Менделя – закон расщепления.

При скрещивании гибридов первого поколения между собой во втором поколении появляются особи как с доминантными, так и с рецессивными признаками; происходит расщепление по фенотипу в соотношении 3:1 и 1:2:1 – по генотипу.

3-й закон Менделя – закон независимого наследования отдельных признаков.

При скрещивании гомозиготных особей, отличающихся по двум парам альтернативных признаков, во втором поколении происходит независимое комбинирование признаков и появляются гибриды с признаками, нехарактерными для родительских (P_2) и прародительских (P_1) особей. В результате дигибридного скрещивания все первое поколение единообразно. Во втором поколении происходит расщепление по фенотипу 9:3:3:1.

Условия выполнения законов Менделя

1 Подразумевается *моногенное наследование*. Это означает, что за один признак отвечает один ген. Тогда выстраивается логическая цепочка: «один ген – один полипептид; один полипептид – один фермент; один фермент – одна реакция; одна реакция – один признак».

2 Гены, отвечающие за развитие разных признаков (например, А и В) не влияют друг на друга, не взаимодействуют между собой.

3 Гены, отвечающие за развитие разных признаков (например, А и В), не сцеплены между собой, а сочетания их аллелей образуются случайным образом в равных соотношениях.

4 Выполняется правило чистоты гамет (правило чистоты гамет не является законом).

5 Равновероятность встречи гамет и образования зигот.

6 Жизнеспособность особей не зависит от их генотипа и фенотипа.

7 Законы Менделя носят *статистический характер*: отклонение от теоретически ожидаемого расщепления тем меньше, чем больше число наблюдений.

8 Каждому генотипу соответствует определенный фенотип (100%-ная *пенетрантность признаков*).

9 У всех особей с данным генотипом признак выражен в равной степени (100%-ная *экспрессивность признаков*).

10 Изучаемые признаки не сцеплены с полом.

При несоблюдении перечисленных условий наследование признаков приобретает более сложный характер.

Примечания

1 Правило чистоты гамет сформулировал английский генетик У. Бэтсон.

2 Принцип «один ген – один фермент» сформулировали американские генетики Дж.Бидл и Э.Тэйтум, изучавшие обмен веществ у плесневого грибка нейроспоры.

3 Понятия «пенетрантность» и «экспрессивность» ввел российский генетик Н.В. Тимофеев-Ресовский.

2. Ключевые слова и понятия

Г. Мендель Законы Менделя	Сцепленное с полом наследование Закон Нассе
--	--

3. Практическая часть

Закрепить полученные знания путем решения задач по закономерностям наследования заболеваний с различными типами наследования.

3.1 Голубоглазый мужчина, родители которого имели карие глаза, женился на кареглазой женщине, у отца которой глаза были голубые, а у матери карие. Какое потомство можно ожидать от этого брака, если известно, что ген карих глаз доминирует над геном голубых?

3.2 Миоплегия (периодически повторяющиеся параличи конечностей) передается по наследству как доминантный признак.

Определите вероятность рождения детей с аномалиями в семье, где отец гетерозиготен, а мать не страдает миоплегией.

3.3 Фенилкетонурия характеризуется слабоумием при избытке фенилаланина в крови из-за отсутствия фермента, расщепляющего данную аминокислоту, и наследуется как рецессивный признак.

Какими могут быть дети в семье, где родители гетерозиготны по этому признаку?

3.4 Галактоземия наследуется как аутосомный рецессивный признак. Это заболевание углеводного обмена, обусловленное неспособностью использовать галактозу. Характеризуется накоплением в крови галактозы и отставанием в физическом и умственном развитии.

Какова вероятность рождения больных детей в семье, где один из супругов гомозиготен по гену галактоземии, но развитие болезни у него предотвращено диетой, а второй гетерозиготен по галактоземии?

3.5 У человека полидактилия (шестипалость) детерминирована доминантным геном *P*.

От брака гетерозиготного шестипалого мужчины с женщиной с нормальным строением руки родилось два ребенка: пятипалый и шестипалый. Каков генотип этих детей?

Гомозиготный шестипалый мужчина женился на пятипалой женщине. От этого брака родился один ребенок. Какой его фенотип и генотип?

3.6 У человека доминантный ген *A* детерминирует ахондроплазию (карликовость) за счет резкого укорочения скелета конечностей. Его аллель – рецессивный ген *a* – обуславливает нормальное строение скелета. Женщина, имеющая нормальное строение скелета, вышла замуж за мужчину, гетерозиготного по ахондроплазии. Какова вероятность рождения ребенка с ахондроплазией?

Женщина с нормальным строением скелета вышла замуж за мужчину, гомозиготного по ахондроплазии. Какова вероятность того, что их ребенок будет страдать ахондроплазией?

3.7 У человека ген, вызывающий одну из форм наследственной глухонемой, рецессивен по отношению к гену нормального слуха.

1. Какое потомство можно ожидать от брака гетерозиготных родителей? 2. От брака глухонемой женщины с нормальным мужчиной родился глухонемой ребенок. Определите генотипы родителей.

3.8 У человека способность ощущать вкус фенилтиомочевины (ФТМ) является доминантным признаком. «Ощущающие» индивидуумы (*TT* или *Tt*) воспринимают как чрезвычайно горькие, даже очень сильно разбавленные растворы ФТМ, тогда как «неощущающие» не воспринимают вкус этого вещества и в гораздо более высоких концентрациях.

а) Каковы генотипы супругов, если сами они ощущают вкус ФТМ, а один из их трех детей является «неощущающим»?

б) Каких фенотипов и в каких отношениях можно ожидать в потомстве от следующих скрещиваний:

гетерозигота х гетерозигота,

гомозиготный «ощущающий» индивидуум х гетерозигота,

гетерозигота х «неощущающий» индивидуум?

ЗАНЯТИЕ 4

Установление генотипа человека молекулярно-генетическими методами. Выделение геномной ДНК из эукариотических клеток

ЦЕЛЬ: Ознакомиться с методами выделения геномной ДНК из эукариотических клеток, выделить образец ДНК

1. Теоретическая часть

Чтобы провести молекулярный анализ ДНК, нужно, прежде всего, получить их в чистом виде. Источником выделения ДНК служат любые ядродержащие клетки. Наиболее часто при работе с материалом человека используют лейкоциты, буккальные клетки (клетки эпителия щеки). В зависимости от того, какие клетки будут использованы, необходимо подобрать оптимальные методы выделения, позволяющие получить максимально возможное количество чистого продукта.

Отбор образца ДНК должен проходить до еды или питья, или же спустя два часа после него, следует избегать приема теплых или горячих жидкостей перед отбором образца!

После гигиены полости рта (тщательно сполоснуть рот водой) чистыми руками взять ватный аппликатор (щеточку) и держа его за пластиковый стержень, потереть наконечником с внутренней стороны щечных поверхностей возвратно-поступательными движениями в течение 10 секунд, вращая ватную палочку, собрать клетки эпителия внутренней стороны щеки, при этом стараясь избегать попадания на палочку большого количества слюны (избегая контакта с зубами и медленно поворачивая наконечник для сбора клеток).

Данную процедуру повторить еще с двумя ватными палочками. Ватные палочки оставить до полного высыхания при комнатной температуре (1,5-2 часа), после чего поместить в стерильный пакет с замком (зип-пакет). Зип-пакет с использованными ватными палочками и заполненное заявление на генетические исследования поместить в бумажный конверт.

ДНК из собранных клеток должна быть выделена в течение 24 часов.

Ниже приводится СТАВ-метод, модифицированный для выделения ДНК из буккальных клеток.

Упрощенный СТАВ-метод выделения ДНК

Выделение ДНК из исследуемых образцов проводилось с использованием СТАВ-метода, модифицированного для выделения ДНК. Данная модификация превосходит оригинальный вариант СТАВ-метода, сокращая время исследования до 1,5 часов.

1. Гомогенизация.

Ватную палочку, содержащую буккальный эпителий, поместить в центрифужные пробирки типа «Eppendorf» объемом 1,5 мл, содержащие 500 мкл экстрагирующего буфера ($T = 65^{\circ}\text{C}$), следующего состава: 2% р-р бромида цетилтриметиламмония (СТАВ); 0,1 М р-р Трис; 1,4 М р-р хлорида натрия; 20 мМ р-р трилона Б, (рН буфера доводят HCl до значения 8,0). Затем в течение 5-10 минут встряхивать на вортексе при комнатной температуре. После этого ватную палочку удалить из пробирки тщательно отжав о стенки пробирки. Далее пробирки необходимо поместить в твердотельный термостат и инкубировать в течение 5 мин при $T = 65^{\circ}\text{C}$.

2. Очистка.

После этапа экстракции в каждую пробирку добавить 400 мкл хлороформа (объемное соотношение 1:1). Содержимое перемешать на горизонтальном шейкере (800 мин⁻¹) в течение 10 мин. при комнатной температуре и центрифугировать при 13000xg ($T = 18-20^{\circ}\text{C}$) в течение 5-10 мин.

3. Осаждение.

По окончании центрифугирования дозатором перенести по 300 мкл супернатанта с каждой пробирки в новые центрифужные пробирки типа «Eppendorf» объемом 1,5 мл, добавить 210 мкл изопропилового спирта (объемное соотношение 1:0,7, комн. темп.). Содержимое перемешать на вихревом смесителе (400 мин⁻¹) и оставить на 5 мин. при комнатной температуре. Далее пробирки центрифугировать при 13000xg ($T = 18-20^{\circ}\text{C}$) в течение 10 мин.

Супернатант слить, полученный осадок ДНК промыть 1000 мкл 70% этанола, охлажденным до температуры $T = -10^{\circ}\text{C}$. Содержимое пробирок центрифугировать при 5000xg ($T = 4^{\circ}\text{C}$) в течение 5 мин. Процедуру промывки повторить дважды.

Супернатант слить, пробирки разместить в штативе с открытыми крышками. Осадок ДНК просушить в течение 15 мин. ($T = 45^{\circ}\text{C}$) до полного испарения этанола.

4. Растворение.

Высушенный осадок растворить в 50 мкл бидистиллированной и деионизированной воды. Пробирки инкубировать в твердотельном термостате при 45°C в течение 15 мин. Растворенную ДНК хранить при 4°C перед последующим анализом и при -18°C для длительного хранения.

2. Ключевые слова и понятия

выделение ДНК	ДНК пробы
буккальные клетки	щелочной метод
отбор образца ДНК	метод фенольной экстракции

3. Практическая часть

Выделить образец ДНК из буккальных клеток (клетки эпителия щеки) методом щелочной экстракции.

ЗАНЯТИЕ 5

Установление генотипа человека молекулярно-генетическими методами. Амплификация фрагментов ДНК гена ACE

ЦЕЛЬ: Ознакомиться с методами амплификации участка ДНК на примере инсерционно-делеционного полиморфизма в 16 интроне гена ACE человека.

1. Теоретическая часть

Для амплификации участка ДНК используют: выделенную ДНК, праймеры (прямой (F) и обратный (R)), реакционную стандартную ПЦР-смесь (PCR-Mix) и амплификатор (“Терцик”).

Амплификация гена ACE *H. sapiens* проводится с использованием праймеров: прямой (F) – 5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3', обратный (R) – 5'-GATGTGGCCATCACATTC-GTCAAGAT-3'.

Реакционная стандартная ПЦР-смесь (PCR-Mix):

10x буфер	2,6 мкл
MgCl ₂ (50 Mm)	1,3 мкл
смесь нуклеотидтрифосфатов (dNTP)	0,5 мкл
Prime Taq-ДНК полимеразы	0,2 мкл
праймер 1	0,8 мкл
праймер 2	0,8 мкл
Вода деионизированная (milliQ)	17,8 мкл

Общий объем реакционной ПЦР-смеси должен составить 24 мкл.

Далее в пронумерованные реакционные пробирки для амплификации объемом 0,6 мл (Ахуген) вносят по 24 мкл смеси. В пробирку с отрицательным контролем добавляют 1 мкл деионизированной воды. Во все остальные пробирки вносят по 1 мкл образца ДНК. Тщательно перемешивают пипетированием, затем наслаивают по одной капле (20-25 мкл) минерального масла для ПЦР и закрывают пробирки. После чего, центрифугируют 5 сек при 3 тыс. об/мин и помещают в амплификатор (“Терцик”). Температурные режимы ПЦР для гена ACE:

1 цикл	94 ⁰ С 7 мин
30 циклов	94 ⁰ С 60 сек
	62 ⁰ С 60 сек
	72 ⁰ С 70 сек
1 цикл	72 ⁰ С 5 мин

2. Ключевые слова и понятия

выделение ДНК буккальные клетки отбор образца ДНК ДНК пробы	щелочной метод метод фенольной экстракции денатурация ДНК
--	--

3. Практическая часть

Из криопробирок взять раствор, содержащий выделенную ДНК.

Приготовить ПЦР смесь по схеме, описанной выше.

Провести амплификацию гена ACE, используя выделенную ранее из буккальных клеток ДНК.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРЯНЫ

ЗАНЯТИЕ 6

Генная дактилоскопия человека, на примере генов ACE и ACTN3

6.1 Молекулярно-генетическое генотипирование человека по аллелям гена ACE

ЦЕЛЬ: Ознакомиться с методами электрофоретического анализа ДНК в агарозном геле на примере инсерционно-делеционного полиморфизма в 16 интроне гена ACE человека

1. Теоретическая часть

При помощи метода полимеразной цепной реакции исследователи научились получать **фрагменты ДНК (ампликоны)** разных размеров практически из любых видов. В ходе **манипуляций с различными фрагментами ДНК** часто необходимо определить размер или выделить конкретный участок ДНК из смеси. Оказалось, что фрагменты ДНК легче всего разделять с помощью метода **электрофореза в агарозном геле**. ДНК-фрагменты, полученные с помощью ПЦР, помещают в лунки застывшего агарозного геля, который помещается в специальную **камеру для электрофореза**. В камере создается электрическое поле, под действием которого фрагменты ДНК начинают перемещаться в пористом, похожем на желе геле (рисунок 1).

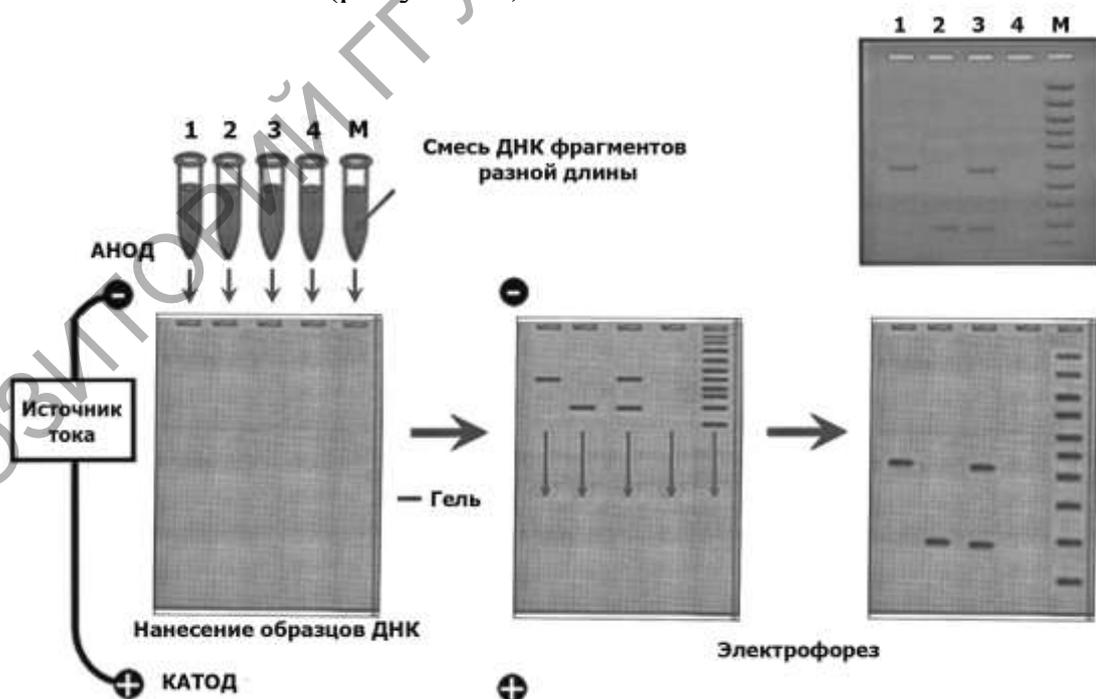


Рисунок 1 – Схематическое изображение электрофореза ДНК в агарозном геле (М – маркеры, 1,2,3 – образцы ДНК, разных людей, 4 – отрицательный контроль)

Скорость продвижения фрагментов ДНК в геле зависит от их длины. Короткие фрагменты движутся быстрее, чем длинные. Это позволяет цепочкам ДНК разной длины отделиться друг от друга. При этом фрагменты ДНК не повреждаются и их можно **выделить из геля** без всяких повреждений и потери биологических свойств.

Если после электрофореза окрасить гель специальным **красителем этидиум бромидом**, связывающимся с ДНК и поместить гель под ультрафиолетовый свет, то на нем будут хорошо видны окрашенные в красный цвет, расположенные на различном расстоянии друг от друга **светящиеся фракции ДНК**. Каждая такая фракция соответствует одному фрагменту ДНК.

2. Ключевые слова и понятия

фрагменты ДНК манипуляции с фрагментами ДНК электрофорез в агарозном геле электрофоретическая камера краситель этидиум бромид	маркеры молекулярных масс трансиллюминатор электрофоретическая камера
---	---

3. Практическая часть

Провести электрофоретический анализ ДНК в агарозном геле на примере инсерционно-делеционного полиморфизма в 16 интроне гена ACE человека. Освоить методику решения задач по ПЦР-анализу.

3.1. В 17-й хромосоме человека находится **ген (ACE)**, кодирующий важный белок, который называется **ангиотензин-превращающий фермент** (angiotensin converting enzyme, ACE). Молекулярные генетики проанализировали этот ген и установили полную его нуклеотидную последовательность. Ген ACE имеет величину более 23 тыс. нуклеотидных пар и состоит из 26 экзонов и 25 интронов (рисунок 2).

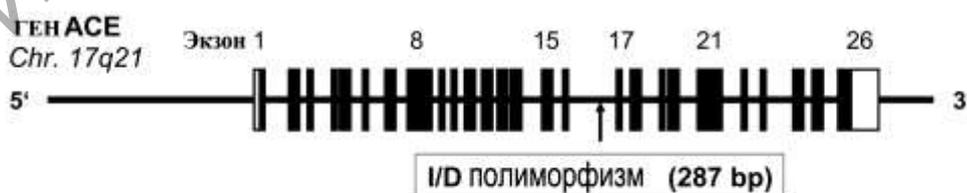


Рисунок 1 – Структура гена ангиотензин-конвертирующего фермента человека

Оказалось, что в 16-м интроне гена ACE, который насчитывает более 1800 н.п. встречается делеция (выпадение) фрагмента ДНК величиной 287 н.п. Иными словами, в популяциях человека имеется полиморфизм по гену ACE, который заключается в наличии (I - insertion) или отсут-

ствии (D – deletion) фрагмента длиной 287 пар нуклеотидов в интроне 16.

Ученые, с помощью метода ПЦР-анализа научились амплифицировать фрагмент ДНК из 16-го интрона величиной около 0,5 кб, в котором локализована делеция. При электрофорезе в агарозном геле фрагменты ДНК в которых не произошло делеции (I) и с делецией (D) легко отделяются друг от друга. Ниже представлен электрофоретический спектр фрагментов ДНК этого участка у 6 человек (рисунок 3).

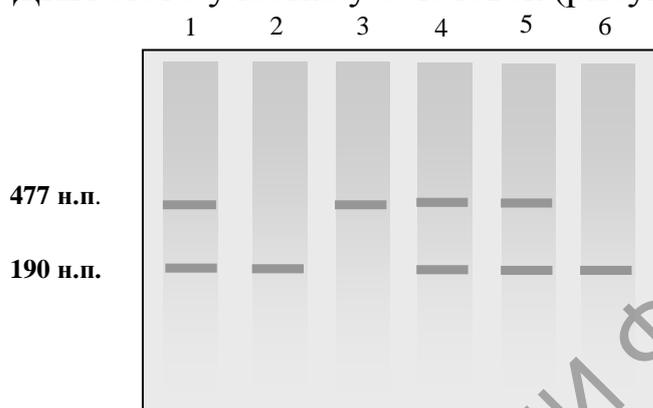
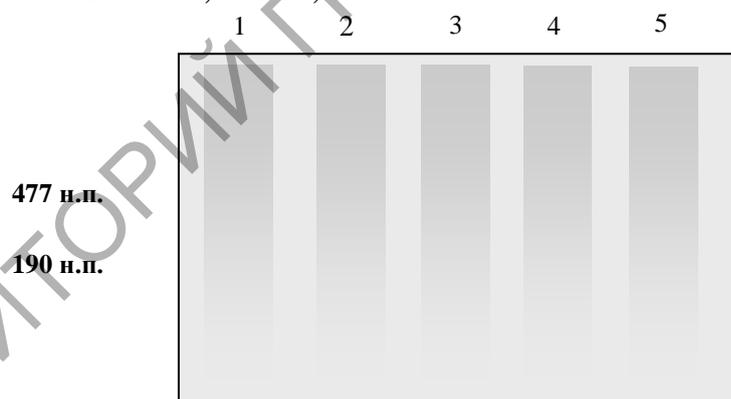


Рисунок 3 – Электрофореграмма спектра ДНК-фрагментов из 16-го интрона у 6 представителей европейской расы.

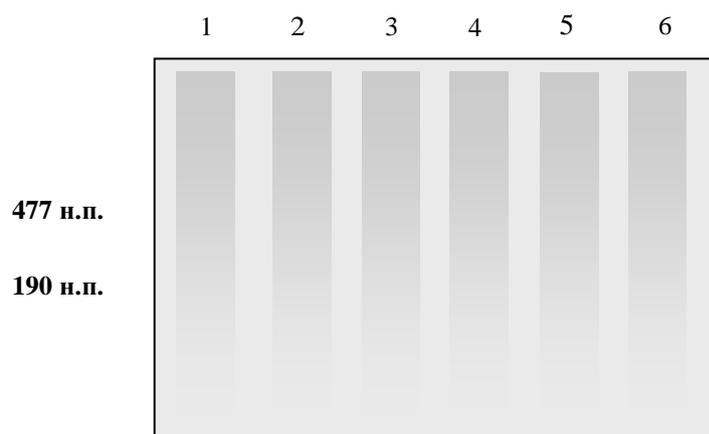
Определите генотипы этих людей по двум аллелям I и D гена ACE.

3.2. При анализе полиморфизма по аллелям I и D гена ACE у спортсменов-гребцов высокого класса были обнаружены следующие генотипы: 1-3 – I/D, 4 – I/I, 5 – I/D.



Изобразите схематически на электрофореграмме спектры фрагментов ДНК у этих спортсменов.

3.3. У спортсменов штангистов уровня мастеров спорта и выше был проанализирован полиморфизм по гену ACE. Изобразите схематически на электрофореграмме спектры фрагментов ДНК у шести спортсменов, если их генотипы по аллелям I и D были следующими: 1,2 – D/D, 3,4 – I/D, 5,6 – D/D.



3.4. В 16-м интроне гена ACE человека содержится 1857 нуклеотидных пар. Участок делеции состоящий из 287 н.п. находится во фрагменте от 1451 до 1738 нуклеотида. Ниже приведена последовательность нуклеотидов ДНК 16-го интрона от 1321 до 1857 нуклеотида. Участок делеции выделен черным (www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank ID:X62855.1, NG_011648.1).

```

1321  5'tcaagcacgc  ccctcacagg  actgctgagg  ccctgcaggt
1361   gtctgcagca  tgtgcccagg  ccggggactc  tgtaagccac
1401   tgctggagac  cactcccatc  ctttctccca  tttctctaga
1441   cctgctgcct  atacagtcac  tttttttttt  tttttgagac
1481   ggagtctcgc  tctgtcgccc  aggctggagt  gcagtggcgg
1521   gatctcggct  cactgcaacg  tccgcctccc  gggttcacgc
1561   cattctcctg  cctcagcctc  ccaagtagct  gggaccacag
1601   cgcccgccac  tacgcccggc  taattttttg  tatttttagt
1641   agagacgggg  tttcaccggt  ttagccggga  tggtctcgat
1681   ctcctgacct  cgtgatccgc  ccgcctcggc  ctcccaaagt
1721   gctgggatta  caggcgtgat  acagtcactt  ttatgtggtt
1761   tcgccaattt  tattccagct  ctgaaattct  ctgagctccc
1801   cttacaagca  gaggtgagct  aagggctgga  gctcaagcca
1841   ttcaaccccc  taccag3'

```

Какой будет состав **прямого праймера** (F-forward), размером в 24 нуклеотида (комплементарного цепочке 3'–5'), если мы хотим, чтобы вместе с участком делеции был амплифицирован и предшествующий фрагмент интрона, величиной 48 нуклеотидов.

3.5. Прямой праймер (F) для амплификации интрона 16, содержащего делецию размером 287 н.п. имеет следующую последовательность: 5'-CTGGAGACCACTCCCATCSTTTCT-3'.

Какой будет состав **обратного праймера** (R-reverse), содержащего 24 нуклеотида (комплементарного цепочке 5'–3'), если мы хотим амплифицировать участок ДНК, размером 477 н.п., содержащий делецию, остаток 16-го интрона и 24 нуклеотида начальной части прилегающего экзона 17. Последовательность нуклеотидов ДНК 16-го интрона от 1381 до 1857 нуклеотида, а также первые 113 нуклеотидов экзона 17 приведены ниже.

16 интрон

```

1381 5'ccggggactc tgtaagccac tgctggagac cactcccatac
1421 ctttctccca tttctctaga cctgctgcct atacagtcac
1461 tttttttttt tttttgagac ggagtctcgc tctgtcgc
1501 aggctggagt gcagtggcgg gatctcggct cactgcaacg
1541 tccgcctccc gggttcacgc cattctcctg cctcagcctc
1581 ccaagtagct gggaccacag cgcccgccac tacgcccggc
1621 taattttttg tatttttagt agagacgggg tttcaccggt
1661 ttagccggga tggtctcgat ctcctgacct cgtgatccgc
1701 ccgcctcggc ctcccaaagt gctgggatta caggcgtgat
1741 acagtcactt ttatgtggtt tcgccaattt tattccagct
1781 ctgaaattct ctgagctccc cttacaagca gaggtgagct
1821 aagggctgga gctcaagcca ttcaaccccc taccag3'

```

17 экзон

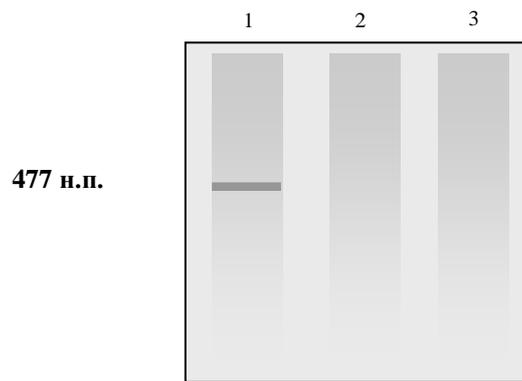
```

1 5'atc tgacgaatgt gatggccaacg tcccggaaat atgaagacct
51 gttatgggca tgggagggct ggcgagacaa ggcgggggaga
91 gccatcctcc agttttaccc gaaatacgtg3'

```

3.6. Приведите последовательность нуклеотидов в цепочке ДНК 16-го интрона гена ACE, величиной 190 н.п. (без участка делеции) после амплификации участка с праймерами следующего состава: прямой (F) – 5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3', обратный (R) – 5'-ACGTGGCCATCACATTC-GTCAGAT-3'.

3.7. Делеция D в 16-м интроне гена ACE относится к классу Alu-повторов – фрагментов ДНК величиной около 300 н.п., которые могут повторяться в геноме более 100 раз. В каждом повторе есть сайт AGCT, который может разрезаться рестриктазой AluI. Если провести амплификацию фрагмента ДНК 16-го интрона (с участком делеции) используя праймеры следующего состава: прямой (F) – 5'-CTGGAGACCACTCCCATCC-TTTCT-3', обратный (R) – 5'-ATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3' и разрезать полученный фрагмент рестриктазой AluI, то какой величины будут разрезанные фрагменты и, как будет выглядеть их электрофоретический спектр в агарозном геле на дорожках 2 и 3? На дорожке 1 приведен спектр неразрезанного фрагмента полученного после амплификации.



3.8. Ген **ACTN3** у человека локализуется в длинном плече хромосомы 11 и кодирует белок α – **актинин-3**, выполняющий важную структурную роль в Z-дисках. Этот белок упорядочивает массив актиновых миофибрилл, а также взаимодействует с рядом сигнальных белков и ферментов. Дефицит α -актинина-3 в быстросокращающихся волокнах скелетных мышц снижает скоростно-силовые возможности человека.

В ходе молекулярно генетического анализа было установлено, что причиной недостатка белка α -актинина-3 является однонуклеотидная мутация в результате которой, в 16-м экзоне гена **ACTN3** цитозин в 577-м триплете замещается на тимин. Точечная мутация приводит к тому, что триплет, кодирующий аминокислоту аргинин (CGA), превращается в стоп-кодон (TGA), и синтез полипептидной цепи α -актинина-3 прерывается (рисунок 4). Таким образом, в популяциях человека встречается два аллеля гена **ACTN3** – нормальный 577R и мутантный 577X, которые определяют три генотипа – RR, RX и XX. У лиц гомозиготных по X-аллелю белок α -актинин-3 в мышцах отсутствует и они не могут добиться высоких достижений в силовых видах спорта.

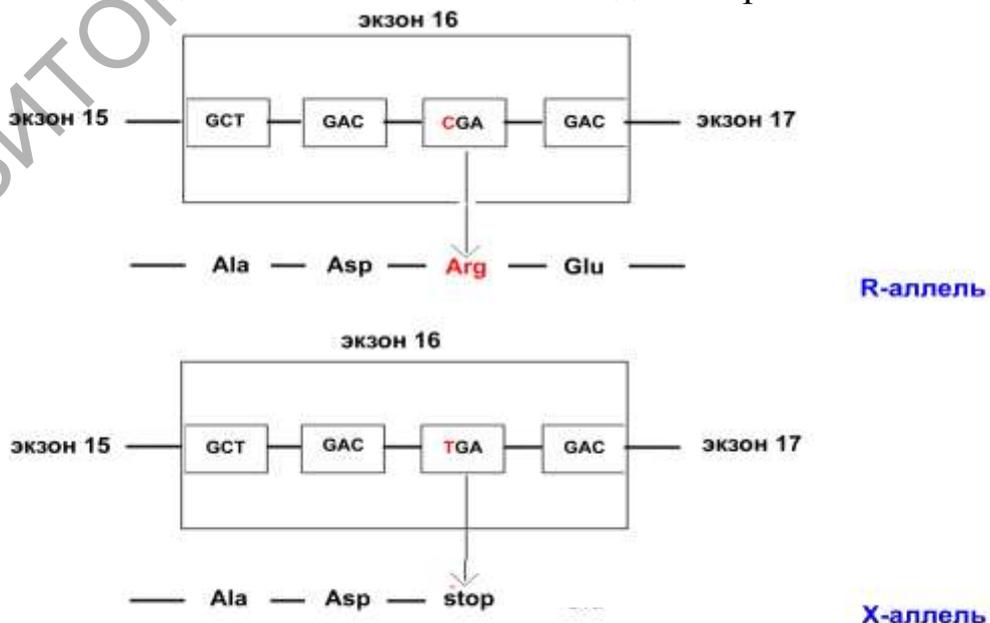


Рисунок 4 – Схема однонуклеотидной замены C/T в 16-м экзоне гена **ACTN3**

Ученые, с помощью ПЦР-анализа разработали метод амплификации ДНК из 16-го экзона, в котором находится точковая мутация. Оказалось, что в последовательности ДНК 16-го экзона мутантного аллеле **577X** имеется сайт рестрикции для рестриктазы **Ddel (CTNAG)**, в то время как в нормальном -- **577R** такого сайта нет. Поэтому после разрезания рестриктазой Ddel продукты **577R** аллеля будут состоять из двух фрагментов величиной 205 и 86 н.п., а продукты мутантного аллеля **577X** – из трех фрагментов величиной 108, 97 и 86 н.п. соответственно. При электрофорезе в 10% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием этидиум бромидом эти фрагменты можно отделить друг от друга. Ниже представлен электрофоретический спектр фрагментов ДНК этого участка у 6 человек европейской расы (рисунок 5). Определите генотипы этих людей по двум аллелям **577R** и **577X** гена АСТN3.

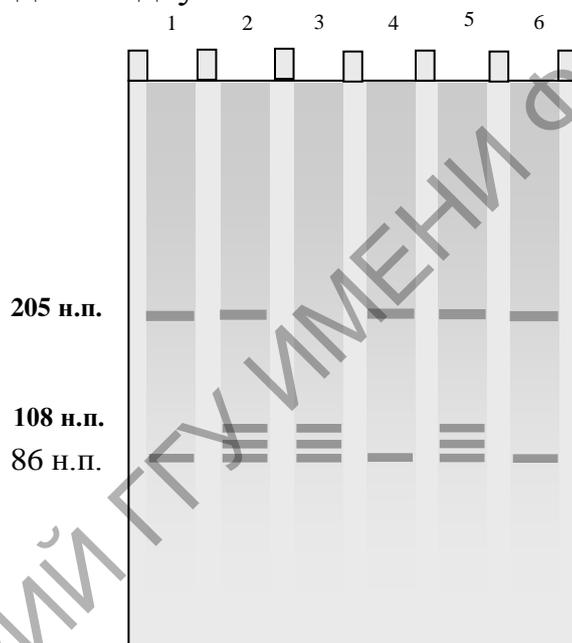
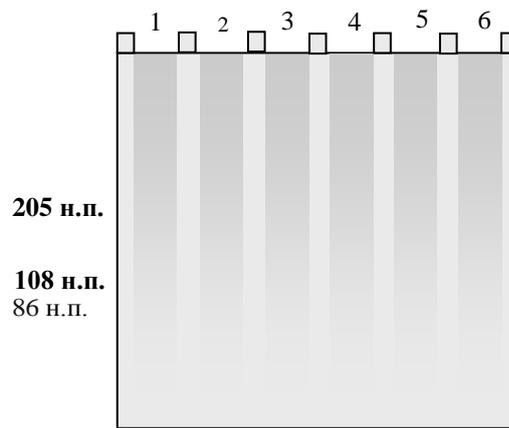


Рисунок 5 – Электрофореграмма спектра амплифицированных с последующей рестрикцией ДНК-фрагментов из 16-го экзона у представителей европейской расы.

3.9. Почему на электрофореграмме рисунок 5 спектра амплифицированных с последующей рестрикцией ДНК-фрагментов из 16-го экзона в образце 3 отсутствует фракция величиной 205 нуклеотидных пар?

3.10. При анализе полиморфизма по аллелям **577R** и **577X** гена АСТN3 у спортсменов-борцов уровня мастеров спорта были обнаружены следующие генотипы: 1-2 – RR, 3,5 – RX, 4,6 – RR. Изобразите схематически на электрофореграмме спектры фрагментов ДНК из экзона 16 у этих спортсменов.



3.11. Электрофоретический спектр амплифицированных с последующей рестрикцией ДНК-фрагментов из 16-го экзона гена АСТN3 у детей спортивной школы представлен ниже (рисунок 6). Определите генотипы детей по двум аллелям 577R и 577X. Кто из них скорее всего не сможет добиться высоких результатов в силовых видах спорта?

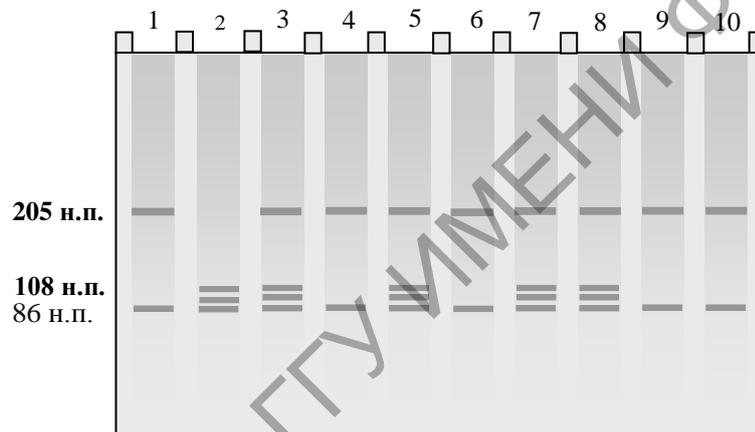


Рисунок 6 – Электрофореграмма спектра амплифицированных с последующей рестрикцией ДНК-фрагментов из 16-го экзона у детей спортивной школы.

3.24. Ниже приведена часть последовательности геномной ДНК гена АСТN3 от 18541 до 18961 нуклеотида, которая включает **15-й** экзон и участки прилегающих интронов (www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank ID: X62855.1, NG_013304.1). Нуклеотиды экзона **15** выделены черным.

```

18541   cttgtgtcag gactgcccag gactgggtggg tggcctgggg
18581   cacactgctg ccctttctgt tgctgtgggt aagtggggga
18621   caccagctga cacttctctgc ctgtcgtccc cagagcctgc
18661   tgacagcgca cgatcagttc aaggcaacac tgcccgaggg
18701   tgaccgagag cgaggtgcc aatggtgcat ccaggggtgag
18741   atccagaaga tctgccagac gtatgggctg cggccctgct
18781   ccaccaatcc ctacatcacc ctcagcccgc aggacatcaa
18821   caccaagtgg gatatggtca gtgccacctg cagccttctt
18861   cccaccccct cctgcatact gtgaccacc tgaaatctcg
18901   ggtggcccaa gatatggaga ataaagtcca tcttcagatg
18941   tgggggtctgc cacagactcc
  
```

На сколько частей распадется эта ДНК, если разрезать ее рестриктазой DdeI?

3.25. Найдите и отметьте сайты для узнавания рестриктазой DdeI в последовательности ДНК гена ACTN3 приведенной ниже. Это последовательность ДНК нормального (577R) или мутантного (577X) аллеля?

18541	cttgtgtcag	gactgcccag	gactgggtggg	tggcctgggg
18581	cacactgctg	ccctttctgt	tgctgtggt	aagtggggga
18621	caccagctga	cacttctctgc	ctgtcgtccc	cag agcctgc
18661	tgacagcgca	cgatcagttc	aaggcaacac	tgcccgagggc
18701	tgactgagag	cgaggtgcc	tcatgggcat	ccaggggtgag
18741	atccagaaga	tctgccagac	gtatgggctg	cgccctgct
18781	ccaccaatcc	ctacatcacc	ctcagcccgc	aggacatcaa
18821	caccaagtgg	gatatggtca	gtgccacctg	cagccttct
18861	cccaccccct	cctgcatact	gtgaccacc	tgaaatctcg
18901	ggtggcccaa	gatatggaga	ataaagtcca	tcttcagatg
18941	tggggtctgc	cacagactcc		

3.26. Какой будет состав прямого праймера (F), размером в 22 нуклеотида, если мы хотим в последовательности ДНК из предыдущей задачи (3.25) амплифицировать вместе с экзоном и предшествующий фрагмент интрона величиной 57 нуклеотидов.

3.27. Прямой праймер (F) для амплификации экзона **15** и предшествующего фрагмента интрона из задачи (3.25) имеет следующую последовательность: 5'-CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG-3'.

Какой будет состав обратного праймера (R), содержащего 22 нуклеотида, если мы хотим амплифицировать участок ДНК из задачи (3.25), содержащий экзон, предшествующий фрагмент интрона величиной 57 нуклеотидов и 51 нуклеотид начальной части последующего интрона.

3.28. Используя последовательность, приведенную в задаче 3.25, определите какой величины будет амплифицированный фрагмент если для амплификации были выбраны праймеры следующего состава: прямой (F) – 5'-CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG-3', обратный (R) – 5'-TGGTCACAGTATGCAGG-AGGG-3'.

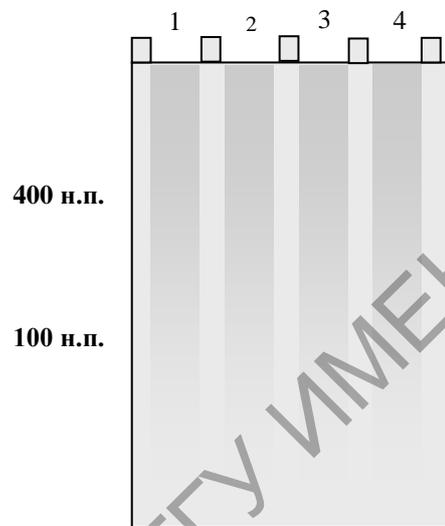
3.29. Ниже приведена последовательность амплифицированного фрагмента геномной ДНК гена ACTN3 с использованием прямого и обратного праймеров из задачи 3.28.

```

ctgt
tgctgtggt aagtggggga caccagctga cacttcctgc
ctgtcgtccc cagagcctgc tgacagcgca cgatcagttc
aaggcaacac tgcccgaggc tgactgagag cgaggtgcca
tcatgggcat ccagggtgag atccagaaga tctgccagac
gtatgggctg cggcctgct ccaccaatcc ctacatcacc
ctcagcccgc aggacatcaa caccaagtgg gatatggtca
gtgccacctg cagccttctt cccaccccct cctgcatact
gtgacca

```

Какой величины фрагменты получатся при разрезании этой ДНК рестриктазой DdeI? И как будет выглядеть их спектр на электрофореграмме в 10%-ном полиакриламидном геле?



Патологии мышц у таких людей не наблюдается, так как α -актинин-2 компенсирует его отсутствие в быстросокращающихся мышечных волокнах. Наличие нормального 577R-аллеля свидетельствует о присутствии в скелетных мышцах белка α -актинина-3, что дает индивидуумам преимущество в проявлении скоростно-силовых физических качеств [17].

ЗАНЯТИЕ 7

Распространение аллелей системы группы крови АВО. Расы человека

ЦЕЛЬ: Составить карту распространения аллелей системы группы крови АВО и наследственных болезней в зависимости от рас человека и этнических групп

1. Теоретическая часть

Распространение аллелей системы группы крови АВО.

Чтобы рассчитать частоту генотипов для локусов с множественными аллелями, используют следующую формулу:

$$(p+q+r+\dots+s)^2 = 1,$$

где $p, q, r \dots s$ - частоты встречаемости различных аллелей.

В случае расчета частот аллелей в системе крови АВО конечные формулы будут выглядеть следующим образом:

$$r = \sqrt{0}, p = \sqrt{0+A-0}, q = \sqrt{0+B-0},$$

где p - частота аллеля А; q - частота аллеля В; r - частота аллеля 0; А, В, 0 - частота фенотипов.

К настоящему времени хорошо изучена частота распространения аллелей системы группы крови АВО в различных странах мира. Некоторые данные представлены в таблице 1.1.

Таблица 1.1 – Распространение аллелей группы крови АВО в различных странах мира (%) (Айала и др. 1988)

Популяция	0	А	В	АВ
Русские (Москва)	33,3	37,4	22,8	6,3
французы	41,6	47,0	8,0	3,3
Китайцы	28,6	26,6	32,0	12,8
Японцы	30,1	38,4	21,9	9,7
Австралийцы	60,7	39,3	0	0
Бразильцы (Бороро)	100,0	0	0	0

Популяционно-генетический метод позволяет понять направление эволюции в истории человечества в разных странах мира.

Исследования, проведенные в Ростовской области, выявили преобладание 0 группы крови в старых казачьих хуторах. В 1918 году было высказано предположение, что система групп крови АВО может быть полезна для оценки и уточнения этнического происхождения (Хиршфельд).

2. Расы человека

Расы определяют как популяции одного и того же вида, несколько отличающиеся в генетическом отношении, но репродуктивно не изолированные друг от друга. Расы не обязательно представляют собой новые виды, так как процесс расовой дифференциации является обратимым. У человека расовая дифференциация сглаживалась на протяжении нескольких последних столетий за счет межрасовых браков и миграции населения. Для образования рас необходимо, чтобы поток генов не был интенсивным, иначе расы сливаются и формируется единый генофонд.

К. Линнем были выделены разновидности четырех рас человека (африканская, азиатская, американская и европейская). В 1775г. Blumenбах выделил 5 наиболее известных "цветных" рас человека: белую, или кавказскую (или европеоидную); желтую, или монгольскую (монголоидную); черную, или эфиопскую; красную, или американскую; коричневую, или малайскую.

Хотя расы выделены только по цвету кожи, но этнические группы различаются по многим другим признакам, например, черты лица, строение волос, телосложение (таблица 1.2).

Таблица 1.2 – 9 географических рас и 34 локальные расы человека (S.Corn,1961)

Географические расы		
1. Европейская	4. Индейская	7. Австралийская
2. Индийская	5. Африканская	8. Микронезийская
3. Азиатская	6. Меланезийско-папуаская	9. Полинезийская
Локальные расы		
1. Северо-западная европейская	18. Восточноафриканская	
2. Северо-восточная европейская	19. Суданская	
3. Альпийская	20. Негритянская (тропические леса)	
4. Средиземноморская	21. Банту	
5. Индусская	22. Бушменская и готтентотская	
6. Тюркская	23. Африканские пигмеи	
7. Тибетская	24. Дравидская	
8. Северная китайская	25. Негритосская	
9. Классическая монголоидная	26. Меланезийско-папуаская	
10. Эскимосская	27. Муррейская (аборигены севера Австралии)	
11. Юго-восточная азиатская	28. Карпентарийская (аборигены севера Австралии)	
12. Айнская	29. Микронезийская	
13. Лопарская (саамская)	30. Полинезийская	
14. Североамериканские индейцы	31. Новогавайская	
15. Центрально-американские индейцы	32. Ладинская	

16. Южноамериканские индейцы	33. Негры Северной Америки
17. Огнеземельская	34. Негры Южной Америки

Популяционно-генетические исследования показали, что распределение наследственных болезней среди различных рас и народностей в различных странах неравномерно (таблицы 1.3 и 1.4).

Таблица 1.3 – Наследственные болезни» характерные для различных этнических групп (О. Милунски, 1981)

Этническая группа	Наследственные болезни
Африканцы	Гемоглобинопатии, в особенности HbS, HbC, альфа- и бета-талассемия. Недостаточность лактазы у взрослых. Недостаточность глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы, африканский тип
Южные африканцы, армяне, еврей-ашкенази	Южноафриканская порфирия. Синдром Блума. Деформирующая мышечная дистония. Семейная дизавтономия. Болезнь Тея-Сакса. Синдром Меккеля. Болезнь Ниманна-Пика. Недостаточность фактора IX (свертываемость крови). Пентозурия. Болезнь Гоше (форма взрослых)
Китайцы	Талассемия (альфа). Недостаточность лактазы у взрослых. Недостаточность глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы, китайский тип
Эскимоссы, финны	Врожденный нефроз. Аспартилглюзаминурия
Ирландцы	Дефект нервной трубки, фенилкетонурия
Японцы и корейцы	Акаталазия. Болезнь Огучи. Общий наследственный дисхроматоз
Итальянцы, греки, еврей-сефарды	Недостаточность глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы, средиземноморский тип. Болезнь гликогенного депо, тип 111. Семейная средиземноморская лихорадка. Талассемия (преимущественно бета)
Норвежцы	Лимфатический отек, фенилкетонурия

Таблица 1.4 – Распространенность доминантных и рецессивных заболеваний в Европе (О.Милунски,1981)

Аутосомно-доминантные		Аутосомно-рецессивные	
Наименование болезни	Частота, %	Наименование болезни	Частота, %
Хорея Хантингтона	0,50	Муковисцедоз	0,50
Нейрофиброматоз	0,40	Фенилкетонурия класси-	0,10

		ческая	
Миотоническая дистрофия	0,20	Нейрогенная мышечная атрофия	0,10
Слепота	0,10	Серповидно-клеточная анемия	0,10
Гиперхолестеринемия	2,00	Глухота	0,20
Поликистоз почек (тип взрослых)	1,00	Слепота	0,20
Синдром Марфана	0,04	Умственная отсталость неспецифическая	0,50
Аходроплазия	0,02	Цистинурия	0,60
Синдром Элерса-Данлоса	0,01	Галактоземия	0,02
		Болезнь Тея-Сакса	0,04

2. Ключевые слова и понятия

Наследственные заболевания	Хорея Хантингтона
Частота встречаемости заболевания	Фенилкетонурия
Расы человека	Муковисцедоз
	Серповидно-клеточная анемия

3. Практическая часть

Используя контурные карты мира и представленный в виде таблиц банк данных составить карту распространения аллелей системы группы крови АВ0 в различных странах мира и особенности распространения наследственных болезней среди различных рас и этнических групп.

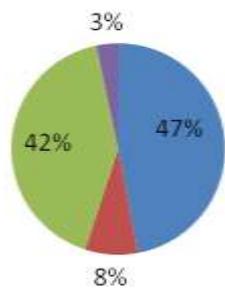
Условные обозначения.

%	0 красный	A зеленый	B синий	AB черный
0 - 25				
25 - 50				
50 - 75				
75 - 100				

Пример. Популяция - французы

Французы

■ A ■ B ■ O ■ AB



РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

ЛИТЕРАТУРА

1. Бочков, Н.П. Клиническая генетика / Н.П.Бочков. – М.: «Медицина», 1997. – 286с.
2. Гончаренко, Г.Г. Основы генетической инженерии / Г.Г. Гончаренко. – Мн.: "Высшая школа", 2005. – 183 с.
3. Гончаренко, Г.Г. Генетика. Анализ наследственных закономерностей на генах меха кошек / Г.Г. Гончаренко, С.А. Зятков. – Гомель: ГГУ им. Ф. Скорины, 2007. – 108 с.
4. Заяц, Р.Г. Основы общей и медицинской генетики / Р.Г.Зяц, И.В. Рачковский. – Мн.: «Высшая школа», 2003. – 239с.
5. Песецкая, Л.Н. Сборник задач по генетике / Л.Н. Песецкая, Г.Г. Гончаренко, Н.Н. Острейко. – Гомель: ГГУ, 2002. –114 с.
6. Жимулев, И.Ф. Общая и молекулярная генетика / И.Ф. Жимулев. – Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та: Сиб. унив. изд-во, 2002. – 459 с.
7. Приходченко, Н.Н. Основы генетики человека / Н.Н. Приходченко, Т.П. Шкурат. – Ростов на Дону: «Феникс», 1997. – 360с.
8. Тимоляева, Е.К. Медицинская генетика / Е.К. Тимоляева. – Ростов на Дону: «Феникс», 2003. – 303с.
9. Шевченко, В.А. Генетика человека / В.А.Шевченко, Н.А. Топорнина. – М.: «Владос», 2002. – 239с.
10. Щипков, В.П. Общая и медицинская генетика / В.П.Щипков, Г.Н.Кривошеина. – М.: Академия, 2003. – 252с.

3 КОНТРОЛЬ ЗНАНИЙ

3.1 Перечень вопросов к экзамену

1. Законы Менделя и его концепция гена.
2. Основная догма современной биологии по Уотсону и Крику.
3. Генная терапия - новое направление в науке XXI века.
4. Три компонента генетической революции.
5. Закон Нассе.
6. Расшифровка генетического кода.
7. Тонкая структура гена.
8. Раскрытие механизмов серповидно-клеточной анемии.
9. Трисомия по 21й хромосоме.
10. Родословная королевы Виктории.
11. Закон Харди-Вайнберга.
12. Группы крови у человека.
13. Гены с множественными аллелями (примеры).
14. Врожденные ошибки метаболизма по Гэрроду.
15. Может ли женщина болеть гемофилией?
16. Типы хромосомных мутаций человека (примеры).
17. Генные мутации (примеры).
18. Источники мутационного процесса.
19. Частота мутаций.
20. Мутагены.
21. Основные положения мутационной теории.
22. Откуда берутся множественные аллели?
23. Этапы клонирования Долли.
24. Почему для клонирования берут соматические клетки?
25. Перекомбинация генетического материала в мейозе.
26. Возможно ли клонирование человека?
27. Изменяется ли частота мутаций при изменении окружающей среды?
28. Встречается ли серповидно-клеточная анемия у женщин?
29. Что такое вырожденность генетического кода?
30. Изобразить модель ДНК (схематически) по Уотсону и Крику.
31. Дать химические формулы пуриновых нуклеотидов.
32. Дать химические формулы пиримидиновых нуклеотидов.
33. Что такое генная дактилоскопия?
34. Что такое трансгенная особь?
35. Генная терапия, примеры использования.
36. Соединить три контрастные аминокислоты пептидной связью.

37. Соединить три разных нуклеотида от 3, к 5, концу.
38. Соединить три разных нуклеотида от 5, к 3, концу.
39. Что такое сиквенс ДНК (секвенирование ДНК)?
40. Полимеразная цепная реакция, общая характеристика и этапы.
41. Сколько генов в геноме человека?
42. Проект «Геном человека»
43. ПЦР-анализ, на примере гена ACE
44. Какова доля молчащей ДНК в геноме человека?
45. Имеются ли генетические различия среди наций?
46. Что такое геносистематика?

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

3.2 Критерии оценок по дисциплине

10 баллов (десять):

- систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы, а также по основным вопросам, выходящим за ее пределы;
- точное использование научной терминологии (в том числе на иностранном языке), стилистически грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы;
- безупречное владение инструментарием учебной дисциплины, умение его эффективно использовать в постановке и решении научных и профессиональных задач;
- выраженная способность самостоятельно и творчески решать сложные проблемы в нестандартной ситуации;
- полное и глубокое усвоение основной и дополнительной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины;
- умение ориентироваться в теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им критическую оценку, использовать научные достижения других дисциплин;
- творческая самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях, активное участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий.

9 баллов (девять):

- систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы;
- точное использование научной терминологии (в том числе на иностранном языке), стилистически грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы;
- владение инструментарием учебной дисциплины, умение его эффективно использовать в постановке и решении научных и профессиональных задач;
- способность самостоятельно и творчески решать сложные проблемы в нестандартной ситуации в рамках учебной программы;
- полное усвоение основной и дополнительной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины;
- умение ориентироваться в основных теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им критическую оценку;
- самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях;

- творческое участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий.

8 баллов (восемь):

- систематизированные, глубокие и полные знания по всем поставленным вопросам в объеме учебной программы;

- использование научной терминологии, стилистически грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы, умение делать обоснованные выводы;

- владение инструментарием учебной дисциплины (методами комплексного анализа, техникой информационных технологий), умение его использовать в постановке и решении научных и профессиональных задач;

- способность самостоятельно решать сложные проблемы в рамках учебной программы;

- усвоение основной и дополнительной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины;

- умение ориентироваться в основных теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им критическую оценку с позиций государственной идеологии (по дисциплинам социально-гуманитарного цикла);

- активная самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях, систематическое участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий.

7 баллов (семь):

- систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы;

- использование научной терминологии (в том числе на иностранном языке), лингвистически и логически правильное изложение ответа на вопросы, умение делать обоснованные выводы;

- владение инструментарием учебной дисциплины, умение его использовать в постановке и решении научных и профессиональных задач;

- усвоение основной и дополнительной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины;

- умение ориентироваться в основных теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им критическую оценку;

- самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях, участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры испол-

нения заданий.

6 баллов (шесть):

- достаточно полные и систематизированные знания в объеме учебной программы;
- использование необходимой научной терминологии, стилистически грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы, умение делать обоснованные выводы;
- владение инструментарием учебной дисциплины, умение его использовать в решении учебных и профессиональных задач;
- способность самостоятельно применять типовые решения в рамках учебной программы;
- усвоение основной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины;
- умение ориентироваться в базовых теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им сравнительную оценку;
- активная самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях, периодическое участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий.

5 баллов (пять):

- достаточные знания в объеме учебной программы;
- использование научной терминологии, стилистически грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы, умение делать выводы;
- владение инструментарием учебной дисциплины, умение его использовать в решении учебных и профессиональных задач;
- способность самостоятельно применять типовые решения в рамках учебной программы;
- усвоение основной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины;
- умение ориентироваться в базовых теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им сравнительную оценку;
- самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях, участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий.

4 балла (четыре), ЗАЧТЕНО:

- достаточный объем знаний в рамках образовательного стандарта;
- усвоение основной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины;

- использование научной терминологии, стилистическое и логическое изложение ответа на вопросы, умение делать выводы без существенных ошибок;

- владение инструментарием учебной дисциплины, умение его использовать в решении стандартных (типовых) задач;

- умение под руководством преподавателя решать стандартные (типовые) задачи;

- умение ориентироваться в основных теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им оценку;

- работа под руководством преподавателя на практических, лабораторных занятиях, допустимый уровень культуры исполнения заданий.

3 балла (три), НЕЗАЧТЕНО:

- недостаточно полный объем знаний в рамках образовательного стандарта;

- знание части основной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины;

- использование научной терминологии, изложение ответа на вопросы с существенными лингвистическими и логическими ошибками;

- слабое владение инструментарием учебной дисциплины некомпетентность в решении стандартных (типовых) задач;

- неумение ориентироваться в основных теориях, концепциях и направлениях изучаемой дисциплины;

- пассивность на практических и лабораторных занятиях, низкий уровень культуры исполнения заданий.

2 балла (два), НЕЗАЧТЕНО:

- фрагментарные знания в рамках образовательного стандарта;

- знания отдельных литературных источников, рекомендованных учебной программой дисциплины;

- неумение использовать научную терминологию дисциплины, наличие в ответе грубых стилистических и логических ошибок;

- пассивность на практических и лабораторных занятиях, низкий уровень культуры исполнения заданий.

1 балл - один, НЕЗАЧТЕНО:

- отсутствие знаний и компетенций в рамках образовательного стандарта или отказ от ответа.

4 ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ

4.1 Учебная программа дисциплины

Учреждение образования
«Гомельский государственный университет
имени Франциска Скорины»

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
Гомельского госуниверситета
им. Ф. Скорины, профессор

И.В. Семченко

2010 г.

Регистрационный № 10-18-2010-944 р.

Основы современной генетики и экологии человека
(название курса)

Учебная программа дисциплины для специальности
1-31 01 01 02 Биология (научно-педагогическая деятельность)

Факультет биологический

(название факультета)

Кафедра зоологии и охраны природы

(название кафедры)

Курс (курсы) 3

Семестр (семестры) 6

Лекции 20 час.
(количество часов)

Практические (семинарские
занятия) 14 час.
(количество часов)

Всего аудиторных часов
по дисциплине 34 час.
(количество часов)

Всего часов
по дисциплине 62 час.
(количество часов)

Зачет 6
(семестр)

Форма получения
высшего образования
дневная

Составил С.А. Зяцьков, ассистент

2010

Учебная программа дисциплины составлена на основе базовой учебной программы «Основы современной генетики и экологии человека» для специальности 1-31 01 01 02 Биология (научно-педагогическая деятельность), утвержденной 28 мая 2010 г., регистрационный номер 39-18-1010-477/802.

Рассмотрена и рекомендована к утверждению в качестве рабочего варианта на заседании кафедры зоологии и охраны природы
(название кафедры)

5 апреля 2010 г., протокол №6
(дата, номер протокола)

Заведующий кафедрой

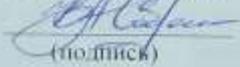

(подпись)

Г.И. Гончаренко
(И.О. фамилия)

Одобрена и рекомендована к утверждению методическим советом биологического факультета
(название факультета)

12 мая 2010 г., протокол №9
(дата, номер протокола)

Председатель


(подпись)

В.А. Собченко
(И.О. фамилия)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Генетика как интегрирующая наука пронизывает все биологические дисциплины и направления исследований. Это связано с тем, что генетика изучает два фундаментальных свойства организмов: наследственность и изменчивость на всех уровнях организации живого (молекулярном, клеточном, организменном и популяционном). Большое внимание в курсе уделено проблемам современной генетики. Подробно рассматриваются вопросы тонкого строения генов, молекулярные механизмы наследственности и изменчивости генетического материала в приложении к человеку.

Кроме того, спецкурс включает такие разделы как молекулярные основы генетики человека, изменчивость наследственного материала, клонирование, а также задачи и возможности клеточной и генной инженерии.

Особое место в спецкурсе отводится вопросам связи современной генетики человека с другими биологическими дисциплинами и той роли, которую играет сегодня генетика в развитии биотехнологии, медицины, а также охраны окружающей среды.

Спецкурс является завершающим этапом в образовании студента-биолога и должен сформировать у него четкие представления о развитии и достижениях современной генетики применительно к человеку.

Целью спецкурса “Основы современной генетики и экологии человека” является ознакомление студентов с молекулярно-генетическими технологиями и достижениями современной генетики.

Задачами спецкурса является:

- ознакомление студентами современного состояния генетики человека;
- освоение методов современного генетического анализа;
- формирование представлений о проблемах и достижениях важнейших направлений генетических исследований.

В результате изучения спецкурса:

Студент должен знать:

- особенности морфологии, физиологии и воспроизведения наследственных структур живых организмов; уметь планировать мероприятия по их охране и рациональному использованию в народно-хозяйственных целях;
- принципы системной организации, дифференциации и интеграции функций организма;
- основные этапы онтогенеза, морфологические, функциональные и биохимические изменения в ходе развития;
- принципы организации лабораторных работ, требования техники безопасности и приемы оказания первой помощи при несчастных случаях;

Студент должен уметь:

- использовать прогнозы последствий антропогенных воздействий на биосферу, планировать мероприятия по ее охране;
- использовать новые технологии обучения;
- работать с классическими объектами генетических исследований, проводить анализ результатов, решать задачи по генетике;
- осуществлять наблюдения, описания, идентификации, классификации, культивирования биологических объектов.

Студент должен владеть:

- навыками и методами исследований биологических объектов;
- электрофизиологическими методами и некоторыми другими функционально-диагностическими методами оценки состояния основных систем организма, методами экспериментальной работы с лабораторными животными;
- методами световой микроскопии;
- методами функциональной диагностики, исследования и анализа живых систем, математическими методами обработки результатов, понимать принципы построения и использования математических моделей биологических процессов;
- методами наблюдения, описания, культивирования, классификации, экспериментального анализа.

Общее количество часов – 62; аудиторное количество часов — 34, из них: лекции — 20, практические занятия — 14. Форма отчётности — зачет.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

РАЗДЕЛ 1 ВВЕДЕНИЕ

Тема 1. Введение в спецкурс

Предмет современной генетики человека, задачи и цели спецкурса. Особенности человека как объекта генетических исследований. Современные методы изучения генетики человека. Проблемы молекулярной медицинской генетики. Перспективы лечения наследственных болезней на геномном уровне. Задачи медико-генетических консультаций в свете расшифровки генома человека.

Тема 2. Главные аспекты генетической революции

Основные концептуальные аспекты и направления современной генетики. Молекулярно-генетическая диагностика наследственных заболеваний. Генная дактилоскопия. Фармакогенетика, производство генетических лекарств. Генная терапия.

Тема 3. Возникновение и этапы развития генетики человека

Представления древних о наследственности. Развитие наследственных теорий в эпоху возрождения. Концепция гена – одно из главных открытий человечества. Возникновение генетики человека и медицинской генетики. Этапы генетических исследований человека в XX веке. Проект геном человека.

РАЗДЕЛ 2 МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА

Тема 4. Роль нуклеиновых кислот в хранении и передаче наследственной информации

Генетическая роль ДНК и РНК. Строение нуклеиновых кислот. Механизмы репликации ДНК. Ферменты репликации. Репарация ДНК как механизм поддержания стабильности генетической информации.

Тема 5. Механизмы передачи наследственной информации

Процесс транскрипции, сплайсинг, трансляция. Этапы трансляции, биологическое значение транскрипции и трансляции. Генетический код и его характеристика. Вырожденность кода. Экспрессия генов. Регуляция экспрессии генов у эукариот.

РАЗДЕЛ 3 ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Тема 6. Мутации – источник наследственных заболеваний

Понятие о мутациях. Методы учета мутаций. Особенности учета мутаций у человека. Причины генных мутаций. Понятие о мутагенах. Значение мутаций.

Спонтанные мутации и наследственные болезни человека. Наследственные болезни и степень распространения в популяциях человека. Типы наследственных заболеваний. Значение диагностики наследственных болезней.

Тема 7. Классификация мутаций

Хромосомные мутации (делеции, дупликации, инверсии, транслокации). Генные мутации (транзиции, трансверсии). Геномные мутации (гаплоидия, полиплоидия, анеуплоидия). Жизнеспособность и плодовитость анеуплоидных форм. Мутационный процесс в различных экологических условиях. Роль изменчивости в адаптации организмов к условиям внешней среды. Защитные репарационные системы человека.

РАЗДЕЛ 4 ГЕНОМ ЧЕЛОВЕКА

Тема 8. Геном человека и манипуляции генетическим материалом

Кариотип человека. Генетическое картирование. Направленный перенос генетического материала. Анализ сцепления генов в хромосомах. Локализация генетических мутаций. Построение генетических карт. Перспективы генной терапии.

Тема 9. Клонирование человека и животных

Генетические предпосылки клонирования. Клонирование органов и тканей. Этапы и технологии клонирования Долли. Перспективы и этические аспекты развития генной инженерии и клонирования человека и его фрагментов.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА

Номер раздела, темы, занятия	Название раздела, темы, занятия, перечень изучаемых вопросов	Всего часов	Количество аудиторных часов				Материальное обеспечение занятия (наглядные, методические пособия и др.)	Литература	Формы контроля знаний
			лекции	семинарские занятия	лабораторные занятия	СУРС			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Введение в спецкурс 1. Предмет современной генетики человека, задачи и цели спецкурса. 2. Современные методы изучения генетики человека. 3. Проблемы молекулярной медицинской генетики.	2	2	-	-	-	Таблицы	[1] [4] [7] [8]	
2	Главные аспекты генетической революции 1. Основные концептуальные аспекты и направления современной генетики. 2. Молекулярно-генетическая диагностика наследственных заболеваний. Генная дактилоскопия. 3. Фармакогенетика, производство генетических лекарств. Генная терапия.	4	2	2	-	-	Таблицы	[1] [2] [5]	

3	<p>Возникновение и этапы развития генетики человека</p> <p>1. Представления древних о наследственности.</p> <p>2. Развитие наследственных теорий в эпоху возрождения.</p> <p>3. Возникновение генетики человека и медицинской генетики</p> <p>4. Этапы генетических исследований человека в XX веке. Проект геном человека.</p>	2	2	-	-	-	Таблицы, схемы	[2] [4] [8]	
4	<p>Роль нуклеиновых кислот в хранении и передаче наследственной информации</p> <p>1. Генетическая роль ДНК и РНК. Строение нуклеиновых кислот.</p> <p>2. Механизмы репликации ДНК. Ферменты репликации.</p> <p>3. Репарация ДНК как механизм поддержания стабильности генетической информации.</p>	4	2	2	-	-	Таблицы	[5] [8] [10]	
5	<p>Механизмы передачи наследственной информации</p> <p>1. Процесс транскрипции, сплайсинг, трансляция.</p> <p>2. Генетический код и его характеристика.</p> <p>3. Экспрессия генов. Регуляция экспрессии генов у эукариот.</p>	6	4	2	-	-	Таблицы, схемы	[3] [5]	
6	<p>Мутации – источник наследственных заболеваний</p> <p>1. Понятие о мутациях.</p> <p>2. Понятие о мутагенах.</p> <p>3. Спонтанные мутации и наследственные бо-</p>	4	2	2	-	-	Таблицы	[5] [7] [8] [13]	

	лезни человека. Типы наследственных заболеваний.								
7	Классификация мутаций 1. Хромосомные мутации. 2. Генные мутации. 3. Геномные мутации. 4. Мутационный процесс в различных экологических условиях.	4	2	2	-	-	Таблицы	[8] [11] [13] [16]	Групповая консультация
8	Геном человека и манипуляции генетическим материалом 1. Кариотип человека. 2. Генетическое картирование. Построение генетических карт. 3. Перспективы генной терапии.	4	2	2	-	-	Таблицы	[8] [12] [14] [15]	Групповая консультация
9	Клонирование человека и животных 1. Генетические предпосылки клонирования. 2. Клонирование органов и тканей. Этапы и технологии клонирования Долли. 3. Перспективы и этические аспекты развития генной инженерии и клонирования человека и его фрагментов.	4	2	2	-	-	Таблицы	[6] [8] [9] [17]	Тестирование
Итого часов		34	20	14	-	-			

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

ПЕРЕЧЕНЬ СЕМИНАРОВ

- 1 Наследование заболеваний с простым типом наследования.
- 2 Изучение наследственных заболеваний сцепленных с полом
- 3 Этапы реализации генетической информации
- 4 Расшифровка генотипов на экспериментальных электрофореграммах
- 5 Типы мутаций в генетическом материале
- 6 Мутационный процесс в различных экологических условиях
- 7 Генетическое картирование

ПРИМЕРНАЯ ТЕМАТИКА СУРС

1. Законы Менделя и его концепция гена.
2. Основная догма современной биологии по Уотсону и Крику.
3. Генная терапия - новое направление в науке XXI века.
4. Три компонента генетической революции.
5. Расшифровка генетического кода.
6. Тонкая структура гена.
7. Родословная королевы Виктории.
1. Закон Харди-Вайнберга.
2. Группы крови у человека.
3. Гены с множественными аллелями.
4. Врожденные ошибки метаболизма по Гэрроду.
5. Модель ДНК по Уотсону и Крику.
6. Сиквенирование ДНК.
7. Сиквенирование белка.
8. Геносистематика.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

ОСНОВНАЯ

- 1 Акимова, Т. А. Экология: / Т. А. Акимова, В. В. Хаскин.- учеб. (3-е изд.).- М., 2007.
- 2 Гиляров, А. М. Популяционная экология/ А. М. Гиляров.- М., 1990.
- 3 Маврищев, В.В. Основы экологии/ В.В. Маврищев.- Мн., 2007.
- 4 Маврищев, В.В. Общая экология: курс лекций/ В.В. Маврищев.- Мн., 2007.
- 5 Одум, Ю. Экология / Ю. Одум.- М., 1986.
- 6 Поспелова, Т. Г. Основы энергосбережения/ Т.Г. Поспелова.- Мн., 2000.
- 7 Радкевич, В. А. Экология/ В. А. Радкевич.- Мн., 1998.
- 8 Рассашко, И.Ф. Основы экологии/ И.Ф. Рассашко, Д.В. Потапов, Г.Г. Гончаренко, В.Н. Веремеев, А.В. Гулаков, А.В. Крук, И.В. Кураченко.- Гомель, 2005.

9 Свидерская, О. В. Основы энергосбережения/ О. В. Свидерская.- Мн., 2000.

10 Чернова, Н. М., Экология/ Н. М. Чернова, А. М. Былова.- М., 2004.

11 Шилов, И. А. Экология/ И. А. Шилов.- М., 2006.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

Учреждение образования
«Гомельский государственный университет
имени Франциска Скорины»

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
Гомельского госуниверситета
им. Ф. Скорины, профессор

И.В. Семченко

20 11 г.

Регистрационный № 97-18-2010-110/р.



Основы современной генетики и экологии человека
(название курса)

Учебная программа дисциплины для специальности
1-31 01 01 02 Биология (научно-педагогическая деятельность)

Факультет биологический
(название факультета)

Кафедра зоологии и охраны природы
(название кафедры)

Курс (курсы) 4

Семестр (семестры) 8

Лекции 10 час.
(количество часов)

Практические (семинарские
занятия) 8 час.
(количество часов)

Всего аудиторных часов
по дисциплине 18 час.
(количество часов)

Зачет 2
(семестр)

Всего часов
по дисциплине 40 час.
(количество часов)

Форма получения
высшего образования
заочная

Составили Г.Г. Гончаренко, профессор; С.А. Зятков, ассистент

2010

Учебная программа дисциплины составлена на основе базовой учебной программы «Основы современной генетики и экологии человека» для специальности 1-31 01 01 02 Биология (научно-педагогическая деятельность), утвержденной 28 мая 2010г., регистрационный номер 42-18-2010-474/кап

Рассмотрена и рекомендована к утверждению в качестве рабочего варианта на заседании кафедры зоологии и охраны природы
(название кафедры)

5 апреля 2010г., протокол № 6
(дата, номер протокола)

Заведующий кафедрой,
Г.Г. Гончаренко
(подпись) (И.О. фамилия)

Одобрена и рекомендована к утверждению методическим советом биологического факультета
(название факультета)

12 мая 2010г., протокол № 9
(дата, номер протокола)

Председатель,
В.А. Собченко
(подпись) (И.О. фамилия)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Генетика как интегрирующая наука пронизывает все биологические дисциплины и направления исследований. Это связано с тем, что генетика изучает два фундаментальных свойства организмов: наследственность и изменчивость на всех уровнях организации живого (молекулярном, клеточном, организменном и популяционном). Большое внимание в курсе уделено проблемам современной генетики. Подробно рассматриваются вопросы тонкого строения генов, молекулярные механизмы наследственности и изменчивости генетического материала в приложении к человеку.

Кроме того, спецкурс включает такие разделы как молекулярные основы генетики человека, изменчивость наследственного материала, клонирование, а также задачи и возможности клеточной и генной инженерии.

Особое место в спецкурсе отводится вопросам связи современной генетики человека с другими биологическими дисциплинами и той роли, которую играет сегодня генетика в развитии биотехнологии, медицины, а также охраны окружающей среды.

Спецкурс является завершающим этапом в образовании студента-биолога и должен сформировать у него четкие представления о развитии и достижениях современной генетики применительно к человеку.

Целью спецкурса “Основы современной генетики и экологии человека” является ознакомление студентов с молекулярно-генетическими технологиями и достижениями современной генетики.

Задачами спецкурса является:

- ознакомление студентами современного состояния генетики человека;
- освоение методов современного генетического анализа;
- формирование представлений о проблемах и достижениях важнейших направлений генетических исследований.

В результате изучения спецкурса:

Студент должен знать:

- особенности морфологии, физиологии и воспроизведения наследственных структур живых организмов; уметь планировать мероприятия по их охране и рациональному использованию в народно-хозяйственных целях;
- принципы системной организации, дифференциации и интеграции функций организма;
- основные этапы онтогенеза, морфологические, функциональные и биохимические изменения в ходе развития;
- принципы организации лабораторных работ, требования техники безопасности и приемы оказания первой помощи при несчастных случаях;

Студент должен уметь:

- использовать прогнозы последствий антропогенных воздействий на биосферу, планировать мероприятия по ее охране;
- использовать новые технологии обучения;
- работать с классическими объектами генетических исследований, проводить анализ результатов, решать задачи по генетике;
- осуществлять наблюдения, описания, идентификации, классификации, культивирования биологических объектов.

Студент должен владеть:

- навыками и методами исследований биологических объектов;
- электрофизиологическими методами и некоторыми другими функционально-диагностическими методами оценки состояния основных систем организма, методами экспериментальной работы с лабораторными животными;
- методами световой микроскопии;
- методами функциональной диагностики, исследования и анализа живых систем, математическими методами обработки результатов, понимать принципы построения и использования математических моделей биологических процессов;
- методами наблюдения, описания, культивирования, классификации, экспериментального анализа.

Общее количество часов – 40; аудиторное количество часов — 18, из них: лекции — 10, практические занятия — 8. Форма отчётности — зачет.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

РАЗДЕЛ 1 ВВЕДЕНИЕ

Тема 1. Введение в спецкурс

Предмет современной генетики человека, задачи и цели спецкурса. Особенности человека как объекта генетических исследований. Современные методы изучения генетики человека. Проблемы молекулярной медицинской генетики. Перспективы лечения наследственных болезней на геномном уровне. Задачи медико-генетических консультаций в свете расшифровки генома человека.

Тема 2. Главные аспекты генетической революции

Основные концептуальные аспекты и направления современной генетики. Молекулярно-генетическая диагностика наследственных заболеваний. Генная дактилоскопия. Фармакогенетика, производство генетических лекарств. Генная терапия.

Тема 3. Возникновение и этапы развития генетики человека

Представления древних о наследственности. Развитие наследственных теорий в эпоху возрождения. Концепция гена – одно из главных открытий человечества. Возникновение генетики человека и медицинской генетики. Этапы генетических исследований человека в XX веке. Проект геном человека.

РАЗДЕЛ 2 МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА

Тема 4. Роль нуклеиновых кислот в хранении и передаче наследственной информации

Генетическая роль ДНК и РНК. Строение нуклеиновых кислот. Механизмы репликации ДНК. Ферменты репликации. Репарация ДНК как механизм поддержания стабильности генетической информации.

Тема 5. Механизмы передачи наследственной информации

Процесс транскрипции, сплайсинг, трансляция. Этапы трансляции, биологическое значение транскрипции и трансляции. Генетический код и его характеристика. Вырожденность кода. Экспрессия генов. Регуляция экспрессии генов у эукариот.

РАЗДЕЛ 3 ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Тема 6. Мутации – источник наследственных заболеваний

Понятие о мутациях. Методы учета мутаций. Особенности учета мутаций

у человека. Причины генных мутаций. Понятие о мутагенах. Значение мутаций. Спонтанные мутации и наследственные болезни человека. Наследственные болезни и степень распространения в популяциях человека. Типы наследственных заболеваний. Значение диагностики наследственных болезней.

Тема 7. Классификация мутаций

Хромосомные мутации (делеции, дупликации, инверсии, транслокации). Генные мутации (транзиции, трансверсии). Геномные мутации (гаплоидия, полиплоидия, анеуплоидия). Жизнеспособность и плодовитость анеуплоидных форм. Мутационный процесс в различных экологических условиях. Роль изменчивости в адаптации организмов к условиям внешней среды. Защитные репарационные системы человека.

РАЗДЕЛ 4 ГЕНОМ ЧЕЛОВЕКА

Тема 8. Геном человека и манипуляции генетическим материалом

Кариотип человека. Генетическое картирование. Направленный перенос генетического материала. Анализ сцепления генов в хромосомах. Локализация генетических мутаций. Построение генетических карт. Перспективы генной терапии.

Тема 9. Клонирование человека и животных

Генетические предпосылки клонирования. Клонирование органов и тканей. Этапы и технологии клонирования Долли. Перспективы и этические аспекты развития генной инженерии и клонирования человека и его фрагментов.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА

Номер раздела, темы, занятия	Название раздела, темы, занятия, перечень изучаемых вопросов	Всего часов	Количество аудиторных часов				Материальное обеспечение занятия (наглядные, методические пособия и др.)	Литература	Формы контроля знаний
			лекции	семинарские занятия	лабораторные занятия	СУРС			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Введение в спецкурс 1. Предмет современной генетики человека, задачи и цели спецкурса. 2. Современные методы изучения генетики человека. 3. Проблемы молекулярной медицинской генетики.	2	2	-	-	-	Таблицы	[1] [4] [7] [8]	
2	Главные аспекты генетической революции 1. Основные концептуальные аспекты и направления современной генетики. 2. Молекулярно-генетическая диагностика наследственных заболеваний. Генная дактилоскопия. 3. Фармакогенетика, производство генетических лекарств. Генная терапия.	2	2	-	-	-	Таблицы	[1] [2] [5]	

3	Возникновение и этапы развития генетики человека 1. Представления древних о наследственности. 2. Развитие наследственных теорий в эпоху возрождения. 3. Возникновение генетики человека и медицинской генетики 4. Этапы генетических исследований человека в XX веке. Проект геном человека.	2	2	-	-	-	Таблицы, схемы	[2] [4] [8]	
4	Роль нуклеиновых кислот в хранении и передаче наследственной информации 1. Генетическая роль ДНК и РНК. Строение нуклеиновых кислот. 2. Механизмы репликации ДНК. Ферменты репликации. 3. Репарация ДНК как механизм поддержания стабильности генетической информации.	2	-	2	-	-	Таблицы	[5] [8] [10]	
5	Механизмы передачи наследственной информации 1. Процесс транскрипции, сплайсинг, трансляция. 2. Генетический код и его характеристика. 3. Экспрессия генов. Регуляция экспрессии генов у эукариот.	2	-	2	-	-	Таблицы, схемы	[3] [5]	
6	Мутации – источник наследственных заболеваний 1. Понятие о мутациях. 2. Понятие о мутагенах. 3. Спонтанные мутации и наследственные бо-	2	-	2	-	-	Таблицы	[5] [7] [8] [13]	

	лезни человека. Типы наследственных заболеваний.								
7	Классификация мутаций 1. Хромосомные мутации. 2. Генные мутации. 3. Геномные мутации. 4. Мутационный процесс в различных экологических условиях.	2	-	2	-	-	Таблицы	[8] [11] [13] [16]	Групповая консультация
8	Геном человека и манипуляции генетическим материалом 1. Кариотип человека. 2. Генетическое картирование. Построение генетических карт. 3. Перспективы генной терапии.	2	2	-	-	-	Таблицы	[8] [12] [14] [15]	Групповая консультация
9	Клонирование человека и животных 1. Генетические предпосылки клонирования. 2. Клонирование органов и тканей. Этапы и технологии клонирования Долли. 3. Перспективы и этические аспекты развития генной инженерии и клонирования человека и его фрагментов.	2	2	-	-	-	Таблицы	[6] [8] [9] [17]	Тестирование
Итого часов		18	10	8	-	-			

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

ПЕРЕЧЕНЬ СЕМИНАРОВ

- 1 Наследование заболеваний с простым типом наследования.
- 2 Изучение наследственных заболеваний сцепленных с полом
- 3 Этапы реализации генетической информации
- 4 Расшифровка генотипов на экспериментальных электрофореграммах
- 5 Типы мутаций в генетическом материале
- 6 Мутационный процесс в различных экологических условиях
- 7 Генетическое картирование

ПРИМЕРНАЯ ТЕМАТИКА СУРС

1. Законы Менделя и его концепция гена.
2. Основная догма современной биологии по Уотсону и Крику.
3. Генная терапия - новое направление в науке XXI века.
4. Три компонента генетической революции.
5. Расшифровка генетического кода.
6. Тонкая структура гена.
7. Родословная королевы Виктории.
9. Закон Харди-Вайнберга.
10. Группы крови у человека.
11. Гены с множественными аллелями.
12. Врожденные ошибки метаболизма по Гэрроду.
13. Модель ДНК по Уотсону и Крику.
14. Сиквенирование ДНК.
15. Сиквенирование белка.
16. Геносистематика.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

ОСНОВНАЯ

- 12Акимова, Т. А. Экология: / Т. А. Акимова, В. В. Хаскин.- учеб. (3-е изд.).- М., 2007.
- 13Гиляров, А. М. Популяционная экология/ А. М. Гиляров.- М., 1990.
- 14Маврищев, В.В. Основы экологии/ В.В. Маврищев.- Мн., 2007.
- 15Маврищев, В.В. Общая экология: курс лекций/ В.В. Маврищев.- Мн., 2007.
- 16Одум, Ю. Экология / Ю. Одум.- М., 1986.
- 17Поспелова, Т. Г. Основы энергосбережения/ Т.Г. Поспелова.- Мн., 2000.
- 18Радкевич, В. А. Экология/ В. А. Радкевич.- Мн., 1998.
- 19Рассашко, И.Ф. Основы экологии/ И.Ф. Рассашко, Д.В. Потапов, Г.Г. Гончаренко, В.Н. Веремеев, А.В. Гулаков, А.В. Крук, И.В. Кураченко.- Гомель, 2005.

20 Свидерская, О. В. Основы энергосбережения/ О. В. Свидерская.- Мн., 2000.

21 Чернова, Н. М., Экология/ Н. М. Чернова, А. М. Былова.- М., 2004.

22 Шилов, И. А. Экология/ И. А. Шилов.- М., 2006.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

**ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ
ПО ИЗУЧАЕМОЙ УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ
С ДРУГИМИ ДИСЦИПЛИНАМИ СПЕЦИАЛЬНОСТИ**

(изменить в соответствии с курсом)

Название дисциплины, с которой требуется согласование	Название кафедры	Предложения об изменениях в содержании учебной программы по изучаемой учебной дисциплине	Решение, принятое кафедрой, разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола)
Генетика	Кафедра зоологии, физиологии и генетики		Рекомендовать к утверждению учебную программу в представленном варианте протокол № ___ от _____.20__
Экология	Кафедра зоологии, физиологии и генетики		Рекомендовать к утверждению учебную программу в представленном варианте протокол № ___ от _____.20__

ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ
ПО ИЗУЧАЕМОЙ УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ
на ____/____ учебный год

№№ пп	Дополнения и изменения	Основание

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры
зоологии и охраны природы
(протокол № ____ от _____ 20__ г.)

Заведующий кафедрой
зоологии, физиологии и генетики _____ Г.Г. Гончаренко

УТВЕРЖДАЮ
Декан биологического факультета ГГУ имени Ф. Скорины
_____ В.С. Аверин

4.2 ПЕРЕЧЕНЬ РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

- 1 Шевченко, В.А. Генетика человека / В.А. Шевченко, Н.А. Топорнина, Н.С. Стволинская. – М.: Владос, 2004. – 240 с.
- 2 Айала, Ф. Современная генетика / Ф. Айала, Дж. Кайгер. – Т. 2. – М.: Мир, 1988. – 368 с.
- 3 Гринев, В.В. Генетика человека: курс лекций / В. В. Гринев. – Мн.: БГУ, 2006. – 131 с.
- 4 Лобашев, М.Е. Генетика с основами селекции / М.Е. Лобашев, К.В. Ватти, М.М. Тихомирова. - М.: Просвещение, 1979. – 489 с.
- 5 Гончаренко, Г.Г. Основы генетической инженерии. учебное пособие / Г.Г. Гончаренко.-Мн.: Высшая школа, 2005. – 183 с.
- 6 Дубинин, Н.П. Общая генетика / Н.П. Дубинин. - М.: Наука, 1986. - 428 с.
- 7 Айла, Ф. Современная генетика / Ф. Айла, Дж. Кайзер.- М.: Мир, 1987. - 368 с.
- 8 Инге-Вечтомов, С.Г. Генетика с основами селекции / С.Г. Инге-Вечтомов. - М.: Высш. шк., 1989. – 328 с.
- 9 Заяц, Р.Г. Основы общей и медицинской генетики: учеб. пособие / Р.Г. Заяц, И.В. Рачковская.- Мн.: Выш. шк., 1998. - 255 с.
- 10 Ачиханян, С.П. Общая генетика / С.П. Ачиханян, А.П. Акифьев, Л.С. Чернин. М.: Высш. шк., 1985. – 345 с.
- 11 Картель, Н.А. Энциклопедический словарь / Н.А. Картель. Мн.: Тэхналогія, 1999. – 447с.
- 12 Орлова, П.Н. Генетический анализ / П.Н. Орлова.- М.: Моск. ун-т, 1991. – 189с.

Дополнительная

- 1 Гуляев, Т.В. Задачник по генетике / Т.В. Гуляев.- М., Колос. 1980.-157с.
- 2 Каминская, Э.А. Сборник задач по генетике / Э.А. Каминская.- М., 1982.- 197 с.
- 3 Сборник задач по общей генетике: учеб. пособие / под ред. М.М. Асланяна. - М.: МГУ, 2001. – 144с.
- 4 Максимов, Г.В. Сборник задач по генетике / Г.В. Максимов, В.И. Степанов, В.Н. Василенко. – учеб. пособие. – М.: Вузовская книга, 2001. - 136с.
- 5 Приходченко, Н.Н. Основы генетики человека: учеб. пособие / Н.Н. Приходченко, Т.П. Шкурят.- Ростов-на-Дону: «Феникс», 1997. – 368 с.

- 6 Морозов, Е.И. Генетика в вопросах и ответах / Е.И. Морозов, Е.И. Тарасевич, В.С. Анохина.- Мн.: Университетское, 1989.- 257с.
- 7 Докинз, Р. Эгоистический ген / Р. Докинз. - М.: Мир, 1993.- 354с.
- 8 Дубинин, Н.П. Некоторые проблемы современной генетики / Н.П. Дубинин.- М.: Наука, 1994.- 387с.
- 9 Кайданов, Л.З. Генетика популяций / Л.З. Кайданов.-М.: Высш. шк., 1996.-267с.
- 10 Сингер, М. Гены и геномы / М. Сингер, П. Берг.- М.: Мир, 1998.- 435с.
- 11 Рокицкий, П.Ф. Введение в статистическую генетику / П.Ф. Рокицкий.-Мн.: Выш. шк., 1974.- 418с.
- 12 Песецкая, Л.Н. Сборник задач по генетике: учеб.-метод. пособие / Л.Н. Песецкая, Г.Г. Гончаренко, Н.Н. Острейко.- Гомель: ГГУ, 2002.-114 с.
- 13 Писарчик, Г.А. Сборник задач по генетике / Г.А. Писарчик, А.В. Писарчик.- Мн.: Аверсэв, 2008.- 240с.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

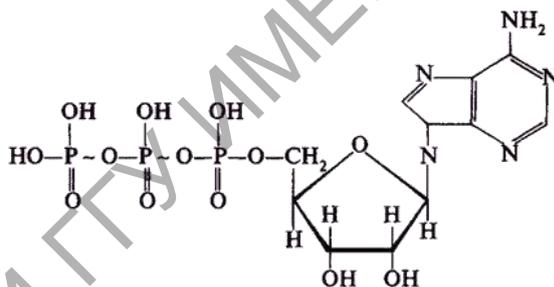
4.3 ГЛОССАРИЙ

А

Авторадиограмма – фотографический отпечаток, фиксирующий расположение фракций ДНК, полученных в результате электрофореза и гибридизовавшихся с радиоактивно меченым зондом. Получают путем наложения чувствительной к радиоактивному излучению фотопленки на нитроцеллюлозную мембрану, полученную после Саузерн-блот гибридизации (см.).

Аденин, А [adenine, А, гр. *aden* – железа и лат. *-in(e)* – подобный] – пуриновое азотистое основание, 6-аминопурин. А. содержится во всех живых клетках в составе нуклеиновых кислот (ДНК и РНК), аденозинфосфорных кислот, циклического АМФ, коферментов (НАД, НАДФ) и др. В ДНК аденин комплементарен тимину (см.) и образует с ним две водородные связи.

Аденозинтрифосфат (АТФ) – рибонуклеозид-5-трифосфат, участвующий в энергетическом цикле клетки в качестве донора фосфатной группы.



Alu-семейство – семейство умеренно повторяющихся последовательностей ДНК, известное у многих млекопитающих и у некоторых других организмов; размер *Alu*-повтора около 300 п. н., а в каждом таком повторе расположен сайт узнавания для рестриктазы *AluI*.

Альтернативный сплайсинг иРНК – вариант сплайсинга, при котором происходит соединение экзонов гена в разных комбинациях, и, следовательно, образование различных зрелых молекул иРНК.

Аминоацил-тРНК-синтетаза (кодаза) – фермент, который катализирует присоединение аминокислоты к соответствующей ей молекуле тРНК (рис).

Существует 20 типов аминоацил-тРНК-синтетаз (по числу аминокислот). У каждой тРНК-синтетазы 3 центра связывания: для аминокислоты, тРНК и АТФ. Сначала осуществляется связь аминоацил-тРНК-синтетазы с определенной аминокислотой, а затем активированная с помощью АТФ аминокислота присоединяется к аденину акцепторного триплета ЦЦА тРНК.

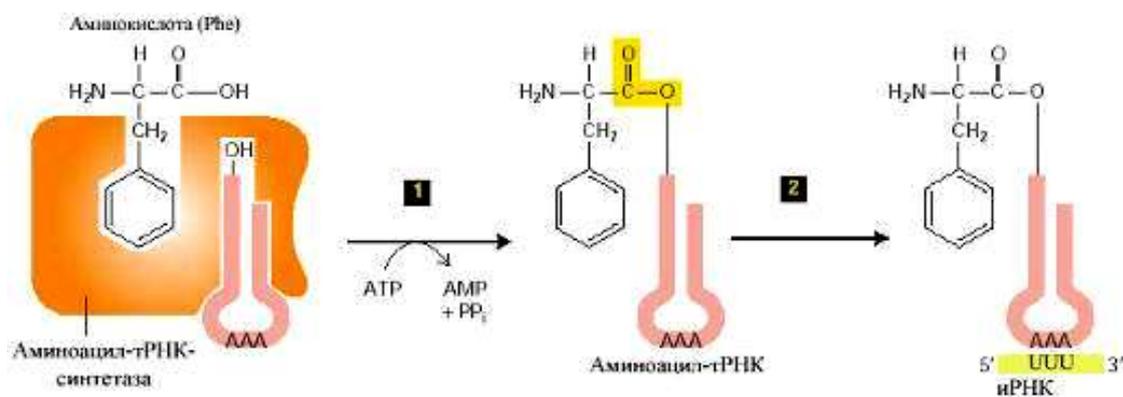


Рис. Присоединение аминокислоты фенилаланина к терминальному аденозину соответствующей тРНК с помощью фермента аминоксил-тРНК-синтетазы (1 этап) и соединение антикодона ААА аминоксил-тРНК с соответствующим кодоном УУУ мРНК (этап 2)

Аминокислота - органическое соединение, содержащее аминогруппу (-NH₂) и карбоксильную группу (-COOH). Известно 20 основных аминокислот входящих в состав белков. Общая формула для аминокислоты: NH₂-CR-COOH, где R -это радикал, специфичный для каждой отдельной аминокислоты.

Амниоцентез (*amniocentesis*) - взятие проб амниотической жидкости при пренатальной диагностике (см.) пороков развития плода, генных и хромосомных мутаций, определении пола эмбриона путем прокола через кожу и мускулатуру брюшной полости, матку и амниотический мешок, окружающий плод. Клетки, отслаивающиеся от плода и находящиеся в жидкости в виде суспензии, культивируют в течение 3 недель, чтобы получить большее их количество и провести хромосомный, биохимический и молекулярно-генетический анализ. А. не может быть проведен раньше 16 недель беременности из-за недостаточных размеров мешка, в котором находится эмбрион.

Амплификация (*amplification*) - процесс увеличения (размножения) количества нитей ДНК, числа копий гена (см. Амплификация генов).

Амплификация генов (*gene amplification*) - 1. Увеличение числа копий к.-л. гена в данной клетке или в пробирке методом ПЦР - полимеразной цепной реакции (см.). 2. Любой процесс, при котором специфическая последовательность ДНК увеличивается непропорционально родительским клеткам. В течение развития некоторые гены амплифицируются в специализированных тканях, напр., рибосомные гены амплифицируются и активно функционируют в течение оогенеза, особенно в ооцитах некоторых амфибий. Гены у дрозофилы, кодирующие белки хорионов, также амплифицируются в оволирующих фолликулярных клетках.

Амплификатор, термоциклер (*amplificator or thermocycler*) -

прибор, обеспечивающий по программе быстрое нагревание и охлаждение малых объемов реакционной смеси. А. используется для осуществления ПЦР – полимеразной цепной реакции (см.). Он позволяет проводить тепловую денатурацию ДНК (ок. 90-94°C), отжиг праймера (при 50°C) и удлинение праймера (синтез цепи ДНК при 70-72°C).

Антикодон – группа из трёх оснований, занимающая фиксированное положение в транспортной РНК (см. Транспортная РНК), которая комплементарна кодону (см.) в информационной (матричной) РНК (см.).

Антионкогены (гены-супрессоры опухолевого роста) – гены, активность которых препятствует развитию опухолей. По своему функциональному назначению антионкогены являются антагонистами онкогенов. Хорошо изученным антионкогеном является ген Rb, (кодирует белок pRb, подавляющий клеточные деления в нормальных клетках). Мутация этого гена приводит к образованию ретинобластомы и некоторых других опухолей (остеосаркомы, карциномы лёгких, мочевого пузыря, простаты).

Апоптоз – процесс программированной гибели клетки, которая происходит при нормальном развитии, функционировании и обновлении тканей. Отличается от некроза, при котором гибель клетки обусловлена действием внешних факторов (стресс или токсины).

Аутосплайсинг – сплайсинг предшественников мРНК, происходящий без участия каких-либо др. макромолекул (ферментов), т.е. мРНК сама является катализатором этого процесса (рибозимом); явление А. открыто Т. Цехом с соавт. в 1981 при анализ процессинга рибосомной 26S-рРНК у инфузории *Tetrahymena thermophila*.

Б

Бактериофаг – вирус, поражающий определенный тип бактерий. Общее название вирусов, инфицирующих бактерии – фаги (бактериофаги).

Бактериофаг λ , фаг λ – умеренный бактериофаг, инфицирующий *E. coli* (см.). Его геном представляет собой линейную двунигчатую ДНК размером в 49 кб, упакованную в белковую оболочку. На каждом 5'-конце ДНК имеются одноцепочечные комплементарные участки (см. *Cos*-сайты) длиной в 12 нуклеотидов (см. Липкие концы, Космиды), что позволяет ей образовывать кольцевые структуры после попадания в клетку-хозяина. Фаг λ обладает способностью к умеренной инфекции, т. е. кроме разрушения клетки он может встраивать свою ДНК в хромосому бактериальной клетки и длительное время реплицироваться синхронно с ДНК хозяйской клетки.

Банк генов (*gene bank*) – набор генов данного организма, полученный на основе рекомбинантных ДНК (см. Геномная библиотека, Библиотека генов).

Белки «цинковые пальцы» – одна из основных групп ДНК-связывающих белков: являются регуляторами транскрипции, содержат характерный домен, который включает 2 цистеиновых и 1 гистициновый остаток: – эти аминокислоты взаимодействуют с ионом цинка, а расположенная между ними полипептидная цепочка выпетливается в виде «пальца»; обширная группа Б.«Ц.П.» кодируется широко диспергированными по геному генами группы *Zfp* (например, у мыши известны на хромосомах X, Y, 11 и 8); один из наиболее известных Б.«Ц.П.» кодируется геном Крюппеля.

Библиотека генов (*gene library*) – коллекция произвольно клонированных фрагментов геномной ДНК организма (см. Геномная библиотека, Банк генов) или специальный набор фрагментов ДНК, представляющих, напр., коллекцию иРНК (см. РНК информационная, кДНК), экспрессирующуюся в клетке в определенное время. В таких библиотеках фрагменты инсерцируются (включаются) в подходящие вектора, напр, космидные (см. Космида) или бактериальные векторы, и трансформируются (см. Трансформация) в подходящего хозяина. В идеале геномная библиотека должна содержать практически весь геном вида, из которого она происходит, а библиотека кДНК – все различные молекулы иРНК данной клетки на одной и той же стадии развития. Сейчас сконструировано множество типов генных библиотек для различных целей исследования.

Бластомеры (*blastomere*) – дробящиеся клетки, образующиеся при митотических делениях яйцеклетки (зиготы), которые обладают потенциями, реализуемыми в процессе развития. Б. не растут, поэтому уменьшаются в размерах при последовательных делениях.

Бластула (*blastula*) – зародыш многоклеточных животных, образующийся в процессе последовательных дроблений яйца (зиготы), от типа которых зависит строение Б.

Биополимеры — высокомолекулярные органические соединения, входящие в состав живых организмов (белки, полисахариды, нуклеиновые кислоты).

Блоттинг [blotting – промакание] – этап процесса Саузерн-блот гибридизации, в результате которой весь электрофоретический спектр ДНК отпечатывается (blotting) за счет капиллярных сил на приложенной к гелю нитроцеллюлозной мембране (пленке), после чего фиксируется при помощи высокой температуры.

Бокс Хогнесса, ТАТА-бокс – специфическая последователь-

ность нуклеотидов, присутствующая в промоторных областях генов эукариот; обобщенная структура Б.Х. – ТАТА(АТ)А(АТ); выполняет регуляторную функцию – участвует в инициации транскрипции, обеспечивая ориентацию РНК-полимеразы относительно промотора, функционально эквивалентен боксу Прибнова у прокариот.

Бокс Прибнова – нуклеотидная последовательность у прокариот, расположенная за 10 нуклеотидов от точки инициации транскрипции и обычно состоящая из 6 (иногда до 9) оснований, каноническая последовательность Б.П. – ТАТААТ; предполагается, что на участке Б.П. происходит расплетание цепей ДНК в момент инициации транскрипции, также Б.П. необходим для правильного ориентирования РНК-полимеразы на промоторе; аналогом Б.П. у эукариот является бокс Хогнесса, выполняющий те же функции.

В

Вектор клонирования, клонирующий вектор (cloning vector) [лат. *vector* - везущий, несущий; гр. *clon* - отпрыск, ветвь] – рекомбинантный вектор (см. *Вектор*), содержащий сайты рестрикции, по которым в него может быть встроен любой подлежащий клонированию чужеродный фрагмент ДНК, и способный к автономной репликации в бактериальных, дрожжевых или иных клетках.

Вектор, переносчик – молекула ДНК, способная самостоятельно реплицироваться в клетках различных организмов, включать в себя чужеродную ДНК и обеспечивать размножение (клонирование) и работу (экспрессию) встроенного в неё искусственно какого-либо гена. Является инструментом генной инженерии, обеспечивающим доставку (перенос) генетической информации в клетку-реципиент и ее клонирование (см.).

λ вектор – вектор сконструированный на базе фага λ (см.), использующийся при клонировании достаточно больших фрагментов чужеродной ДНК длиной около 15 кб.

Величина генома (*genome size*) – количество пар оснований (п.о.) ДНК в расчете на гаплоидный геном; иногда (что неверно) понятие В.г. используется для обозначения весового содержания ДНК (в пикограммах на клетку). По последним данным В.г. составляет: у бактерий– $2 \cdot 10^6$ п.о., нематод– $1 \cdot 10^8$ п.о., насекомых– $2,3 \cdot 10^9$ п.о., моллюсков– $1,6 \cdot 10^9$ п.о., рыб– $1,4 \cdot 10^9$ п.о., птиц– $1,2 \cdot 10^9$ п.о., млекопитающих– $2,6 \cdot 10^9$ п.о., человека– $3 \cdot 10^9$ п.о., голосеменных– $1,6 \cdot 10^{10}$ п.о.

Вирусы – формы внеклеточной жизни, которые состоят из ДНК (ДНК-вирусы: аденовирусы, бакуловирусы, геминивирусы и др.) или РНК (РНК-вирусы: бромовирусы, ретровирусы и др.) и белковой обо-

лочки. В. не содержат клеточных органелл и используют для репликации метаболизм клетки хозяина. Клетка хозяина может быть разрушена в процессе репликации, и В. освобождается из клетки. В., патогенные для бактерий называют бактериофагами (см.).

Вирус sv-40, вирус обезьян – полиомавирус, геном которого состоит из кольцевой двунитчатой молекулы ДНК размером в 5,2 кб, содержащей 5 генов. Впервые был обнаружен у африканской зеленой марьяшки *Cercopithecus aethiops*. Инфицирует культивируемые клетки приматов, исключая человека. Размножение В. о. приводит к образованию до 100 000 вирусных частиц в одной клетке – это позволяет использовать вирусную ДНК в качестве эффективного вектора в генной инженерии.

Вторичный мессенджер (вторичный посредник) – химическое соединение внутри клетки, вовлеченное в инициацию ответа на сигнал от химического носителя (например, гормона), который не может проникнуть в клетку-мишень.

Вырожденность кода - свойство генетического кода, заключающееся в том, что 18 из 20 аминокислот кодируются несколькими кодонами. Одним кодоном кодируются только аминокислоты метионин и триптофан.

Высокоповторяющаяся ДНК – нуклеотидные последовательности, содержащиеся в геноме в сотнях тысяч или миллионах повторов и первыми реассоциирующиеся во время ренатурации тотальной ДНК. Входят в состав гетерохроматина и сателлитной ДНК.

Г

β -галактозидаза (*β -galactosidase*) – фермент, который катализирует расщепление лактозы на глюкозу и галактозу. У *E. coli* β -г. является тетрамером, кодируемым *lac-Z*-геном, размером 500 Д. β -г. относится к группе адаптивных ферментов, т. е. его синтез возможен только при наличии субстрата (лактозы) во внешней среде.

G белки – белки, локализованные на внутренней поверхности плазматической мембраны, которые соединены с гуанозин три- и дифосфатами (ГТФ и ГДФ). Передают сигналы с внешней стороны мембраны через трансмембранные рецепторы (G-белок сопряженный рецептор) к аденилатциклазе, которая катализирует формирование внутри клетки вторичного переносчика - циклической АМФ.

Гель – желеобразный матрикс, состоящий из полимерного компонента и буферного раствора, используется для разделения в процессе электрофореза молекул ДНК и РНК (агарозный Г., полиакриламидный Г.) или белков (полиакриламидный или крахмальный, Г.).

Ген – основная физическая и функциональная единица наследственности, несущая информацию от одного поколения к другому. Г. представляет собой специфическую последовательность нуклеотидов в ДНК, а у некоторых вирусов – в РНК, детерминирующих или нуклеотидную последовательность транспортных РНК (тДНК), или рибосомных РНК (рДНК), или последовательность аминокислот в белках. Как правило, Г. состоят из кодирующих (экзоны) и некодирующих (интроны) последовательностей. Интронные последовательности чаще всего встречаются у эукариот. Любой Г., занимает строго определенное место, или локус (см.), в хромосоме и может мутировать в различные аллельные состояния, а также рекомбинировать с гомологичными генами. Действие Г. проявляется в фенотипе. По выполняемым функциям Г. подразделяют на 3 класса: а) структурные Г., которые транскрибируются (см. Транскрипция) на ДНК, а затем транслируются на рибосомах (см. Трансляция) в полипептидные цепочки; б) структурные Г., которые транскрибируются в рРНК или тРНК и сами непосредственно используются; в) регуляторные Г., которые не транскрибируются, но служат сайтами узнавания (см.) для ферментов и др. белков при репликации и транскрипции ДНК. Термин введен В. Иогансенем в 1909 г. и нередко заменяется понятиями "наследственный фактор".

Ген устойчивости – ген, кодирующий белок, который катализирует разрушение токсина. Г. у. часто используются в векторах клонирования (см.) для облегчения отбора трансформантов (напр., ген антибиотикоустойчивости и др.).

Ген-регулятор (*regulator gene*) – ген, кодирующий белок-репрессор, взаимодействующий с геном-оператором и таким образом регулирующий транскрипцию "своего" оперона у прокариот.

Генная терапия - лечение наследственных заболеваний путем введения генов в клетки пациентов с целью направленного изменения генных дефектов.

Генетическая дактилоскопия и идентификация индивидуумов – точная идентификация (дактилоскопия) индивидуумов животных и растений на основе молекулярно-генетического анализа индивидуальных образцов ДНК (см. Генная дактилоскопия, ДНК-фингерпринтинг, Фингерпринт ДНК, Секвенирование ДНК, ПЦР-технологии).

Генетическая инженерия, генная и. – 1. Наука о генетическом конструировании, направленном создании новых форм биологически активных ДНК и генетически новых форм клеток и целых организмов с помощью искусственных приемов переноса генов (технологии ре-

комбинантных ДНК, генетической трансформации, гибридизации клеток). 2. Экспериментальные разделы молекулярной и клеточной биологии, которые позволяют *in vitro* изменять структуру генов, создавать новые гены или конструировать химерные гены (см. рекомбинантная ДНК). Г. и. возникла в 1972 г., когда впервые П. Берг создал рекомбинантную ДНК, включавшую в себя фрагменты фага-λ, *E. coli* и вируса обезьян sv40 (см.).

Генетическая трансформация (*genetic transformation*) – см. Трансформация.

Генетические карты – карты линейного расположения генов на хромосоме (группы сцепления), выявленные в экспериментах по генетическим рекомбинациям, а также распределение генов по разным хромосомам, как правило, с указанием генетического расстояния между ними.

Генетический код – система записи наследственной информации в молекулах нуклеиновых кислот (см.), основанная на определенном чередовании последовательностей нуклеотидов в ДНК или РНК, образующих кодоны (см.) для соответствующих аминокислот в белках. Г. к. триплетен (см. Триплет) – 3 нуклеотида кодируют 1 аминокислоту. Код называют вырожденным (см. Вырожденность кода), т.к. 18 из 20 аминокислот определяется не одним, а большим числом кодонов. Код читается с фиксированной точки старта, в одном направлении, по 3 последовательно следующих друг за другом нуклеотида (триплета). Г. к. универсален для всех живых организмов.

Генная дактилоскопия – точная идентификация (дактилоскопия) особи на основе молекулярно-генетического анализа индивидуальных образцов ДНК (см. ДНК-фингерпринтинг, Фингерпринт ДНК).

Геном (*genom*) – совокупность генов, составляющих гаплоидный набор хромосом данного вида организма. Основной гаплоидный набор хромосом.

Геномика - раздел генетики, предметом которого является изучение принципов построения геномов и их структурно-функциональной организации.

Геномная библиотека (*genomic library*) – набор клонированных (см. Клонирование) фрагментов ДНК, представляющих индивидуальный (видовой) геном (см. Библиотека генов, Банк генов). У млекопитающих (в т. ч. у человека) геномы крупные, поэтому для них обычно создают хромосомные библиотеки (см.).

Геномная ДНК (*geitomic DNA*) – 1. Вся хромосомная ДНК организма; 2. Ядерная ДНК в клетках эукариот (см. Дезоксирибонуклеиновая кислота).

Гетерогамия [гетеро + и гр. *gamos* – брак] – тип полового процесса, при котором две гаметы, сливающиеся при оплодотворении, различаются по внешнему виду. При гетерогамии в узком смысле гаметы обоих полов различаются только по размеру – гетерогаметы, анизогаметы (см. Анизогамия) и не различимы по форме и поведению (например, подвижные жгутиковые гаметы некоторых водорослей). Крупная гамета называется макрогаметой (яйцеклеткой), мелкая – микрогаметой (сперматозоидом). При широком толковании гетерогамия включает в себя также оогамия (у всех животных, всех высших и многих низших растений), при которой яйцеклетка и сперматозоид (спермий) различаются по размеру, форме и поведению.

Гетерохроматин (*heterochromatin*) – часть хроматина, находящаяся в конденсированном состоянии в интерфазе клеточного цикла, как правило, реплицируется позже эухроматина и в основном составлен высокоповторяющимися последовательностями; ДНК в составе Г. чаще всего не транскрибируется; термин «Г» предложен Э. Хейтцем в 1922 г.

Гибридизация праймеров – вторая стадия ПЦР в ходе которой при снижении температуры в реакционной смеси *in vitro* с 92°C до 50°C происходит гибридизация праймеров с матричными цепями ДНК (см. отжиг). Эта стадия обычно протекает 30 секунд.

Гибридная (рекомбинантная) ДНК – новая последовательность ДНК, образованная *in vitro* путем лигирования (см.) двух или более негомологичных молекул ДНК. Напр., рекомбинантная плаزمид (см.), содержащая одну или более вставок чужеродной ДНК, которые включены в сайт клонирования или в полилинкер. Организмы, содержащие такие *in vitro* сконструированные ДНК, также относятся к рекомбинантам (рекомбинантный фаг, бактерия). Рек. ДНК широко используется в генетической инженерии *in vitro*.

ГМО (генетически модифицированный организм) – организм, генотип которого был искусственно изменён при помощи методов генной инженерии (см. Наследственно измененные организмы, трансформированные организмы, трансгенные организмы).

Гуанин, Г [*guanine*, G, исп. *huanu* – навоз и лат. *-in(e)* – суффикс, обозначающий «подобный»] – пуриновое основание (2-амино-6-оксипуридин), комплементарное цитозину (см. Цитозин, Ц) в нуклеиновых кислотах, содержится во всех живых клетках в составе ДНК и РНК, входит в состав гуанозина. Г. – структурный компонент низкомолекулярных коферментов, исходное вещество при биосинтезе птеринов, рибофлавина, фолиевой кислоты. Нуклеотид Г. (гуанозинтри-

фосфат, ГТФ) участвует в синтезе белка, активации жирных кислот, цикле трикарбоновых кислот, глюконеогенезе.

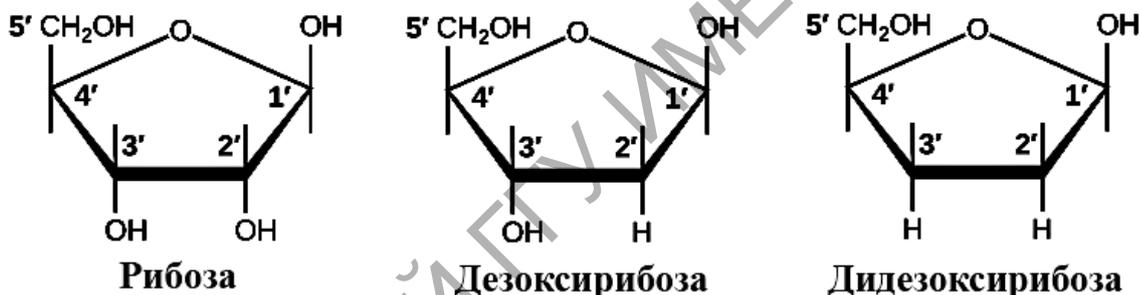
Д

Двухцепочечная молекула кДНК – см. кДНК, комплементарная ДНК.

Двунаправленная репликация – репликация, при которой две репликационные вилки движутся в противоположных направлениях от общего старта - $oriC$.

Д-петля – область внутри митохондриальной ДНК, в которой небольшой участок РНК-праймера взаимодействует с одной из цепей ДНК, вытесняя исходную комплементарную цепь. Этот же термин используется при описании события, катализируемого RecA-белком, которое заключается в замене одной цепи в дуплексной ДНК другой одноцепочечной ДНК, захваченной извне.

Дезоксирибоза – молекула рибозы у которой отсутствует гидроксильная группа при 2'-углеродном атоме сахарного кольца, входит в состав дезоксинуклеотидов.



Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) – высокомолекулярный полимер, состоящий из четырех дезоксирибонуклеотидов (А, Т, Ц, Г), аperiodическим чередованием которых кодируется генетическая информация вирусов, бактерий и высших организмов. ДНК может быть однонитчатой (*ss*ДНК), как, напр., у некоторых вирусов, или двунитчатой (*ds*ДНК) у всех высших организмов. У двунитчатой ДНК две комплементарные нити закручены в спираль, одна нить вокруг другой с противоположной ориентацией (антипараллельны, $5' \rightarrow \rightarrow \rightarrow 3'$ и, наоборот, $3' \rightarrow \rightarrow \rightarrow 5'$). Две нити удерживаются вместе водородными связями между комплементарными основаниями (А = Т; Г = Ц). ДНК способна к самоудвоению, что обеспечивает генетическую преемственность между поколениями в процессе размножения. Нарушение последовательностей нуклеотидов в цепи ДНК приводит к наследственным изменениям – мутациям.

Денатурация ДНК – 1. Процесс разъединения двойной спирали нуклеиновых кислот на комплементарные одноцепочечные нити под

действием физических и химических факторов (температуры, давления, рН и др.). 2. Первая стадия ПЦР в ходе которой происходит нагревание температуры в реакционной смеси *in vitro* до 90°C. При этом, в течении 15 секунд происходит разрушение слабых водородных связей между нитями ДНК, и из одной двухцепочечной молекулы ДНК образуется две одноцепочечные.

Дидезоксинуклеотид, ddNTP (Dideoxynucleotide) - Полученный искусственным путем нуклеозидтрифосфат, без гидроксильных групп при 2'- и 3'-углеродных атомах сахарного кольца (ddATP, ddGTP, ddTTP, ddCTP).

Дидезоксирибоза – молекула рибозы у которой отсутствуют гидроксильные группы при 2'- и 3'-углеродных атомах сахарного кольца, входит в состав дидезоксинуклеотидов (см. рибоза, дезоксирибоза).

Дистрофин (*dystrophin*) – крупный мышечный белок (молекулярная масса Д. человека - 427 кД), связанный с внешней мембраной многоядерных мышечных волокон и вовлеченный в патогенез широко распространенных мышечных дистрофий Дюшенна и Беккера; ген Д. расположен в X-хромосоме (Xp21.2), и является одним из самых больших генов человека (длина около 2,6 млн. п. н., содержит 79 экзонов).

ДНК-ДНК гибридизация (*DNA-DNA hybridization*) – процесс образования двухцепочечной ДНК из двух комплементарных однонитчатых молекул ДНК.

ДНК-лигаза – фермент, который катализирует образование фосфодиэфирных связей между соседними нуклеотидами в молекуле ДНК. Связи образуются между C–C, C–S, C–O и C–N за счет энергии сопряженной реакции гидролиза. В технологии рекомбинантной ДНК используются в основном две ДНК-л., выделенные из *E. coli* и *T4*. ДНК-л. соединяет две молекулы ДНК путем лигирования (см.) тупых или липких концов. Впервые была выделена Б. Вейсом и К. Ричардсоном в 1966 г.

ДНК-зонд (проба) – определенная (известная) радиоактивно- и нерадиоактивно меченая последовательность нуклеиновой кислоты, используемая в молекулярном клонировании для идентификации специфических молекул ДНК, имеющих комплементарные последовательности. Для этого используется радиоавтография или к.-л. др. система детекции (обнаружения) нерадиоактивно меченого зонда.

ДНК-матрица (*template*) – последовательности оснований ДНК (РНК), служащие в качестве основы для синтеза комплементарных нитей нуклеиновых кислот (см.).

ДНК-полимеразы (*DNA-polymerases*) – ферменты, участвующие в синтезе ДНК. У *E. coli* были выделены 3 типа ДНК-п.: *pol I*, *pol II* и *pol III*. *Pol III* является основным ферментом, ответственным за репликацию (см.) ДНК в клетке бактерий. Два др. фермента функционируют преимущественно при восстановлении (репарации) ДНК. Эукариоты содержат множество видов ДНК-п., находящихся в разных частях клетки: в ядре, цитоплазме или митохондриях, и выполняют различные функции, такие, как репликация, репарация и рекомбинация.

ДНК-топоизомеразы – группа ферментов, которые контролируют уровень суперскрученности ДНК.

ДНК-фингерпринтинг, метод (техника) создания фингерпринта (*DNA fingerprinting or DNA fingerprint technique*) – (см. Фингерпринт ДНК), для чего геномная ДНК рестриктируется эндонуклеазами (см.), образующиеся фрагменты разделяются при помощи гелевого электрофореза (см.), переносятся на мембраны (нитроцеллюлозные фильтры, см.) и гибридизуются с мечеными зондами (см.) для фингерпринта (ДНК фага *M13*, различные синтетические олигонуклеотиды, кДНК; геномные зонды, содержащие последовательности генов; мини- и микросателлиты ДНК). В случае наличия в исследуемой ДНК участков, гомологичных зондам, образуются полиморфные полосы гибридизации, как правило, специфичные для каждого образца ДНК. Поэтому метод может быть использован для генетической идентификации (дактилоскопии) индивидуумов одного вида. Применяется при картировании геномов, выяснении отцовства, в криминалистике.

Домен – участок полипептидной цепи белка, выполняющий какую-либо его функцию (например, цитоплазматический Д., трансмембранный Д. и т.п.); каждый Д. кодируется участком гена, расположенным между соседними интронами (т.е. одним экзоном), что обуславливает эволюционный консерватизм положения интронов (например, в генах гемоглобина млекопитающих); также Д. – дискретный участок хромосомы, спирализующийся независимо от соседних участков (доменов) или обладающий повышенной чувствительностью к ДНКазе.

Е

***Escherichia coli*, *E. coli*, кишечная палочка** – грамотрицательная кишечная бактерия, широко известная в молекулярной биологии. Её геном (хромосома) включает ок. 4500 кб ДНК, организованных в 50 независимых топологических доменов, и содержит серию инсерций. В н. вр. весь геном *E. coli* секвенирован полностью. *E. coli* имеет

большое значение для экспериментальных исследований рекомбинантной ДНК (см.), т. к. она служит хозяином для большого числа разных вирусов, плазмид и космидного клонирования векторов (см. Вектор клонирования. Космида).

EcoRI – одна из широко применяемых рестрикционных эндонуклеаз, или рестриктаз (см.), извлекаемая из *Escherichia coli*, которая в двухцепочечной ДНК узнает последовательность из шести нуклеотидов ГААТТЦ и разрезает ее между Г и А, образуя липкие концы (см.).

З

Запаздывающая цепь – цепь дочерней ДНК, на которой синтез комплементарной цепи во время репликации осуществляется посредством соединения фрагментов Оказаки.

И

Изоакцепторные тРНК – группа тРНК, связывающих одну и ту же аминокислоту, но имеющих разные антикодоны; разные И.тРНК узнаются одной и той же аминоацил-тРНК-синтетазой; И.тРНК отсутствуют у метионина и триптофана, а наибольшее их число (по 6) распознают кодоны аденина, лейцина и серина; И.тРНК могут иметь одинаковые антикодоны, но различную первичную структуру.

Инвертированные концевые повторы – короткие гомологичные последовательности, ориентированные в противоположных направлениях, расположенные на концах некоторых мобильных генетических элементов, например, IS-элементов.

Инвертированный повтор – участок молекулы нуклеиновой кислоты, два сегмента которого имеют одинаковую нуклеотидную последовательность, но противоположную ее ориентацию.

Иницирующий кодон (*initiator codon*) – кодон АУГ в составе мРНК, кодирующий метионин (формилметионин), с которого начинается (иницируется) синтез многих (возможно - всех) полипептидных цепей, у бактерий кроме АУГ инициацию определяет иногда ГУГ, у эукариот – всегда АУГ.

Иницирующий комплекс – структура, необходимая для инициации синтеза полипептидной цепи рибосомами, состоит из малой (30S) субъединицы рибосомы, молекул иницирующих факторов, формилметиониновой тРНК, ГТФ и собственно транслируемой мРНК; также И.К. – комплекс РНК-полимеразы с матричной ДНК и инициаторным рибонуклеозидтрифосфатом, образование которого необходимо для инициации транскрипции.

Информационная (матричная) РНК (и-РНК, мРНК) — форма РНК, осуществляющая передачу записанной в ДНК информации к местам синтеза белка, состоит из одной цепи, содержит от одной до десяти тысяч пар оснований.

Интроны, интрогенные районы (*introns or intragenic regions or intervening sequences*) – последовательности нуклеотидов у эукариотических генов, транскрибируемых в про-иРНК, которые затем вырезаются и деградируют в ядре. Остающиеся последовательности транскрипта (см. Экзоны) соединяются, образуя зрелую информационную РНК (см.), с которой осуществляется трансляция белка. Т. о. И. никогда не присутствуют в белке. И. различаются по длине (от 50 до 12000 нуклеотидов), по их числу на один ген (один и более) и по последовательности нуклеотидов. Однако в большинстве И. пограничные сайты между И. и экзоном идентичны. Эти пограничные участки обеспечивают правильное вырезание (эксцизию, см.) И. и сплайсинг (см.) экзонов.

Информационная (матричная) РНК (и-РНК, мРНК) – форма РНК, осуществляющая передачу записанной в ДНК информации к местам синтеза белка, состоит из одной цепи, содержит от одной до десяти тысяч пар оснований.

Искусственные генетические структуры – целенаправленно сконструированные (созданные) новые формы биологически активных ДНК и генетически новые формы клеток с помощью искусственных приёмов переноса фрагментов ДНК, целых генов или их частей.

In vitro (лат.), "в пробирке" – биологические процессы, смоделированные при их экспериментальном изучении в условиях изоляции от всего (целого) организма, т. е. "в пробирке", напр., культура ткани, фермент-субстратная реакция и т.д.

In vivo – выращивание живого материала в естественных условиях.

К

Картирование (*mapping*) – установление позиций генов или каких-то определенных сайтов (см.) вдоль нити ДНК (см. Генетические карты, Рестрикционные карты).

Картирование генов (*gene mapping*) – установление линейной организации генов, определение относительной локализации генов на хромосомах (см. Хромосомные карты) или плаزمиде (кольцевая карта сцепления) и относительного расстояния между ними. Генетические карты можно создавать на основе анализа рекомбинаций (см.), принятого в классической генетике, или на основе данных молеку-

лярной генетики, т. е. напрямую используя данные сиквенса ДНК (см. Секвенирование ДНК).

Катаболическая репрессия – ослабление экспрессии многих бактериальных оперонов, происходящее при добавлении глюкозы; вызывается уменьшением уровня циклического АМР в клетке и инактивацией вследствие этого регуляторного САР-белка.

Кб, килобаза (*kb, kilobase*) – единица, используемая для выражения размера нуклеиновых кислот (см.), 1 кб = 1000 нуклеотидов, или пар оснований (п. о.), в двухцепочечной ДНК.

кДНК, комплементарная ДНК (*сDNA, complementary DNA*) – одно- или двунигчатая молекула ДНК, комплементарная молекуле иРНК. Образуется при обратной транскрипции иРНК с помощью обратной транскриптазы (см.) *in vitro*. кДНК соответствует определенному гену без интронов.

Киназы – ферменты, катализирующие перемещение фосфатной группы из высокоэнергетического положения (как в АТФ) в другую молекулу.

Кишечная палочка — см. *Escherichia coli*.

Клеточный цикл – жизнь клетки с момента ее образования в процессе деления материнской клетки до собственного деления (включая это деление) или до гибели.

Клон – культура, возникшая из одной клетки.

Клонирование (*cloning or molecular c.*) – получение клонов (см.) с помощью одного или многих методических приемов. Различают клонирование генов – выделение и амплификация отдельных генов в реципиентных клетках, а также молекулярное клонирование – размножение молекул ДНК в составе вектора.

Клонирование гена (*gene cloning*) – см. Клонирование

Клонирование ДНК (*DNA cloning*) – использование технологии рекомбинантной ДНК для инсерции (включения) фрагмента ДНК, напр, гена, в клонирующий вектор (см.) и размножение этой последовательности путем трансформации вектора в подходящую клетку-хозяина, напр, в клетки кишечной палочки.

Кодон – последовательность из трех рядом стоящих нуклеотидов в ДНК или РНК, кодирующая определенную аминокислоту либо начало и конец трансляции (см.), т. е. это дискретная единица генетического кода. Всего возможно 64 сочетания нуклеотидов в триплетях – 61 из них кодирует 20 аминокислот, а 3 являются нонсенс-кодонами (см. Стоп-кодон).

Кольцевые молекулы ДНК – см. плазмиды (кольцевые).

3'-Конец (*3'-carbon atom end or 3'-terminus*) – один из концов ли-

нейной молекулы ДНК или РНК, несущий нуклеотид со свободной гидроксильной группой (ОН⁻) у 3'-атома углерода рибозы или дезоксирибозы.

3'-Конец праймера – конец праймера со свободной гидроксильной группой (ОН) у 3' атома углерода рибозы с которого Таг-полимераза достраивает растущую цепь ДНК в 5'-3' направлении на третьей стадии цикла ПЦР (см.).

5'-Конец (*5'-carbon atom end or 3'-terminus*) – один из концов линейной молекулы ДНК или РНК, несущий нуклеотид со свободной гидроксильной (ОН⁻) группой у 5'-атома углерода рибозы или дезоксирибозы. С 5'-конца начинается синтез полинуклеотидных цепей в процессе репликации (см.), транскрипции (см.) и репарации (см.).

Конкатамер ДНК (*DNA concatemer*) – структура из нескольких повторяющихся (одна за другой) единиц гена. У некоторых фагов (напр., фагλ и T4) геном во время репликации представлен в виде конкатамерных молекул – больших молекул ДНК, образованных из нескольких tandemно повторяющихся единиц генома.

Конструирование гибридных молекул ДНК – создание новых форм биологически активных ДНК с помощью искусственных приёмов переноса и сшивания различных фрагментов ДНК.

Концевая (терминальная) трансфераза (*terminal transferase*) – фермент, катализирующий достройку 10-40 дезоксинуклеотид-5'-трифосфатов к 3'-ОН-группам обоих концов двунитчатой ДНК или к однострочной ДНК, образуя 3'-гомополимерное удлинение нити (полидезоксиаденилат) и освобождая неорганический пирофосфат. Фермент используется для радиоактивного мечения молекулы ДНК и образования гомополимерных хвостов на 3'-концах ДНК. Т. т. широко используется в технологиях рекомбинантной ДНК (см.).

Космиды – векторная плазмида, содержащая *cos*-участок (*cos*-сайт) ДНК фага лямбда, являющийся местом замыкания его линейной формы в кольцо. Благодаря наличию *cos*-участка К., включающая чужеродные гены, может быть упакована в головку фага *in vitro*. Метод клонирования ДНК с использованием К. разработан Дж. Коллинзом и Б. Холманом в 1977 г.

Кроссинговер – (англ, *crossingover* – перекрест) – механизм взаимного обмена генами и целыми сегментами хроматид между спаренными гомологичными хромосомами в процессе мейоза. При конъюгации хромосом за счет перекреста двух хроматид, переходящих от одной хромосомы к другой, возникают хиазмы. Кроссинговер характеризуется разрывом этих хиазм, причем сегменты перекрещенных хроматид остаются включенными в состав соседних гомологич-

ных хромосом, в результате чего и происходит обмен наследственными факторами между гомологичными хромосомами. Термин введен Морганом (1911).

Кэп – структура на 5'-конце эукариотических иРНК; образуется после транскрипции за счет присоединения 5'-конца гуанинового нуклеотида к 5'-концевому основанию иРНК. Эта структура может быть метилирована, по крайней мере, по той молекуле гуанина, которая присоединилась. «Кэп» имеет следующее строение – 7MeG5'ppp5'Np...

Л

Лактозный оперон, lac-оперон – комплекс генов (общий размер – около 6 тыс. пар нуклеотидов) ДНК *E. coli*, включающий генератор и 3 структурных гена: *lacZ* (кодирует β -галактозидазу), *lacY* (β -галактозид-пермеазу), *lacA* (β -галактозидтрансацетилазу), – в результате транскрипции Л.о. образуется полицистронная мРНК; белок-репрессор кодируется геном *lacI*, кодируемые генами *lacY* и *lacZ* ферменты участвуют в транспорте и расщеплении лактозы, а продукт гена *lacA* изомеризует лактозу с образованием алло-лактозы, которая является индуктором Л.О.

lac-Z-ген (*lac-Z-gene*) – ген лактозного оперона *E. coli*, кодирующего β -галактозидазу. Этот фермент катализирует превращение дисахаридов лактозы в моносахариды и глюкозу. *lac-Z-ген* входит в состав различных клонирующих векторов и выполняет роль репортерного гена (см.) в экспериментах по трансформации.

Лигаза, синтетаза – см. ДНК-лигаза.

Лиганд – небольшая молекула (например, активаторы, субстраты и ингибиторы активности фермента), связанная с белком нековалентными связями; ион или молекула, которая связывает другие химические компоненты, образуя сложный комплекс.

Лигирование (*ligation*) – 1. Процесс ковалентного соединения двух линейных молекул нуклеиновых кислот посредством фосфоэфирных связей, осуществляемый с участием фермента лигазы. 2. Прием в генетической инженерии, в ходе которого чужеродная ДНК встраивается между двумя концами плазмидной ДНК с помощью фермента лигазы (см.).

Лидирующая цепь – дочерняя цепь ДНК в репликативной вилке, синтезирующаяся непрерывно.

Лизирование, лизис (*lysis*) — разрушение растворение вирусами, клеток хозяина под действием ферментов, содержащихся в лизосомах и выделяемых инфицирующими вирусными частицами, в ре-

зультате чего в среду высвобождается новое потомство вируса.

Линия – культура, возникшая из штамма путем селекции или клонирования, имеющая маркерные признаки.

Линкер, линкерная ДНК (*linker, l. DNA*) – Синтетический олигонуклеотид определенной последовательности, содержащий один или несколько сайтов узнавания (см.) для рестрикционных эндонуклеаз (см.). Л. может быть лигирован к любому тупому концу (см.) дуплексной ДНК с помощью T4ДНК-лигазы (см.).

Липкий конец – термин, относящийся к двунитчатой молекуле ДНК, у которой одна нить длиннее ("выступающая"), чем другая ("заглубленная"). Выступающий участок нити может спариваться с др., комплементарным ему выступающим (липким) концом. Пример: два коротких (12 нуклеотидов) однонитчатых 5'-выступов на каждом конце линейного генома фага лямбда (cos-сайт). Эти Л. к. комплементарны по последовательностям нуклеотидов друг другу и могут спариваться, образуя кольцевую ДНК.

Люцифераза – фермент, катализирующий реакцию, сопровождающуюся испусканием света (биолюминесценцией), при расщеплении субстрата люциферина (от слова Люцифер («светоносец»)). Наиболее широко известна люцифераза светлячка *Photinus pyralis*. Широко используется в генной инженерии в качестве *репортерного гена* (см.)

М

Макросателлит – относительно крупный спутничный элемент, диаметр которого превышает половину толщины нити хроматиды

Малая ядерная РНК (мяРНК) – транскрипты РНК длиной 100-300 п. о., которые, связываясь с белками, формируют малые ядерные рибонуклеопротеиновые частицы. Большинство мяРНК являются компонентами сплайсосом

Макрогамета [гр. makros большой + gamete жена] – женская особь у простейших, имеющих в жизненном цикле половой процесс. Макрогамета обычно неподвижная, содержит запас питательного материала.

Макрогаметоцит – половая клетка, из которой развивается макрогамета.

Маркер для селекции (селективный маркер) – специальный ген, кодирующий устойчивость к к.-л. антибиотику (напр., канамицину), который вводят в вектор для последующего отбора трансформантов.

Метилирование – процесс присоединения к нуклеотиду метиль-

ной группы – в частности, в ДНК клеток животных «в норме» метилированы до 7% остатков цитозина, причем сателлитная ДНК обычно метилирована в значительно большей степени, чем ДНК структурных генов, у которых метилированная ДНК обычно ассоциирована с неактивным состоянием, а деметилированная – с активацией генов, исключением из этого правила является ген O_6 -метилгуанин-ДНКметилтрансферазы, более экспрессированный при большем уровне М.; у бактерий процесс М. сайтов рестрикции (модификация) предохраняет ДНК от разрушения собственными эндонуклеазами и контролируется специфическими метилазами.

Метод дробовика («шот-ган») (*shotgun*) – получение случайной массивированной выборки клонированных фрагментов ДНК данного организма (т.е. “дробление” генома), на основе которых может быть составлена его геномная библиотека; полученные в результате “Ш.-г.” последовательности нуклеотидов после дополнительного клонирования могут использоваться в различных генетических экспериментах.

Микроинъекция (*microinjection*) – введение растворов каких-либо веществ в микроскопические объекты (клетки, ядра и т.п.); метод М. является одним из основных методов введения ДНК в геномной инженерии.

Микросателлиты, микросателлитные локусы (STR-локусы, Short Tandem Repeats) – варьирующие участки (локусы) в ядерной ДНК и ДНК органелл (митохондрией и пластид), состоящие из большого количества – до ста и выше – tandemно повторяющихся идентичных «мотивов». Мотивом является короткая последовательность из нескольких (от двух до восьми) пар нуклеотидов, обычно называемая «повтором». В зависимости от длины повтора микросателлиты классифицируют на локусы с ди-, три-, тетра-, пента-, и гексануклеотидными повторами. Являются широко распространёнными молекулярными маркерами в генетических и геномных исследованиях.

Минисателлиты (*minisatellites*) – короткие (14-100 н.п.), среднеповторяющиеся, tandemно организованные, высоко-вариабельные последовательности ДНК (обычно богатые ГЦ-последовательностями), рассредоточенные по геному человека (встречаются также у растений и животных). М.-с. проявляют значительный полиморфизм по длине, который возникает в результате неравного кроссинговера. В итоге в М.-с. изменяется число коротких tandemных повторов (см.), что ведет к образованию последовательностей длиной от 0,1 до 20 кб. Короткий tandemно повторяющийся М.-с., являясь хорошим генетическим маркером для анализа сцепления (см. ДНК-фингерпринтинг), может использоваться в качестве гибридизационного зонда для одновременно-

го обнаружения высокополиморфных М.-с. в пределах рестриктов ДНК. Вероятность идентичности того же набора фрагментов ДНК у двух человек теоретически настолько мала, что каждый человек считается уникальным по набору полос (за исключением однойцевых близнецов, см.), выявляющихся в результате гибридизации на радиоавтографах.

Митохондриальный геном – кольцевая двунитевая молекула ДНК, входящая в состав митохондрий (размер мтДНК у животных обычно около 16 тыс. пар оснований, а в различных группах растений и микроорганизмов эта величина существенно больше и высокоизменчива); М.Г. включает гены тРНК и рРНК, некоторых ферментов (субъединицы АТФазы, цитохромоксидазы и др.), в нем имеются некоторые отклонения от универсального триплетного кода (например, триплет УГА, являющийся стоп-кодоном в ядерном геноме, в М.Г. животных кодирует триптофан); как правило, М.Г. наследуется по материнскому типу; анализ структуры мтДНК с использованием рестриктаз широко применяется в популяционно-генетических исследованиях.

Модель двухцепочечной молекулы ДНК - В 1953 г. Дж. Уотсон и Ф. Крик, основываясь на данных Э. Чаргаффа и Р. Франклин, построили пространственную модель молекулы ДНК и истолковали ее роль, как носителя генетической информации (рис.). Согласно их модели молекула ДНК состоит из двух полинуклеотидных комплементарных цепочек, закрученных в двойную спираль. Азотистые основания нуклеотидов обеих цепей ДНК заключены внутри между витками спирали и соединены водородными связями. В соответствии с правилами Чаргаффа аденин одной цепи связан только с тиминем другой цепи, а гуанин – только с цитозином. Такой порядок соответствия азотистых оснований (А=Т и Г=Ц) называется комплементарностью, и, следовательно, цепи в ДНК комплементарны друг другу. В каждой из цепей ДНК нуклеотиды последовательно соединены друг с другом с помощью остатка фосфорной кислоты и молекулы дезоксирибозы. Обе цепи в молекуле ДНК имеют противоположную направленность, одна имеет направление 5'-3', а другая 3'-5'.



Рис. – Дж. Уотсон и Ф. Крик. 1953 г.

Модификация – видоизменение, преобразование, характеризующееся появлением новых свойств.

Молекула ДНК – см. Дезоксирибонуклеиновая кислота.

Молекулярная биология – область биологии, исследующая проявление жизни на молекулярном уровне. Основное направление М. б. – выяснение роли биологически важных молекул (белков, нуклеиновых кислот и др.) в росте и развитии организмов, хранении и передаче наследственной информации, превращении энергии в живых клетках и т. п. явлениях. М. б. включает в себя молекулярную генетику, молекулярную вирусологию, молекулярную иммунологию и т. д. М. б. сформировалась в середине XX в. и бурно развивается в наши дни.

Молекулярная генетика – раздел современной генетики, изучающий закономерности и молекулярные механизмы хранения, воспроизведения и передачи наследственных признаков.

Молекулярно-генетическая диагностика наследственных заболеваний – точная идентификация наследственных заболеваний на основе молекулярно-генетического анализа индивидуальных образцов ДНК (см. Саузерн-блот анализ, ДНК-фингерпринтинг, Секвенирование ДНК, ПЦР-технологии). Молекулярно-генетическая диагностика может давать точную идентификацию наследственных заболеваний на всех стадиях развития и жизни организма человека, начиная с восьмиклеточной бластулы (пре-эмбриона), всех эмбриональных стадий внутриутробного развития, пост эмбриональных стадий и т.д.

Моногенные заболевания — наследственные заболевания, обусловленные дефектом одного какого-либо гена.

Моногенный признак (*monogenic character*) — признак, детер-

минируемый только одним геном (часто **М.п.** = Менделевский признак).

Мутация (mutation) [лат. *mutatio* - изменение] – редкое спонтанное (естественное) или искусственно вызываемое с помощью мутагенов (см. *Мутаген*) наследуемое изменение в нуклеотидной последовательности ДНК. М. - единственный источник новых наследственных изменений. По характеру изменения генетического аппарата М. делят на геномные, хромосомные и генные.

Рес-мутация – мутация, нарушающая процесс гомологичной рекомбинации у *E.coli*; R.-М. происходят в нескольких генах, кодирующих ферменты, которые участвуют в рекомбинации по типу «разрыв-соединение» (экзонуклеаза, ДНК-полимераза, ДНК-лигаза и т.д.); впервые R.-М. была получена у *E.coli* А. Кларком и А. Маргуэлисом в 1965, кроме того, они показали резкое возрастание чувствительности Рес-мутантов к ультрафиолету, что подтвердило близкую связь репарационного и рекомбинационного процессов, в частности, общность участвующих в них ферментов

Мутаген – физический или химический агент, увеличивающий частоту мутаций по сравнению со спонтанным уровнем.

Мутуализм [лат. *mutuus* взаимный, обоюдный] - форма симбиоза (обоюдосторонний симбиоз), при которой оба партнера приносят друг другу пользу.

Н

Наследственно измененные организмы – см. ГМО, трансгенные организмы, трансформированные организмы.

Нитроцеллюлозная (пленка) мембрана – состоит из нитроцеллюлозных нитей, образующих поры определенного размера (0,45μm). Селективно (выборочно) улавливают двунитчатую ДНК или ДНК-РНК-гибриды, но свободно пропускают одностранные молекулы. Одностранные ДНК и РНК также могут задерживаться на Н. м., если ее проинкубировать при 80°C в течение 2 ч (спекание). Такие блоты (пленки) используются в Саузерн- и Нозерн-блот экспериментах.

Нуклеиновые кислоты, полинуклеотиды (nucleic acid) – универсальные биополимеры, состоящие из рибо- или дезоксирибонуклеозидмонофосфатов, соединенных фосфодиэфирными связями, образованными между 5'-фосфатом одного нуклеотида и 3'-гидроксильной группой следующего. Различаются по типу входящих сахаров на 2 основных типа Н.к. - дезоксирибонуклеиновая кислота, ДНК (DNA) и рибонуклеиновая кислота, РНК (RNA). Главная роль Н.к. - хранение

и передача генетической информации. Термин Н.к. предложен в 1889. Впервые Н.к. обнаружена Ф.Мишером в 1868 в лейкоцитах человека и сперматозоидах лосося.

Нуклеозид – химическое соединение, состоящее из остатков азотистого основания и углевода – рибонуклеозид и дезоксирибонуклеозид; основные природные Н. входят в состав нуклеиновых кислот (аденозин, гуанозин, уридин, цитидин, тимидин); Н. образуются при гидролизе нуклеиновых кислот и нуклеотидов.

Нуклеосома – дисковидная структура диаметром около 10 нм, являющаяся элементарной единицей упаковки хромосомной ДНК в хроматине; состоит из белкового ядра (включает октамер гистонов H2, H3, H4, но не H1), «опоясанного» 7/4 оборота двойной спирали ДНК (140 пар нуклеотидов), межнуклеосомные участки ДНК (линкеры) по длине варьируют в пределах 15–100 и более пар нуклеотидов; суммарная молекулярная масса одной Н. оценивается в 262 кД (108 кД приходится на гистоны, 130 кД – на ДНК, 24 кД – на небольшие негистоновые белки); нуклеосомная структура универсальна для эукариотических организмов – ее отсутствие известно в сайтах, сверхчувствительных [к ДНКазе].

Нуклеотиды – органические вещества, состоящие из пуринового или пиримидинового основания, сахара рибозы (дезоксирибозы) и фосфорной кислоты; составная часть нуклеиновых кислот и многих коферментов (НАД, НАДФ, кофермента А и др.). Являются мономерами нуклеиновых кислот. Н. также называют нуклеозидфосфатами: аденозинмонофосфат (АМФ), гуанозинмонофосфат (ГМФ), цитидинмонофосфат (ЦМФ), уридинмонофосфат (УМФ) и тимидинмонофосфат (ТМФ). Н. являются некоторые макроэргические соединения, напр. АТФ.

О

Обратная транскриптаза, РНК-зависимая ДНК-полимераза, ревертаза (*reverse transcriptase, RNA-dependent DNA-polymerase*) – ретровирусный многофункциональный фермент класса трансфераз, синтезирующий двунитчатую ДНК с использованием в качестве матрицы однонитчатой РНК. О. т. широко используются в ДНК-рекомбинантной технологии для синтеза кДНК (см.) с информационной РНК и в генной инженерии для получения нужных ДНК *in vitro*. У некоторых ретровирусов (см.) О. т. является мономером, у других – димером.

Олиго(dT) праймер (*oligo(dT) primer*) – синтетический гомополимерный олигодезоксирибонуклеотид, который может быть подсо-

единен к поли(А) хвосту (см.) полиаденилированной иРНК и использоваться как праймер (см.) для синтеза первой нити кДНК с помощью обратной транскриптазы.

Олигонуклеотидные затравки – см. праймер.

Оператор – участок ДНК, узнаваемый специфическими белками-репрессорами и негативно регулирующий транскрипцию структурных генов, размер – несколько десятков нуклеотидов; как правило, О. непосредственно примыкает к регулируемому структурному гену (согласно модели оперона); известны точковые мутации О., ведущие к постоянной (конститутивной) экспрессии соответствующего гена.

Оперон, транскриптон (*operon*) – участок бактериальной хромосомы, содержащий несколько структурных генов (например, *lac*-О. *E. coli* включает 3 гена), транскрибируемых с образованием одной полицистронной молекулы мРНК (см.); каждый О., как правило, включает специфические ген-оператор и ген-регулятор, контролирующие его транскрипцию.

Открытая рамка считывания (*open reading frame, ORF*) – последовательность нуклеотидов ДНК, которая начинается с иницирующего кодона АТГ и заканчивается одним из трех терминирующих кодонов - ТАА, ТАГ или ТГА; потенциально О.р.с. может быть транслирована в полипептидную цепь.

Открытый комплекс – комплекс, образуемый при связывании холофермента РНК-полимеразы с промотором (после кратковременного этапа формирования закрытого комплекса в результате расплетания небольшого участка – 10–20 пар нуклеотидов – двухцепочечной молекулы ДНК); в результате процессов, имеющих место в О.К., происходит прочное связывание РНК-полимеразы с промотором и она приобретает способность иницировать синтез ДНК.

Отжиг (*annealing*) – процесс восстановления (ренатурация), называемый также гибридизацией, нуклеиновой кислоты, во время которого одноцепочечные полинуклеотиды образуют двухцепочечную молекулу с водородными связями между комплементарными нуклеотидами двух цепей. О. может происходить между комплементарными цепочками ДНК или РНК, в результате образуются гибридные двухцепочечные молекулы. Название обусловлено тем, что процесс О. связан с первоначальным нагреванием образца и последующим его охлаждением.

II

Палиндром – участок двухцепочечной молекулы ДНК, обе цепи которого обладают одинаковой последовательностью нуклеотидов

при прочитывании от 5' – к 3'-концу, т.е. П. является тандемным инвертированным повтором. П. играют важную роль в обеспечении процессов терминации транскрипции (у прокариот П. обнаружены во всех терминаторных участках генов), являются сайтами действия рестриктаз, а также участвуют в ряде др. процессов.

Первая рекомбинантная (гибридная) молекула ДНК – создана в 1972 г. П. Бергом, которая включала в себя фрагменты фага λ , *E. coli* и вируса обезьян *sv-40*.

Плазмиды – внехромосомный (экстрахромосомный) генетический элемент, кольцевая, автономно реплицирующаяся дуплексная молекула ДНК, имеющая размеры от 1 до 200 и более кб и от одной до нескольких сот копий на бактериальную клетку. Число копий П. может зависеть от факторов среды. П. обычно придают селективные преимущества клетке хозяина (напр., устойчивость к антибиотикам). Конъюгативные П. имеют набор генов, обеспечивающих их перенос в др. клетки. Бактериальные П. широко используются для конструирования векторов клонирования. Термин «П.» предложен Дж. Ледербергом и др. в 1952 г.

Плазмида pBR322 – серия сравнительно небольших, мультикопийных и неконъюгативных плазмидных векторов клонирования, содержащих гены устойчивости к ампициллину и тетрациклину, а также несколько уникальных сайтов клонирования (или полилинкеры). Сайты клонирования локализованы в пределах одного из генов устойчивости. Это позволяет обнаруживать инсерцированную чужеродную ДНК по исчезновению устойчивости к антибиотику на селективной среде. Плазмида синтезирована в 1977 г. мексиканскими исследователями Боливаром и Родригесом. Они использовали ген тетрациклин-устойчивости от *pSC101*, ориджин репликации *ori* и *rep*-ген от *Col E1*, а ген ампициллин-устойчивости – от транспозона *Tn 3*. Плазмида реплицируется в *E. coli*.

Плазмида pSC101 – первая плазмида, которую начали использовать в генной инженерии. Несет только один сайт рестрикции для *EcoR1* и превращается под действием этого фермента из кольцевой в линейную молекулу, концы которой могут «слипаться» между собой или с любыми фрагментами другой ДНК, полученными под действием той же рестриктазы. Обладает геном устойчивости к антибиотику тетрациклину и поэтому легко обнаруживается в бактериях на среде с этим антибиотиком. Все эти свойства *pSC101* и были использованы для создания и клонирования первых гибридных (рекомбинантных) ДНК (см.).

Плазмида pUC18 – один из серии относительно мелких *E. coli*

плазмидных векторов клонирования (см.), содержащий *PvuII* / *EcoR*-фрагмент из pBR322 (см.) с *amp^r* геном, кодирующим ампициллин-устойчивость, ориджином репликации *ori* (см.) и последовательностями, кодирующими α -пептид *lac-Z*-гена (β -галактозидазы) с полилинкером (см.). Инсерция чужеродной ДНК в полилинкер приводит к нарушению β -галактозидазного гена. В этом случае хозяйская бактериальная клетка образует бесцветные колонии, если она растет на среде с ампициллином и субстратом *X-gal*, который должен расщепляться при помощи β -галактозидазы. Штаммы, трансформированные плазмидой pUC18 без вставки чужеродной ДНК на той же среде с *X-gal*, образуют колонии окрашенные в синий цвет. Т. обр., можно легко отбирать рекомбинантные (т. е. с чужеродной ДНК) колонии.

Повторяющаяся нуклеотидная последовательность (ДНК) (*repetitious DNA*) – последовательность нуклеотидов, содержащаяся в хромосомной ДНК в виде идентичных копий; различают высокоповторяющиеся нуклеотидные последовательности (млн. копий на геном), а также умеренно повторяющиеся последовательности (десятки и сотни копий на геном).

Поли(А), полиаденилат (*poly(A) or polyadenylate*) – гомополимер, содержащий остатки адениновых нуклеотидов. Практически все мРНК эукариот на своих 3'-концах содержат последовательность поли(А) или поли(А) хвост.

Полилинкер, сайт множественного клонирования (*polylinker or multiple cloning site*) – синтетический двунитчатый олигонуклеотид, содержащий много сайтов рестрикции (см.). П. вводят в векторы, чтобы расширить их возможности для клонирования чужеродных ДНК в любом из этих сайтов.

Полимеризация – третья стадия цикла ПЦР в ходе которой при увеличении температуры в реакционной смеси *in vitro* с 50°C до 72°C *Tag*-полимераза удлиняет оба праймера с их 3'-концов до размеров матричной нити ДНК. Этот процесс протекает в течении 90 секунд. В результате количество ДНК удваивается. Фермент *Tag*-полимераза был выделен из термофильных бактерий *Thermus aquaticus*, и отличается устойчивостью к высокой температуре. При температуре 70°C гибрид праймер-ДНК не денатурирует, а *Tag*-полимераза способна работать с большой скоростью.

Полимеразная цепная реакция, ПЦР (*polymerase chain reaction, PCR*) – процесс амплификации (см.) *in vitro*, при котором фрагмент ДНК длиной до 15 кб может быть амплифицирован (размножен) до 10⁸ раз (копий). Для этого синтезируются два олигонуклеотида размером в 10-30 нуклеотидов, комплементарных последова-

тельность на двух концах исследуемой ДНК. Избыточное количество этих двух олигонуклеотидных праймеров (см.) смешивается с геномной ДНК, смесь нагревается для денатурации дуплексов ДНК. При последующем снижении температуры праймеры присоединяются к их геномным гомологам и могут с помощью ДНК-полимеразы удлиниться, т. е. на ДНК-матрице синтезируется вторая цепь. Последовательный процесс (цикл процессов) денатурации, отжига праймера и его удлинения повторяется 20-40 раз. В результате происходит экспоненциальное увеличение копий изучаемой ДНК. За 25 амплификационных циклов количество целевых последовательностей ДНК увеличивается приблизительно в 10^6 раз. Для синтеза новых цепей ДНК используются термостабильные ДНК-полимеразы (*Taq*-полимераза, *Vent*TM-ДНК-полимераза). В н. вр. ПЦР нашла широкое распространение в молекулярной биологии и на ее основе разработано множество методов анализа геномов. Имеет место также инвертированная полимеразная цепная реакция, т. е. модификация обычной ПЦР, позволяющая амплифицировать неизвестные последовательности ДНК, прилежащие к коровой области известной последовательности.

Полимеразная цепная реакция с произвольными праймерами (*arbitrarily primed polymerase chain reaction, AP-PCR*) – модификация стандартного метода ПЦР, позволяющая осуществлять амплификацию (см.) целевых последовательностей ДНК с помощью произвольно взятых праймеров (см.), без предварительного знания нуклеотидных последовательностей данного генома. Метод позволяет выявлять полиморфизм между штаммами бактерий и грибов, различными сортами растений.

Полиморфизм [гр. *polys* – много + *morphe* – форма] – многоформность, существование организмов одного и того же вида, различающихся между собою по форме тела или др. признакам.

Полисахариды — линейные или разветвленные полимеры, состоящие более чем из 10 моносахаридов, связанных гликозидными связями.

Полицистронная мРНК (*polycistronic message*) – молекула мРНК, кодирующая последовательности более чем одного белка; образуется при транскрипции двух или нескольких соседствующих генов, входящих в состав одного оперона.

Полуконсервативная репликация – способ репликации двухцепочечной молекулы ДНК, при котором исходная молекула разделяется на две цепи (с образованием репликативной вилки), каждая из которых служит матрицей для синтеза второй (новой) комплементарной полинуклеотидной цепи; гипотеза П.Р. была выдвинута Дж. Уот-

соном и Ф.Криком одновременно с идеей о двойной спирали ДНК, а доказана опытами М. Мезельсона и Ф. Сталя по переносу меченой ДНК с использованием метода центрифугирования в градиенте плотности хлорида цезия.

Популяция [лат. *populus* - народ, население] - совокупность особей одного вида организмов, длительно населяющих определенную территорию, в пределах которой возможна та или иная степень свободного скрещивания (панмиксия) между ними.

Последовательность Шайна-Далгарно - консервативная последовательность в прокариотических иРНК, комплементарная последовательности, находящейся вблизи 5' -конца 16S рибосомной РНК, и, таким образом, участвующая в процессе инициации трансляции.

Последовательность узнавания – см. Сайт узнавания.

Правило Чаргаффа – правило, гласящее, что в любой двунитчатой молекуле ДНК число адениновых оснований всегда равно числу тиминовых ($A = T$), а число гуаниновых – числу цитозиновых ($G = C$) оснований. Согласно П. Ч. количество пиримидинов ($T + C$) равно сумме пуринов ($A + G$). П. Ч. открыто в 1950 г. и лежит в основе классической модели ДНК Уотсона-Крика.

Праймер, затравка (*primer*) – короткий олигонуклеотид ДНК или РНК, комплементарный участку более длинной молекулы ДНК или РНК. К его 3'-ОН-концу ДНК-полимераза (см.) может добавлять нуклеотиды в растущую цепь ДНК в 5'-3'-направлении. У прокариот РНК-полимераза (см.) катализирует синтез таких РНК-праймеров для репликации ДНК. П. также нужны для РНК-зависимой ДНК-полимеразы (обратной транскриптазы, см). *In vitro* (см.) используются синтетические П. размером до 10 п. о. для реакции полимеризации ДНК с помощью ДНК-полимеразы или обратной транскриптазы, П. нужны для синтеза кДНК, ДНК секвенирования по Сэнгеру (см.), полимеразной цепной реакции, ПЦР (см.) и др.

Праймазы, ДНК-праймазы (DNA primase) – ферменты, осуществляющие синтез РНК-затравок для последующего синтеза фрагментов Оказаки, а также синтез РНК-затравок в процессе синтеза репликативной формы ДНК бактериофагов. У эукариот ДНК-праймаза является субъединицей ДНК-полимеразы. В отличие от обычных РНК-полимераз ДНК-праймаза способна использовать в качестве субстрата как рибо-, так и дезоксирибонуклеотиды; образует комплекс с другими ферментами – праймосому (см).

Праймосома – комплекс ферментов, обеспечивающих синтез запаздывающей цепи в репликативной вилке посредством образования

фрагментов Оказаки; один из основных ферментов П. – ДНК-праймаза (см).

Пре-мРНК – предшественник мРНК (часто очень большого размера), синтезированный на матрице ДНК структурного гена в процессе транскрипции и до выхода из ядра претерпевающий посттранскрипционные модификации.

Принцип комплементарности – пространственная взаимодополняемость (взаимное соответствие) поверхностей взаимодействующих молекул или их частей, приводящая, как правило, к образованию вторичных (Ван-дер-Вальсовых, водородных, ионных) связей между ними. Уникальность и прочность комплементарных структур определяется высокой избирательностью, большой площадью взаимодействия на уровне атомных группировок или зарядов по принципу «ключ - замок» (комплексы антиген – антитело и фермент – субстрат, четвертичная структура белков, вторичная и третичная структура нуклеиновых кислот). Наиб. ярко К. проявилась в структуре двуспиральных ДНК и РНК, где две полинуклеотидные цепи образуют в результате комплементарного взаимодействия пар пуриновых и пиримидиновых оснований (А-Т, Г-Ц) двуспиральную молекулу. Уникальная вторичная и третичная структура одноцепочечных полинуклеотидов (тРНК, рРНК) также определяется комплементарным спариванием оснований с образованием «петель» и «шпилек» вдоль по цепи. К. лежит в основе мн. явлений биол. специфичности, связанных с «узнаванием» на молекулярном уровне.

Прионы [англ. proteinaceous infectious particles – белковые заразные частицы] – особый класс инфекционных агентов, чисто белковых, не содержащих нуклеиновых кислот, вызывающих тяжёлые заболевания центральной нервной системы у человека и ряда высших животных (т. н. «медленные инфекции»). Прионный белок, обладающий аномальной трёхмерной структурой, способен прямо катализировать структурное превращение гомологичного ему нормального клеточного белка в себе подобный (прионный), присоединяясь к белку-мишени и изменяя его конформацию. Как правило, прионное состояние белка характеризуется переходом α -спиралей белка в β -слои. Прионы – единственные инфекционные агенты, размножение которых происходит без участия нуклеиновых кислот.

Прокариоты – организмы, клетки которых лишены ограниченного мембраной ядра; аналогом ядра является нуклеоид, генетическая система которого (генофор) соответствует примитивной хромосоме; митоза у П. нет, клетки П. лишены хлоропластов, митохондрий, аппарата Гольджи, центриолей, а рибосомы существенно отличаются от

рибосом эукариотических клеток; П. составляют отдельное царство (возможно, надцарство), включающее одноклеточные (архебактерии, эубактерии) и многоклеточные (сине-зеленые водоросли, или цианобактерии) организмы; термин «П.» предложен в 1937 Э. Шаттоном, который впервые сформулировал принципиальные различия П. и эукариот.

Промотор (*promoter*) – участок молекулы ДНК длиной 80-120 п. н., к которому присоединяются молекулы РНК-полимеразы, что сопровождается инициацией транскрипции соответствующих генов; каждый ген (или оперон) имеет свой П., контролирующий его транскрипцию; существование П. впервые было показано Ф. Жакобом и Ж. Моно при анализе *lac*-оперона *E. coli*.

Протеазы – ферменты, катализирующие гидролиз белков, то есть расщепление пептидных связей, которыми соединены остатки аминокислот в белковых молекулах. Синоним: пептидазы.

Протеинкиназы – ферменты, катализирующие присоединение к молекуле белка фосфатной группы (групп) в местах расположения остатков серина, треонина или тирозина.

Протоонкоген (*proto-oncogene*) – ген, контролирующий нормальную пролиферацию или дифференцировку клеток, который в результате соматической мутации или транспозиции может превращаться в онкоген; в норме протоонкогены кодируют протеинкиназы (напр., гены семейства *c-src*), мембранно-связанные белки (семейство *c-ras*), факторы роста и их рецепторы.

Процессинг – комплекс процессов образования зрелых молекул РНК и белков в клетке; включает ряд последовательных расщеплений молекулы-предшественника эндонуклеазой или протеазами с образованием конечных, функционально активных продуктов (например, 41S-, 32S-, 20S-рРНК у многих эукариот – промежуточные; 5,8S-, 18S-, 28S-рРНК – конечные) и деградации «избыточных» участков; у эукариот П. мРНК включает этап вырезания интронов и образования зрелой молекулы в результате сплайсинга; также к системе П. относят различные модификации – например, метилирование отдельных оснований и др.

ПЦР (*PCR*) – см. Полимеразная цепная реакция.

ПЦР-амплификации – см. полимеразная цепная реакция (ПЦР), амплификация генов.

ПЦР в реальном времени (**Real-time PCR, qPCR, qRT-PCR**) – лабораторный метод на основе полимеразной цепной реакции, включающий в себя одновременно детекцию и количественное определение специфической последовательности ДНК в образце.

ПЦР технологии – различные методы размножения (амплификация) ДНК с помощью ПЦР.

Р

Радиоактивно меченный ДНКовый зонд – см. ДНКовый зонд.

Разделение рестрикционных фрагментов ДНК – см. Электрофорез в агарозном геле.

Распознаваемые участки – см. Сайты распознавания.

recA - обнаруженный у большинства бактерий белок, играющий важную роль в процессах репарации и рекомбинации ДНК.

Рекомбинация – перераспределение генетического материала родителей, приводящее к наследственной комбинативной изменчивости; в общем смысле под Р. понимают создание новой комбинации генов при соединении гамет родителей, более узко Р. – обмен участками хроматид и хромосом в процессе клеточного деления; у прокариот Р. осуществляется в процессе конъюгации, трансформации либо трансдукции, у вирусов – при смешанной инфекции; у эукариот, как правило, Р. характерна для мейоза (мейотическая Р.), но иногда имеет место и в митозе (соматическая Р.); различают реципрокную (взаимный обмен участками молекулы ДНК), нереципрокную (односторонний перенос участка ДНК); общую (кроссинговер), сайт-специфическую и незаконную Р. (обмен участками негомологичных хромосом в результате хромосомных перестроек).

Рекомбинация генов – (от лат. re – снова и combinare – соединять) – обмен генами между двумя хромосомами или между двумя клетками, отличающимися друг от друга своими геномами. Последнее может происходить при «гибридизации» соматических клеток, соматическом кроссинговере. Единицей генетической рекомбинации является рекон. Рекомбинация генов имеет большое биологическое значение в плане эволюционных преобразований клеток и организмов, так как вследствие ее могут возникнуть такие сочетания генов, которые отсутствуют у родительских форм.

Рекомбинационная репарация – один из молекулярных механизмов репарации, имеющих место при рекомбинации по типу «разрыв-соединение», – образование нативной молекулы ДНК путем обмена ее поврежденного сегмента на неповрежденный в процессе рекомбинации между 2 молекулами.

Рентгеноструктурный анализ – один из важных методов исследования молекулярной организации клеток, основанный на использовании явления дифракции (огибания) рентгеновых лучей при пропускании их через объект. В зависимости от характера расположения

молекул в пространственной решетке объекта на фотопластинке возникает изображение концентрических колец и дуг, по ширине которых и расстоянию между ними определяют размеры и расположение молекул. На основе рентгеноструктурного анализа предложена схема строения молекулы ДНК.

Ренатурация – восстановление нативной (биологически активной) пространственной структуры биополимера (белка или нуклеиновой кислоты); в частности, Р. ДНК (после денатурации нагреванием) может происходить при медленном охлаждении, что используется для получения гибридных гетеродуплексов.

Репаративная репликация – этап эксцизионной репарации, в процессе которого происходит застройка образовавшихся брешей, осуществляемая в соответствии с принципами репликации ДНК с участием ДНК-полимеразы I.

Репаративные ферменты – набор специфических ферментов клетки, участвующих в процессе репарации; к Р.Ф. относятся нуклеазы (например, кодируемые у *E.coli* генами *uvrA* и *uvrB* и вырезающие поврежденные участки ДНК), ДНК-полимераза I, фотореактивирующий фермент – дезоксирибопиримидинфотолиаза (кодируется у *E.coli* геном *phg*), участвующий в фотореактивации, а также ряд др. менее специфических для репарации ферментов – например, ДНКлигаза.

Репарация, репаративный синтез – восстановление нативной первичной структуры молекулы ДНК (т.е. исправление повреждений, спонтанно возникающих в процессе репликации и рекомбинации или вызванных действием внешних факторов); различают фотореактивацию, эксцизионную и пострепликативную Р.; Р. осуществляется с помощью набора специфических репаративных ферментов; дефектность Р. ДНК наблюдается при некоторых наследственных заболеваниях человека – пигментной ксеродерме, атаксии-телангиэктазии, анемии Фанкони, трихотиодистрофии и др.

Репликация – процесс точного самовоспроизведения молекул нуклеиновых кислот, сопровождающийся передачей точных копий генетической информации в ряду поколений. Термин Р. в основном используется для определения процесса синтеза новой нити ДНК на матричной нити ДНК с целью точного копирования информации, содержащейся в геноме. Р. ДНК является полуконсервативной. Основные стадии этого процесса включают разделение нитей ДНК с образованием репликативной вилки, связывание ДНК-полимеразы и добавление комплементарных нуклеотидов начиная с 3'-конца. Нить, непрерывно реплицирующаяся (ведущая нить, лидерная нить), долж-

на отделяться от др. (запаздывающей) нити, которая реплицируется прерывисто, короткими кусками (фрагменты Оказаки). После синтеза фрагменты Оказаки лигируются (с участием ДНК-лигазы), образуя целую запаздывающую нить.

Репликация по типу «Катящееся кольцо» - способ репликации, при котором репликационная вилка совершает множество оборотов на циркулярной матрице; синтезирующаяся в каждом цикле цепь ДНК вытесняет цепь, синтезированную в предыдущем цикле, образуя хвост, состоящий из линейного набора последовательностей, комплементарных одноцепочечному матричному кольцу.

Репликон – автономная единица репликации, находящаяся под контролем одной точки инициации репликации (репликатора); у прокариот Р. представлен всем геномом, а у эукариот геном может включать множество Р.; термин «Р.» предложен Ф. Жакобом и С. Бреннером в 1963.

Реплицирующийся участок – участок ДНК (репликон), проходящий процесс репликации в определенный момент времени; ввиду значительной десинхронизации процесса репликации у эукариот распределение Р.У. оказывается видо- и хромосомоспецифичным, что было продемонстрировано, в частности, для генома человека В. Шмидом в 1963.

Репрессор – (от лат. *repressio* – подавление) – белок, кодируемый геном-регулятором, способный блокировать действие функционирующего гена-оперона, что приводит к снижению уровня синтеза белков. При связывании репрессора метаболитами, называемыми эффекторами, синтез белков вновь активизируется.

Репортерный ген (*reporter gene*) – ген, хорошо изученный генетически и биохимически, который легко может быть сшит с регуляторной областью др. генов. Его активность в норме не обнаруживается в организме, в который этот ген переносится. Активность большинства Р. г. можно легко протестировать достаточно простыми методами (напр., определением ферментативной активности белкового продукта для галактозидазы, β -глюкуронидазы, хлорамфениколацетилтрансферазы, люциферазы, неомицин фосфотрансферазы, нопалинсинтазы и др.).

Репрессор – [лат. *repressio* – подавление] – белок, кодируемый геном-регулятором, способный блокировать действие функционирующего гена-оперона, что приводит к снижению уровня синтеза белков. При связывании репрессора метаболитами, называемыми эффекторами, синтез белков вновь активизируется.

Рестриктазы – ферменты рестрикции, разрезающие ДНК по

определенным нуклеотидным последовательностям, называемым сайтами рестрикции (см.). Р. могут кодироваться не только геномом бактерий, но также плазмидами и бактериофагами. Являются одним из главных инструментов генной инженерии, широко используются для получения рекомбинантных ДНК(см.). Синоним – рестрикционные эндонуклеазы.

Рестрикционные карты – диаграмма расположения на молекуле ДНК сайтов узнавания (см.) рестриктазами. Самыми полными являются Р. к., построенные для небольших молекул ДНК (напр., хромосом прокариот). Первую полную физическую карту расположения участков 14 рестриктаз составил Д. Натанс для ДНК вируса sv-40.

Ретротранспозоны – группа мобильных генетических элементов, перемещение которых осуществляется с использованием механизма обратной транскрипции (при участии обратной транскриптазы); к Р. относятся мобильные диспергированные гены дрозофил, Ту-элемент дрожжей и др.

Рецептор – локализованный в плазматической мембране трансмембранный белок, способный связываться с лигандом на наружной стороне мембраны и, тем самым, вызывать изменение активности на стороне, обращенной к цитоплазме. Часто используется для обозначения участка молекулы, который делает возможным связывание лигандов.

Реципиентный организм, реципиент – 1. Любая клетка или организм, получающий: а) новую генетическую информацию в форме чужеродной ДНК или РНК; б) к.-л. биологический материал от др. организма-донора. 2. Клетка, принимающая генетический материал при трансдукции и конъюгации.

Ровные (тупые) концы – термин, относящийся к двухцепочечным фрагментам ДНК у которых ни одна нить на концевых участках не выступает за другую в отличие от липких концов (см.). Р.к. образуются в результате действия рестриктаз (рестрикционных эндонуклеаз) *Alu I*, *EcoR V*, *Hpa I*, *Nac I*, *Pvu II*, *Sma I* и др., а также путем удаления однонитчатых концов с помощью S1-нуклеазы или достройки их с помощью ДНК-полимеразы I.

Рибонуклеиновая кислота (РНК) – чаще всего однонитчатый полинуклеотид, характеризующийся наличием в нем сахара рибозы и урацила (вместо дезоксирибозы и тимина в ДНК). Обеспечивает передачу генетической информации (информационная иРНК и транспортная тРНК), служит в качестве структурного каркаса для рибосом (рибосомная рРНК) и выполняет ферментативные функции (рибозимы). Около 90% всей клеточной РНК составляет рРНК, около 8% со-

ставляет тРНК, а на долю иРНК приходится менее 2%. У эукариот молекулы РНК, как правило, транскрибируются в виде больших молекул (предшественников про-РНК), а затем путем сплайсинга и др. посттранскрипционных модификаций преобразуются в активные (зрелые) формы, имеющие меньшие (иногда существенно) размеры. У многих вирусов вся генетическая информация вместо ДНК содержится в одно- и двунитчатых РНК.

Рибосома – органоид клетки, с помощью которого осуществляется биосинтез белка. Р. представляет собой асимметричную рибонуклеопротеидную частицу диаметром 10–20 μm , которая состоит из двух субъединиц и обладающая каталитической функцией, ответственной за образование пептидных связей, т. е. за полимеризацию аминокислотных остатков в полипептидную цепь белка. При связывании Р. с информационной РНК начинается синтез полипептидов. Малая субъединица содержит единственную цепь рРНК (16S – у прокариот, хлоропластов и растений, 18S рРНК – у животных), связанную с рибосомными белками (S-белки), которая связывается с иРНК. Большая субъединица является комплексом большой цепи рРНК (23S рРНК – у прокариот, 25S – у растений и митохондрий, 28S – у животных) и одной или двух малых рРНК (5S – у прокариот, 5S и 5,8S – у эукариот), а также рибосомных L-белков. Этот комплекс имеет центры для присоединения 2–3 молекул транспортной РНК.

РНК-затравка – олигорибонуклеотид, синтезируемый с участием РНК-полимеразы (см) или ДНК-праймазы (см): с 5'-конца РНК-3. с участием ДНК-полимеразы III инициируется синтез новой молекулы ДНК (или фрагмента Оказаки), после чего РНК-3. отщепляется, образуя брешь одновременно застраивается ДНК-полимеразой I, а одноцепочечные разрывы репарируются ДНК-лигазой.

РНК-полимераза, РНК-синтетаза – фермент, осуществляющий матричный синтез РНК из рибонуклеозидтрифосфатов; в зависимости от используемой матрицы – ДНК или РНК – различают ДНК-зависимую и РНК-зависимую РНК-П.; у прокариот имеется 2 типа РНК-П.: одна из них синтезирует РНК-затравки для фрагментов Оказаки, а другая – все остальные типы РНК; у эукариот – 3 типа РНК-П.: РНК-П. I осуществляет синтез рРНК, РНК-П. II синтезирует мРНК, а РНК-П. III – тРНК, 5S-РНК и др. небольшие РНК; активность РНК-П. может полностью подавляться некоторыми антибиотиками – например, рифамицином и актиномицином D (бактериальная РНК-п.), альфа-аманитином (РНК-П. II прокариот).

Ро-зависимый терминатор – терминатор (последовательность нуклеотидов, обеспечивающая терминацию транскрипции), для нор-

мального функционирования которого необходимо присутствие ро-фактора.

Ро-независимый терминатор – терминатор, функционирующий в отсутствие ро-фактора; характерной особенностью структуры Р.-Н.Т. является наличие ГЦ-богатого участка с центральной симметрией, предшествующего кластеру из 4–8 адениловых нуклеотидов в значащей цепи.

Ро-фактор, фактор терминации – белок E.coli, необходимый для осуществления терминации транскрипции на ро-зависимых терминаторах; Р.-Ф. в активной форме – тетрамер с молекулярной массой 55 кД; in vitro Р.-Ф. в каталитических количествах функционирует как фактор терминации, а также обладает РНК-зависимой АТ-Фазной (ГТФазной) активностью, необходимой для его функционирования.

Ras-белки – мембраносвязанные G-белки, участвующие в передаче сигнала. Они осуществляют один из первых этапов передачи сигнала извне клетки и, как правило, регулируют размножение клеток. Некоторые мутации могут приводить к постоянной активации Ras, что нарушает регуляцию деления клеток. Ошибки в регуляции Ras могут привести к росту опухоли и метастазированию

С

Сайленсер (англ. silencer) → 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. Сайленсеры могут находиться на расстоянии до 2500 пар нуклеотидов от промотора.

Сайт клонирования – место (сайт) расщепления ДНК определенной рестриктазой в векторе клонирования, которое локализовано в пределах одного из генов устойчивости. Это позволяет обнаруживать инсерцированную чужеродную ДНК по исчезновению устойчивости к антибиотикам на селективной среде в процессе клонирования (см.).

Сайт рестрикции – последовательность пар оснований в молекуле ДНК, в месте расположения которой определенная рестрикционная нуклеаза разрезает (расщепляет) ее.

Сайт узнавания – специфическая последовательность ДНК, с которой связываются рестрикционные эндонуклеазы, а также начинается расщепление молекулы ДНК данным ферментом. Для каждой рестриктазы имеется собственная специфическая последовательность узнавания. Обычно С. у. представлен коротким палиндромом (см.).

Cos-сайты (*cos-sites*) – однонитчатые, комплементарные участки на обоих концах ДНК фага лямбда (см. Липкие концы), состоящие из 12 нуклеотидов. Обеспечивают фагу образование кольцевых структур путем соединения комплементарных концов и упаковку ДНК в фаговые частицы. *Cos*- с. используются для конструирования космид (см.).

Самостоятельная репликация – способность ряда внехромосомных генетических элементов (плазмид) к автономной репликации.

Сателлитная ДНК – избыточная геномная ДНК, как правило, резко отличающаяся смещением соотношения А+Т/Г+Ц (в сторону А+Т – «легкая» сатДНК; в сторону Г+Ц – «тяжелая» сатДНК) от др. участков ДНК, содержащаяся в значительном (105 и более) числе повторов и, соответственно, ренатурирующая намного быстрее уникальных последовательностей (см.); С.ДНК может быть выделена при центрифугировании в градиенте плотности хлорида цезия в виде добавочной, спутниковой (сателлитной) по отношению к основным фракциям; как правило, С.ДНК локализована в центромерах и реже – теломерах хромосом и входит в состав гетерохроматина.

Саузерн-блот анализ – анализ молекул ДНК и их фрагментов при помощи метода блот-гибридизации по Саузерну.

Саузерн-блот гибридизация – метод, позволяющий идентифицировать конкретные гены и другие рестрикционные фрагменты ДНК после их электрофоретического разделения. Суть метода заключается в том, что сначала фрагменты ДНК, разделенные в агарозном геле, денатурируются до одноцепочечных молекул, а затем весь электрофоретический спектр ДНК отпечатывается (blotting) за счет капиллярных сил на приложенной к гелю нитроцеллюлозной мембране (пленке), после чего фиксируется при помощи высокой температуры. Далее мембрана помещается в гибридизационный буфер, содержащий специальный радиоактивно меченный ДНК-зонд – короткую специфическую последовательность ДНК. Зонд способен гибридизоваться с определенным комплементарным фрагментом ДНК и свяжется только с одной или несколькими конкретными фракциями из всего электрофоретического спектра полученных рестрикционных фрагментов ДНК. На последнем этапе к нитроцеллюлозной мембране, содержащей весь спектр полученных фрагментов ДНК, включая фракции гибридизовавшиеся с радиоактивно меченым зондом, прикладывают рентгеновскую пленку. На пленке (авторадиограмме) после экспозиции выявляются засвеченные места, соответствующие расположению меченых фракций ДНК. Метод разработан Э. Саузерном и Р. Дейвисом в 1975 г.

Светящиеся фракции ДНК – двунитчатые фракции ДНК в агарозном или полиакриламидном геле, окрашенные красителем этидий бромидом, в комплексе с которым приобретают малиновую окраску при УФ освещении.

Секвенирование ДНК (*DNA sequencing*) – метод определения последовательности оснований в молекуле ДНК. Существует несколько методов секвенирования: автоматическое, химическое, прямое, секвенирование по Максаму-Гилберту, Сэнгеру и др.

Секвенирование ДНК по Максаму-Гилберту, химический метод (*Maxam-Gilbert sequencing or chemical s.*) – один из наиболее распространенных методов определения первичной последовательности нуклеотидов в молекуле ДНК в XX веке. Вначале ДНК режется на фрагменты размером 0,6–2,0 кб, концы фрагментов метятся радиоактивной или нерадиоактивной меткой и плавятся для получения одностранных молекул. Радиоактивное мечение может осуществляться изотопами серы ^{35}S или фосфора ^{32}P , нерадиоактивное мечение – с помощью биотиновой или флуоресцентной метки. После мечения образец ДНК разделяется на 4 части, каждую из которых обрабатывают реагентом, специфически разрушающим одно из четырех оснований ДНК. Условия реакции подбирают таким образом, чтобы на каждую молекулу ДНК приходилось лишь несколько повреждений. Когда эти поврежденные молекулы обрабатывают пиперидином, в ДНК образуется разрыв в том месте, где находилось разрушенное основание. В результате получается набор 5'-меченых фрагментов, длины которых определяются расстоянием от разрушенного основания до конца молекулы. Фрагменты, полученные в результате 4 типов реакции, подвергаются электрофорезу (см.) в полиакриламидном геле, и затем полосы выявляются соответствующим методом в зависимости от способа мечения. На основе результатов электрофореза определяются нуклеотиды и их последовательность в исходной ДНК.

Секвенирование ДНК по Сэнгеру, ферментативный метод (*Sanger sequencing or enzymatic method s.*) – техника секвенирования (см.) одностранный ДНК. В основе метода – присоединение к одностранный ДНК-матрицы секвенирующего праймера (синтетических олигонуклеотидов). Реакционная смесь переносится в 4 пробирки, куда добавляются все 4 дезоксирибонуклеозидтрифосфата, один из которых мечен по ^{32}P . Каждая пробирка содержит также различные дидезоксирибонуклеозидтрифосфаты (ддАТФ, ддЦТФ, ддГТФ и ддТТФ). Для синтеза комплементарной цепи к одностранный последовательности матрицы в пробирки добавляется фермент ДНК-полимераза (см.). В результате происходит удлинение праймера в соответствии с матричной по-

следовательностью. Когда в растущую цепь вместо соответствующего дНТФ в матрице включается ддНТФ, цепь прерывается. В итоге каждая реакционная смесь получит набор радиоактивно меченных фрагментов ДНК с общим 5'-концом (праймер), но с разными 3'-концами. После окончания реакции ДНК денатурируется, затем подвергается электрофорезу в полиакриламидном геле и с помощью радиоавтографии выявляются радиоактивные полосы. Последовательность нуклеотидов в исходной ДНК-матрице прочитывается прямо с радиоавтограммы.

Секреция – транспортировка молекулы из клетки через клеточную мембрану.

Селективная среда - средовые условия в культуре *in vitro*, обеспечивающие отбор клеток с желательными признаками.

Селекция [лат. *selectio* – выбор, отбор; *seligere* – выбрать, избрать] – искусственный отбор с целью улучшения пород животных или сортов растений, в том числе устойчивых против заболеваний.

σ -фактор – субъединица прокариотической РНК-полимеразы, отвечающая за инициацию транскрипции с определенных иницирующих последовательностей.

Сигнальный пептид – участок из 15-30 аминокислотных остатков на N-конце белка, который, как полагают, участвует в секреции (прохождении через клеточную мембрану) белка. После выделения белка из клетки сигнальный пептид удаляется.

Сиквенс ДНК – см. *Секвенирование ДНК*.

Скрининг (англ. *screening* - отбор, сортировка) – поиск в генной библиотеке клонов конкретной колонии, содержащей нужный фрагмент чужеродной ДНК.

Слияние изолированных протопластов – формирование одной клетки из двух и более объединением их поверхностных мембран.

Создание рекомбинантных ДНК – конструирование новых последовательностей ДНК, образованных *in vitro* путем сшивания двух или более негомологичных молекул ДНК. Первая рекомбинантная ДНК была создана (сконструирована) в 1972 г. П. Бергом и включала в себя фрагменты фага λ , *E. coli* и вируса обезьян *sv40* (см. Первая рекомбинантная (гибридная) молекула ДНК).

SOS-ответ – синтез полного набора белков, обеспечивающих репарацию, рекомбинацию и репликацию у бактерий, получивших серьёзные повреждения ДНК (например, в результате облучения УФ светом).

Соматотропин (гормон роста человека ГРЧ) (*growth hormone, GH, somatotropin*) – гормон секретируется передней долей гипофиза.

Впервые он был выделен и очищен в 1963 г. Его недостаток приводит к заболеванию – карликовости (1 случай на 5000 человек).

Спейсер – нетранскрибируемый участок молекулы ДНК, разделяющий повторяющиеся транскрибируемые элементы генного кластера; обычно С. высокоизменчивы как по размерам (в кластерах генов рРНК), так и по нуклеотидному составу в отличие от консервативных транскрибируемых участков (генов); также С. – любой нетранскрибируемый участок ДНК, разделяющий активные гены (обычно его размер 5–10 нуклеотидных пар); иногда С. может транскрибироваться.

Сплайсинг – форма процессинга предшественников мРНК у эукариот; в результате С. происходит удаление из молекулы-предшественника последовательностей интронов и ковалентное соединение последовательностей экзонов с образованием зрелых молекул мРНК.

Сплайсома – рибонуклеопротеиновая структура, ассоциированная с ядерным скелетом, способная автономно (как *in vitro*, так и *in vivo*) обеспечивать процесс сплайсинга предшественников мРНК.

Стоп-кодон, нонсенс-к., терминатор – тринуклеотид в информационной РНК, сигнализирующий об окончании синтеза полипептида и освобождении полной полипептидной цепи от рибосомы (см.). Существует три различных типа С.-к.: УАГ (амбер), УГА (опал) и УАА (охра). Ни один из них не соответствует антикодону тРНК.

Sma I – одна из рестрикционных эндонуклеаз, или рестриктаз (см.), которая в двухцепочечной ДНК узнает последовательность из шести нуклеотидов ЦЦЦГГГ и разрезает ее между Ц и Г, образуя ровные (тупые) концы (см.).

Т

Tag-полимераза, Tag-ДНК-полимераза (*Tag polymerase or Tag DNA p*) – фермент из термофильной эубактерии *Thermus aquaticus*, осуществляющий полимеризацию дезоксирибонуклеотидов. Фермент исключительно термостабилен (оптимум температуры 70–75 °С) и обеспечивает выборочную амплификацию (см.) любой клонированной ДНК до 10 млн. раз с высокой точностью методом т. н. полимеразной цепной реакции (см. ПЦР). Может использоваться для мечения фрагментов ДНК с помощью радиоактивных нуклеотидов, а также биотина или дигоксигенина.

Thermus aquaticus – термофильная эубактерия, обитающая в горячих источниках. Из нее был выделен фермент Tag-полимераза, который отличается устойчивостью к высокой температуре и способен

работать с большой скоростью при температуре 70°C в ходе третьей стадии цикла ПЦР.

Таблица (словарь) генетических кодов, словарь кодонов (*genetic code table (dictionary)*) – таблица, включающая генетические значения отдельных кодонов (см.), или триплетов (см.), соответственно продуктам их функционирования. Содержит 64 кодона, из которых 61 смысловой т.е. каждый из них кодирует конкретную аминокислоту и 3 стоп-кодона (см.), или нонсенс-кодона, которые анализируют об окончании синтеза полипептида и освобождении полипептидной цепи от рибосомы (см.).

Тандемный повтор (*tandem repeat*) – организация двух или более расположенных рядом одинаковых последовательностей в пределах двунитчатой молекулы ДНК. Возможны два типа их ориентации – прямые повторы (голова к хвосту 5' – ЦГААТЦ ГТТАТЦГ ГТТАТЦГ АЦГГТ - 3') или не прямые повторы (голова к голове 5' - ЦГААТЦ ЦТТАТЦГ ГЦТАТТГ АЦЦГТ - 3'). Т. п. в области кодирующих генов могут вести к тандемно повторяющимся аминокислотным последовательностям.

Темновая (темновая эксцизионная, эксцизионная) репарация – одна из форм пререпликативной репарации, не нуждающаяся (в отличие от фотореактивации) в энергии видимого света, осуществляется по механизму «вырежь-и-латай»; Т.Р. хорошо изучена у бактерий, но известна также у фагов с двухцепочечной ДНК и у эукариот; в частности, у *E.coli* нуклеазы *uvrA* и *uvrB* распознают участки ДНК с нарушенной структурой, обеспечивая затем начальный этап Т.Р. (вырезание поврежденного участка); впервые Т.Р. была описана у бактерий Р. Сетлоу и У. Карьером в 1964.

Теломера – концевой участок хромосомы, иногда богатый гетерохроматином, играющим роль в сохранении целостности хромосомы за счет предотвращения слипания Т.; при концевых делециях возможно спонтанное «залечивание» Т. порциями гетерохроматина, локализованными в др. участках генома.

Теломераза – фермент группы трансфераз, контролирующей размер, количество и нуклеотидный состав теломер хромосом; впервые Т. была выделена у инфузории *Tetrahymena thermophila*, у которой в макронуклеусе может содержаться несколько десятков тыс. теломер, Т. представляет собой сложный рибонуклеопротеиновый комплекс (РНК, содержащая 159 нуклеотидов, является матрицей для синтеза мотива ТТГГГГ, до 100 повторов которого содержится в каждой теломере) с молекулярной массой около 500 кД.

Теломерная последовательность (повтор) – последователь-

ность нуклеотидов, специфичная для концевых участков ДНК (хромосом), как правило, представленная многочисленными повторами олигонуклеотидов и необходимая для завершения репликации концевых последовательностей хромосом, а также, вероятно, играющая защитную роль; в частности, у позвоночных высококонсервативной является Т.П. (ТТАГГГ)_n, выявлена в теломерах всех хромосом более чем у 100 видов из основных классов – рыбы, амфибии, рептилии, птицы, млекопитающие; впервые Т.П. были описаны у инфузории *Tetrahymena pyriformis* (по 30–70 повторов гексануклеотида ААЦЦЦЦ) Э. Блэберном и Дж. Галлом в 1978.

Температура плавления – одна из основных характеристик данной молекулы ДНК (или гибридного ДНК/РНК-дуплекса) – температура, при которой происходит диссоциация 50% двойной спирали, специфична для ДНК данного вида организмов, т.к. зависит от нуклеотидного состава и ее общих размеров; Т. п. отражает АТ/ГЦ-соотношение в молекуле нуклеиновой кислоты, т.к. пара Г-Ц имеет 3 водородные связи (А-Т – 2) и взаимодействие между нуклеотидами этой пары более сильное, – соответственно.

Ti-плазмида (*Ti-plasmid, tumor inducing plasmid*) – плазмида почвенной бактерии *Agrobacterium tumefaciens*, специфический T-участок которой способен включаться в клетки двудольных растений и внедряться в их ядерную ДНК, что ведет к образованию специфических опухолей (галлов); элементы Ti-п. широко используются в качестве векторов в генной инженерии растений.

Тимин, Т [thymine, Т, лат. *thymus* - вилочковая железа и *-in(e)* - суффикс, обозначающий «подобный»] – пиримидиновое основание, 5-метилурацил. Тимин содержится во всех живых клетках в составе ДНК и транспортных РНК; структурный компонент некоторых коферментов углеводного обмена. В ДНК тимин. комплементарен аденину, образуя с ним 2 водородные связи. Синтетический аналог тимина – 5-бромурацил – сильный мутаген.

Точка начала репликации – участок репликона (реплицирующегося участка ДНК), в котором происходит инициация репликации.

Точка окончания репликации – участок реплицирующегося участка ДНК, в котором происходит терминация репликации.

Точка рекомбинации – точка соединения двух рекомбинирующих двухцепочечных молекул ДНК.

Трансдукция (*transduction*) – передача (перенос) генетической информации от одной клетки (донора) к другой (реципиенту) с помощью вируса (бактериофага), что приводит к изменению наследственных свойств клеток; Т. была открыта Дж. Ледербергом и Н. Циндером

в 1952 г. у *Salmonella typhimurium* и фага P22.

Транскрибирующийся спейсер – участок кластера рибосомной ДНК, разделяющий гены двух высокомолекулярных рРНК; Т.С. вырезается в процессе созревания собственно рРНК; у некоторых организмов (бактерии и др.) в состав Т.С. может входить кодирующая последовательность, детерминирующая низкомолекулярную рРНК (5,8S).

Транскрипция – синтез молекул РНК на ДНК- или РНК-матрице, осуществляемый ДНК-зависимой или РНК-зависимой РНК-полимеразой. Т. – первый этап реализации генетической информации, записанной в ДНК, осуществляемый с участием фермента РНК-полимераза у прокариот и не менее 3 типов РНК-полимераз, транскрибирующих гены у эукариот.

Транспозиция – процесс, при котором транспозон или инсерционная последовательность встраиваются в новый сайт той же самой или другой молекулы ДНК. Различные транспозоны могут перемещаться с помощью различных механизмов, и точный механизм транспозиции еще не полностью известен. Транспозиция у бактерий не требует наличия протяженных участков гомологии между транспозоном и ДНК-мишенью.

Трансляция – синтез белка (полипептидной цепи) на рибосомах с использованием в качестве матрицы мРНК. Т. состоит из этапов инициации, реакций аминоацилирования молекул тРНК, элонгации (удлинения) полипептидных цепей и терминации синтеза. Процесс Т. начинается с того, что 5'-лидирующий конец мРНК связывается с рибосомой. Затем мРНК движется через рибосому и служит матрицей для построения полипептидной цепи. Доставку аминокислот на рибосомы к месту синтеза белка осуществляют тРНК. Каждая тРНК присоединяется своим антикодоном к соответствующему кодону мРНК, определяя последовательность аминокислот в полипептидной цепи. Синтез полипептидной цепи начинается с аминоконца (N-конец) и заканчивается карбоксильным концом (С-конец). Изменение скорости трансляции мРНК регулирует экспрессию генов.

Транспозаза – фермент, участвующий в начальных этапах транспозиции некоторых мобильных генетических элементов (МГЭ), например, бактериального Tn3 или Ac в системе активации-диссоциации; ген T., как и фермент резольваза, входит в состав самого МГЭ.

Транспозон, транспозабельный элемент, мобильный э. (*transposon, Tn or transposable element or mobile e.*) – участок ДНК, способный изменять свое положение в пределах генома. Т. фланкируются короткими инвертированными повторами и кодируют ферменты, ко-

торые обеспечивают вырезание, перенос и вставку в новое место. Т. могут быть использованы для конструирования векторов клонирования, для транспозонного мутагенеза и транспозонного мечения. Известно большое количество различных Т (Р-элемент дрозофилы, транспозабельные элементы кукурузы и др.)

Транспозиция: Процесс, при котором транспозон или инсерционная последовательность встраиваются в новый сайт той же самой или другой молекулы ДНК. Различные транспозоны могут перемещаться с помощью различных механизмов, и точный механизм транспозиции еще не полностью известен. Транспозиция у бактерий не требует наличия протяженных участков гомологии между транспозоном и ДНК-мишенью.

Транспортная РНК (т-РНК) – низкомолекулярная РНК (содержит 75-90 нуклеотидов), обеспечивающая перенос аминокислот к рибосомам (см.) для включения их в белки. т-РНК имеют специфическую вторичную структуру в виде “листа клевера”, антикодон расположен в антикодоновой петле, а на 5'-конце всегда находится гуанин (G). Аминокислоты присоединяются к 3'-концу последовательности ССА в тРНК в результате реакции аминоацилирования. Модель “листа клевера” для вторичной структуры тРНК предложена Р. Холли с сотр. в 1965 г.

Транс-сплайсинг – процесс соединения в одной молекуле мРНК последовательностей экзонов разных генов; Т.-С. впервые обнаружен *in vitro* и заключается в соединении комплементарных участков интронных областей 2 процессируемых молекул РНК в Х-образную фигуру с последующим сплайсингом пар экзонов от разных исходных молекул; Т.-С., вероятно, имеет место при «перемешивании» экзонов, а также при образовании некоторых зрелых мРНК у трипанозом.

Трансферазы – класс ферментов (в классификации ферментов первая цифра – 2), катализирующих обратимые процессы переноса различных групп атомов (например, аминные, ацильные, фосфатные и др.) от одних молекул к другим; разделение на подклассы – в зависимости от структуры переносимой группы; известно около 450 Т.

Трансформация – 1. Перенос генетической информации в бактериальные клетки при помощи изолированной ДНК с участием или без участия плазмид (см.), но всегда без участия вирусов. 2. Направленная модификация генома клетки с помощью очищенной или рекомбинантной ДНК из клетки др. генотипа, которая интегрируется (включается) в геном модифицируемой клетки. 3. Изменение морфологии клетки или др. ее характеристик (напр., неопластического роста и др.), происходящее после интеграции нуклеиновой кислоты от он-

когенных вирусов в клеточный геном, после воздействия химическими канцерогенами или спонтанно (онкогенная Т.). 4. Изменение наследственных свойств клетки в результате проникновения в нее чужеродной ДНК. Впервые обнаружена в 1928 г. у пневмококков Ф. Гриффитом.

Трансгенные организмы – организмы, в наследственные структуры которых искусственно введен хотя бы один активно функционирующий ген от другого организма (см. Трансформированные организмы, ГМО).

Трансформированные организмы – организмы с измененными наследственными свойствами в результате проникновения в них чужеродной ДНК (см. Трансгенные организмы, ГМО).

Триплет – комбинация из трех последовательно расположенных нуклеотидов в молекуле нуклеиновой кислоты (см. Кодон).

У

Убиквитин – небольшой белок, присутствующий во всех эукариотических клетках, роль которого состоит в маркировании тех белков, которые предназначены для протеолитического расщепления (так как они повреждены или больше не нужны клетке).

Умеренно повторяющаяся ДНК – нуклеотидная последовательность (длиной в 100–500 нуклеотидных пар), повторяющаяся в геноме 10-100 раз; У.П. ДНК обнаруживается в составе гетерохроматина, к ней относятся гены рРНК и тРНК животных, некоторые др., мультигенные семейства, а также мобильные генетические элементы различной природы.

Уникальные (неповторяющиеся) последовательности ДНК (*non-repetitious DNA sequences*) – участки ДНК, присутствующие в данном геноме в одной копии (редко в нескольких, но обычно не более 10); большинство структурных генов (за исключением тех, которые составляют мультигенные семейства) представлено У. п.

Упаковка ДНК – совокупность процессов спирализации и самоукладки двухцепочечной молекулы ДНК, ведущих к резкому сокращению ее абсолютной длины; эффективность У. оценивается по индексу упаковки.

Урацил, У [uracil, U,] – пиримидиновое основание (2,4-диоксопиримидин), которое является компонентом рибонуклеиновых кислот и как правило отсутствует в ДНК, входит в состав нуклеотида. В составе нуклеиновых кислот может комплементарно связываться с аденином, образуя две водородные связи.

Участок расщепления – см. Сайт рестрикции.

Участок узнавания – см. Сайт узнавания.

Ф

Фаги – см. Бактериофаги.

Фактор IF2 – главный фактор инициации трансляции у прокариот – крупный белок кислой природы с молекулярной массой 100 кД (IF2a) или 90 кД (IF2b), в комплексе с ГТФ взаимодействует с формилметионин-тРНК и 30S-субчастицей рибосом, способствуя связыванию мРНК.

Фактор элонгации (Ef-G – у прокариот) – крупный белок, обеспечивающий акт перемещения рибосомы во время трансляции: Ф.Э. взаимодействует с ГТФ (гуанозинтрифосфат) и с рибосомой, что сопровождается появлением ГТФазной активности, перемещением и расщеплением ГТФ, при этом гидролиз ГТФ не требуется непосредственно для осуществления перемещения рибосомы, после завершения которого Ф.Э. освобождается из комплекса с рибосомой; молекулярная масса Ф.Э. *E. coli* 77444 Д; число молекул Ф.Э., содержащихся в клетке, примерно равно числу рибосом.

Факторы транскрипции – вспомогательные белки, облегчающие РНК-полимеразам прохождение основных этапов транскрипции (инициацию, элонгацию и терминацию), а также обеспечивающие избирательный характер транскрипции (например, тканеспецифичную экспрессию генов путем взаимодействия с энхансерами).

Ферменты — вещества белковой природы, присутствующие во всех живых клетках, направляющие, регулирующие и многократно ускоряющие биохимические процессы в них; играют важнейшую роль в метаболизме.

Фильтр из нитроцеллюлозной плёнки – см. Нитроцеллюлозная (пленка) мембрана.

Фингерпринт ДНК (*DNA fingerprint*) – высокоспецифичные гибридизационные полосы на электрофореграммах (фингерпринт), образующиеся как результат полиморфизма длины рестрикционных фрагментов геномной ДНК (ПДРФ, см.). Причиной такого полиморфизма могут быть мутации в пределах сайта рестрикции (см.), повторы ДНК (мини- и микросателлиты) и др.

Фланкирующая последовательность ДНК – характеризует любую нуклеотидную последовательность, расположенную рядом («на фланге») с другой последовательностью; различают 5'- и 3'-Ф.П. ДНК, т.е. прилегающие к основной последовательности соответственно с 5'- и 3'-конца полинуклеотидной цепи.

Фосфорилирование – процесс переноса остатка фосфорной кис-

лоты от фосфорилирующего агента-донора к субстрату, катализируемый ферментами и ведущий к образованию сложных эфиров фосфорной кислоты. В живых клетках Ф. – один из наиболее распространённых видов посттрансляционной модификации белка. Процессы фосфорилирования и дефосфорилирования различных субстратов являются одними из важнейших биохимических реакций. Они катализируются особыми ферментами, выделяемыми в особый класс киназ, или иначе фосфотрансфераз.

Фрагменты Оказаки – относительно небольшие (у *E.coli* – 1–2 тыс. н.п., а у млекопитающих – около 100 н.п.) фрагменты синтезируемой молекулы ДНК в «отстающей цепи» репликативной вилки (в направлении 5' 3'); сшивание (лигирование) Ф.О. происходит с участием ДНК-лигазы, инициация синтеза Ф.О. происходит с использованием РНК-затравок, образующихся в результате действия праймазы; Ф.О. были описаны Р. Оказаки с сотр. в 1968.

Фракции, гибридизовавшиеся с радиоактивно меченым зондом – часть молекул ДНК, которые после электрофоретического фракционирования комплементарно связались с радиоактивным зондом в процессе Саузерн-блот гибридизации.

Фолдинг белка (англ. folding - укладка белка) - процесс спонтанного сворачивания полипептидной цепи в уникальную нативную пространственную структуру (так называемая третичная структура).

Х

X-Gal – специальный субстрат, который расщепляется ферментом β -галактозидазой (продукт гена *lac-Z*) (см.) с образованием нерастворимого осадка сине-голубого цвета. Широко используется в генной инженерии для детекции (выявления) бактериальных колоний содержащих плазмиды со встроенной чужеродной ДНК.

Химерные плазмиды – плазмиды, содержащие вставку (фрагмент) чужеродной ДНК.

Химиотерапия – лечение заразных и инвазионных болезней такими (гл. обр. синтетическими) препаратами, которые, действуя паразитоцидно или паразитостатически на возбудителей болезни, оказывают незначительный вред или совершенно безвредны для лечимого организма.

Hind III – одна из широко применяемых рестрикционных эндонуклеаз, или рестриктаз (см.), извлекаемая из *Haemophilus influenzae*, которая в двухцепочечной ДНК узнает последовательность из шести нуклеотидов ААГЦТТ и разрезает ее между А и А, образуя липкие концы (см.).

Хроматиды – [гр. *chroma* – цвет и *eidos* – подобный] – продольные половинки хромосом, состоящие, в свою очередь, из хромонем. В последних различают хромофибриллы, содержащие ДНК. Хроматиды в качестве составной части хромосом выступают в период профазы и метафазы митоза. Позднее во время анафазы после расщепления хромосом на хроматиды каждая хроматида становится самостоятельным образованием и обозначается уже как дочерняя или сестринская хромосома. Термин «хроматида» предложен Мак Клунгом (1900).

Хроматин – [гр. *chroma* – цвет] – это вещество хромосом, представляющее собой комплекс ДНК и белков. Х. находится внутри ядра клеток эукариот и входит в состав нуклеоида у прокариот. Х. окрашивается основными красителями. Термин введен в литературу Флеммингом (1880).

Хромосома – нуклеопротеидная структура в ядре эукариотической клетки, в которой сосредоточена большая часть наследственной информации и которая предназначена для её хранения, реализации и передачи. Хромосомы четко различимы в световом микроскопе только в период митотического или мейотического деления клетки. Набор всех хромосом клетки, называемый кариотипом, является видоспецифичным признаком. В диплоидной клетке человека 46 хромосом, что составляет 6 пг ДНК. Общая длина гаплоидного набора (23 хромосом) составляет $3,2 \times 10^9$ пар нуклеотид. Истинное количество структурных генов составляет от 30-40 тысяч. В интерфазной клетке хромосомы представлены хроматином. При световой микроскопии хромосомы наблюдаются в митозе (митотические хромосомы).

Хромосомная библиотека (*chromosome specific library*) – один из видов геномной библиотеки (см.), используемый для анализа геномов больших размеров, напр. человека. Х. б. создают клонированием (см.) фрагментов ДНК индивидуальных хромосом.

Ц

Циклический аденозин монофосфат (цАМФ) – молекула-«мессенджер», регулирующая многие внутриклеточные реакции; участвует в молекулярных механизмах действия многих гормонов, передачи нервного возбуждения, мышечного сокращения и др.

Циклины – семейство белков-активаторов ферментов циклин-зависимых киназ (CDK). Без циклина CDK не активна. Прохождение клеточного цикла достигается путем последовательной активации и инактивации разных комплексов циклин-CDK. Механизм действия комплексов циклин-CDK заключается в присоединении фосфатной группировки (фосфорилировании) к белкам-мишеням. Основным

результатом каскада сигнальных событий, происходящих вследствие связывания ростового фактора с рецептором на поверхности клетки, является активация комплекса циклин D-CDK4 и/или циклин D-CDK6. Комплексы циклин D-CDK4 и/или циклин D-CDK6 работают в течение фаз G₁, S и G₂ и в начале митоза. Этот комплекс фосфорилирует различные транскрипционные факторы белковой природы, необходимые для вступления клетки в S фазу. Также комплекс циклин D-CDK4/6 способствует синтезу циклина E.

Цинковый палец – ДНК-связывающий белок, содержащий участок с двумя близко расположенными остатками цистеина и двумя остатками гистидина, которые служат лигандами для одного иона Zn²⁺. При связывании иона цинка структура изменяет конформацию, при этом аминокислотная цепочка выпячивается в виде пальца, что позволяет белку взаимодействовать с большой бороздкой ДНК

Цитозин, Ц [cytosine, C] – пиримидиновое основание, 2-окси-4-амино-пиримидин. Цитозин содержится во всех живых клетках в составе ДНК и РНК, входит также в состав некоторых коферментов и антибиотиков. Метилирование цитозина в ДНК с превращением его в 5-метилцитозин является важным процессом в регуляции транскрипции генов (см. *Метилирование*).

Ч

Четвертичная структура белка – форма пространственной организации белков, обусловленная различными вариантами взаиморасположения и взаимодействия отдельных полипептидных цепей. Ч.с. имеют только белки состоящие из двух и более полипептидных цепей (субъединиц).

Чужеродная ДНК – ДНК какого-либо организма по отношению к организму-реципиенту.

Ш

Шапероны – сем. белков, обеспечивающих *in vivo* правильную сборку и формирование трехмерной конформации полипептидов после их выхода с рибосом, при этом шапероны не входят в состав конечной белковой структуры. Белки, выполняющие такие же функции у прокариот носят название шаперонинов. См: белки теплового шока.

Штамм — чистая культура микроорганизмов или вирусов данного вида, выделенная из определенного источника (почвы, воды, организма и т. п.) и обладающая особыми физиолого-биохимическими свойствами.

«Шпилька» – двухцепочечный участок одноцепочечной молеку-

лы ДНК или РНК, образованный в результате комплементарных взаимодействий между соседними инвертированными последовательностями нуклеотидов. **Штамм** — чистая культура микроорганизмов или вирусов данного вида, выделенная из определенного источника (почвы, воды, организма и т. п.) и обладающая особыми физиолого-биохимическими свойствами.

Э

Экзоны (*exons*) – последовательности эукариотических генов, которые, как правило, сохраняются при процессинге про-иРНК и образуют зрелую матричную, или информационную РНК. Э., как правило, чередуются с нитронами (см.). Э. выполняют три принципиально различные функции: а) функцию лидера: первый Э. содержит сигналы для инициации транскрипции (см.) и последовательности с функцией, управляющей присоединением матрицы к рибосомам (см.), и не транслируется (см. Трансляция) в белок; б) функции матрицы (информации); Э. содержат информацию, которая обеспечивает образование белка из отдельных аминокислот; в) терминирующие функции (см. Терминация): последний Э. включает последовательности, которые в зрелой иРНК являются сигналом для окончания трансляции, а также гомополимерное адениловое окончание (хвост) – поли(А) иРНК. Термин экзон предложен У. Гилбертом в 1978 г.

Экзонуклеаза – фермент, последовательно отщепляющий нуклеотиды от конца молекулы нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК).

Эксцизионные ферменты – ферменты, участвующие в процессе эксцизионной репарации и обеспечивающие «вырезание» поврежденных (нуклеаза, ДНК-гликозидаза) и последующее «латание» образующихся брешей (ДНК-полимераза, ДНК-лигаза).

Эксцизионная репарация – процессы репарации двухцепочечной ДНК, включающие удаление поврежденного или неправильного участка одной цепи ДНК и его замену новым, синтезированным по матрице комплементарной цепи ДНК.

Экспрессия гена – реализация генетической информации, закодированной в ДНК, путем ее транскрипции (см.) и трансляции (см.) иРНК.

Электрофорез в агарозном геле – Метод разделения заряженных биологических макромолекул (белков, нуклеиновых кислот и т. д.) в электрическом поле, базирующийся на их различии по электрическому заряду, форме и размеру. Молекулы мигрируют через инертный агарозный гель под действием электрического поля. Э. открыт Ф. Ф. Рейсом в 1807 г. В биологии Э. начал использовать А. Тизелиус,

сконструировавший первый прибор для электрофоретического разделения белков в 30-е гг. XX в.

Электрофоретическая камера – часть прибора для проведения электрофореза. Различают вертикальную и горизонтальную Э.к.

Элонгация (*elongation*) – удлинение нуклеотидной цепи путем добавления новых нуклеотидов (ДНК- или РНК-синтез) или аминокислотной цепи путем присоединения аминокислот.

Энхансер – специфическая цис-действующая последовательность нуклеотидов, усиливающая транскрипцию генов РНК-полимеразой II; способность ряда Э. взаимодействовать со специфическими белками в дифференцированных клетках обеспечивает тканеспецифичный характер экспрессии соответствующих генов; считается, что Э. является одной из форм мобильных генетических элементов; один из Э. – Spm-элемент.

Этидиум бромид (3,8-диамино-6-этил-5-фенилфенантридиум бромид) – флуоресцирующий краситель (канцероген), который обладает способностью интеркалировать между парами оснований в двунитчатой ДНК и РНК. Комплекс нуклеиновой кислоты с Э. б. флуоресцирует под УФ светом. Используется для визуального обнаружения двунитчатых молекул ДНК в агарозном и полиакриламидном геле (см.) при флуоресцентном излучении в 590 нм. Э. б. позволяет производить количественную оценку содержания нуклеиновых кислот в препарате.

Эухроматин (*euchromatin*) – активный хроматин, не обнаруживаемый визуально на протяжении всей интерфазы вследствие низкой плотности его упаковки, содержит подавляющее большинство активно транскрибируемых генов, способен обратимо превращаться в факкультативный гетерохроматин в процессе инактивации X-хромосомы.