

Э.М.Ахундова, С.Дж.Салаева

ГЕНЕТИКА

В ВОПРОСАХ И ОТВЕТАХ

(250 ВОПРОСОВ И ОТВЕТОВ)

Учебное пособие

*Утверждено приказом Министра Образования
Азербайджанской Республики №1108 от 02.12.2015 г.
и Комиссией УМС-а Бакинского Государственного
Университета от 16.10.2017 (протокол №02).*

БАКУ-2019

Научный редактор:

Рауф Алекпер оглы Кулиев – зав. кафедры «Генетики и эволюционного учения» Бакинского Государственного Университета, доктор сельскохозяйственных наук, профессор

Рецензенты:

Рафик Ахад оглы Гасанов - зав. кафедры «Биофизики и молекулярной биологии» Бакинского Государственного Университета, доктор биологических наук, профессор

Алиев Рамиз Таги оглы – зав. отделом «Физиологии растений» Института Генетических Ресурсов НАНА, доктор биологических наук, профессор

Э.М.Ахундова, С.Дж.Салаева. Генетика в вопросах и ответах (250 вопросов и ответов). Учебное пособие. Баку, Издательство «Elm və təhsil», 2019, 352 с.

Учебное пособие написано в форме вопросов и ответов, которые, как показывает практика, часто оказываются затруднительными для студентов на экзамене по генетике. Состоит из 19 глав, охватывающих основные разделы вузовской программы по генетике и отражает хотя и кратко, но достаточно обстоятельно, современные представления по различным вопросам теории наследственности. Книга написана хорошим языком и может стать полезной не только для студентов – биологов, но и преподавателей университетов, медицинских и сельскохозяйственных вузов.

3701000000-646

A -----

H-098-2019

*Книга посвящена 100-летию
Бакинского Государственного
Университета*

ПРЕДИСЛОВИЕ

Генетика – наука о наследственности и изменчивости организмов. А поскольку эти универсальные свойства живого теснейшим образом связаны с процессами, лежащими в основе всякой жизнедеятельности, то прогресс генетических знаний в большей степени способствовал решению многих проблем, касающихся сущности жизни. Генетика служит ядром общей биологии. Генетика сыграла выдающуюся роль в разработке эволюционного учения, она послужила корнем для развития клеточной и молекулярной биологии, биохимии, экологии, этологии, физиологии, микробиологии и др. биологических наук. Генетика является научной основой селекции и медицины.

Благодаря блестящим работам генетиков, биохимиков, биофизиков, микробиологов и специалистов в различных областях науки удалось за очень короткий срок сделать настоящий прорыв, который позволил глубоко заглянуть в наиболее важные механизмы жизни. Мы попытались кратко изложить эти результаты, посвятив им отдельные главы.

Необходимость издания учебного пособия «Генетика в вопросах и ответах» вызвана двумя важными обстоятельствами: чрезвычайно бурным развитием генетики, особенно молекулярной генетики и геной инженерии, а также полным отсутствием учебников для вузов доступных для наших студентов, обучающихся на русском языке. В последние годы список доступных для использования книг ограничивается учебниками М.Е.Лобашева «Генетика» (1967) и «Общая генетика» С.И.Алиханяна, А.П.Акифьева и Л.С.Чернина (1985).

Настоящее пособие подготовлено на основе лекций по курсу «Генетика» прочитанных в Бакинском Государственном Университете д.б.н., проф. Э.М.Ахундовой. В книге нашли отражение основные разделы, включенные в программу по генетике. Основной целью при этом является:

- а) показать становление и развитие генетики;
- б) дать обзор основных положений генетики без детального рассмотрения;
- в) обеспечить четкость и ясность изложенного материала.

Весь материал подразделяется на 19 глав в которых освещены основные положения классической генетики, цели и задачи генетического анализа, особенности строения и функционирования генов, хромосом и геномов, вопросы молекулярной генетики, генетики человека, генетических механизмов эволюции и т.д.

Книга построена по принципу «от простого – к сложному», начиная с классических работ Г.Менделя и Г.Моргана и включая достижения генетики последних лет, с акцентом на генетическую роль ДНК, репликацию, экспрессию и регуляцию активности генов. В книге также даны понятия по новым важным разделам генетики, таким как «Геномика», «Протеомика», «Консервативная генетика» без которых невозможно представить современную генетику. В конце книги приводится список учебников и пособий общего характера, а также рекомендуемая к каждой главе литература. Книга является полезным пособием для подготовки студентов по специальности «Генетика», а также содержит разделы, развиваемые в ряде общих и специальных курсов, углубляющих генетическое образование.

Учебное пособие может быть полезным не только студентам, специализирующимся по генетике, но и биологам широкого профиля.

Авторы

ВВЕДЕНИЕ

1. Что такое генетика?

Генетика – наука о наследственности и изменчивости организмов. Наследственность обеспечивает материальную и функциональную преемственность между поколениями организмов, проявляющуюся в непрерывности живой материи при смене поколений. Обеспечение преемственности свойств является одной из сторон наследственности, другая сторона это – обеспечение точной передачи специфичного для каждого организма типа развития, становления в ходе онтогенеза определённых признаков и свойств, определённого типа биосинтеза и обмена веществ.

В понятие наследственности входит свойство генов детерминировать построение специфической белковой молекулы и развитие признака. Понятие наследования отражает наличие процесса передачи информации от одного поколения другому.

Изменчивость является свойством, противоположным наследственности; она заключается в изменении наследственных задатков – генов и в изменении их проявления в процессе развития организмов. Таким образом, наследственность является процессом, обеспечивающим сохранение не только сходства, но и различий организмов в ряду поколений. Эти наследственные различия возникают в силу изменчивости наследственных признаков. Поэтому наследственность и изменчивость являются двумя сторонами, характеризующими эволюцию органических форм.

Знание генетики необходимо для усвоения других биологических наук, включая молекулярную и клеточную биологию, физиологию, эволюционное учение, экологию, систематику и этологию (науку о поведении). Генетика занимает центральное место в общей биологии. Генетическая информация обуславливает функции клеток, определяет внешние признаки организма и обеспечивает связь между поколениями внутри вида.

Очень велико и практическое значение генетики, она служит научной основой селекции полезных микроорганизмов, культурных растений и домашних животных, способствует успехам медицины.

Глава I

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ И ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ ГЕНЕТИКИ

2. Какие этапы характеризуют историю развития генетики?

Первые идеи о механизме наследственности высказали ещё древнегреческие учёные – Демокрит, Гиппократ, Платон, Аристотель. Они связывали наследственность с происхождением человека, размножением и наследственностью в широком смысле. Подобные объяснения мы находим в трудах Гиппократа (500-400 гг. до н.э.) и Аристотеля (384-322 гг. до н.э.). В течение почти 1900 лет (с 300 гг. до н.э. по 1600 гг. н.э.) не появилось ни одной значимой теории наследственности. Между 1600-1850 гг. появились исследования, которые позволили глубже понять основы жизни (Уильям Гарвей (1578 - 1657) – теория эпигенеза, Каспар Вольф (1733 - 1794) – теория преформации, Шлейден и Шванн – клеточная теория и др.). В середине XIX века увидели свет работы Чарлза Дарвина и Грегора Менделя.

Годом рождения генетики считается 1900-й, несмотря на то, что основные законы генетики были открыты в 1865 г. Г.Менделем. У Менделя были предшественники – экспериментаторы, в их числе О.Сажрэ, И.Г.Кельрейтер, Т.Э.Найт, Ш.Ноден, Дж. Госс, которые также наблюдали явление доминирования и расщепления признаков родителей в потомстве, но в них отсутствовал строгий количественный учёт результатов.

Вторичное открытие законов Менделя принадлежит трём учёным – Г. де Фризу (Голландия), К.Корренсу (Германия), Э.Чермаку (Австрия). На разных объектах они получили факты, подтверждающие закономерности наследования признаков, открытые Менделем на горохе. Приоритет Менделя вскоре был восстановлен, и последующее десятилетие в исто-

рии генетики с полным правом может быть охарактеризовано как период торжества менделизма.

Этот этап (1900-1912) – период триумфального шествия менделизма, утверждения открытых Менделем законов наследственности гибридологическими опытами, проведенными в разных странах на высших растениях и животных (лабораторных грызунах, курах, бабочках и др.), в результате чего выяснилось, что законы эти имеют универсальный характер. В течение немногих лет генетика оформилась как самостоятельная биологическая дисциплина и получила широкое признание.

Главной отличительной чертой второго этапа истории генетики (1912-1925) было создание и утверждение хромосомной теории наследственности. Ведущую роль в этом сыграли экспериментальные работы американского генетика Т.Моргана (1861-1945) и трёх его учеников – А.Стертеванта, К.Бриджеса, Г.Меллера.

Блестящие работы Моргана показали, что наследственные задатки – гены – лежат в хромосомах клеточного ядра и передача наследственных признаков определяется судьбой хромосом при созревании половых клеток при оплодотворении.

Третий этап истории генетики (1925-1940) ознаменован в первую очередь открытием возможности искусственно вызывать мутации. Решающие доказательства возможности экспериментального получения мутаций дали в 1927 г. опыты Г.Меллера (1890-1967) по воздействию на дрозофилу рентгеновских лучей. Вскоре появились сведения о том, что мутации можно вызвать химическими веществами.

Наиболее характерными чертами четвёртого этапа истории генетики (1940-1955) было развитие работ по генетике физиологических и биохимических признаков и вовлечение в круг генетического эксперимента микроорганизмов и вирусов, что повысило разрешающую способность генетического анализа. Изучение биохимических процессов, лежащих в основе формирования наследственных признаков разных организмов привело к важному обобщению, сделанному американскими гене-

тиками Дж. Бидлом и Э.Тэтумом, согласно которому всякий ген определяет синтез в организме одного фермента (эта формула: «один ген – один фермент», впоследствии: «один ген – один белок»).

В 1944 г. американским генетиком О.Эвери с сотрудниками была выявлена природа генетической трансформации у бактерий. Исключительное значение для развития молекулярной биологии и генетики имела расшифровка строения молекулы ДНК Дж.Уотсоном и Ф.Криком. Эта работа сыграла выдающуюся роль во всем последующем развитии молекулярной генетики и молекулярной биологии.

Для последнего современного этапа истории генетики, начавшегося приблизительно в середине 1950-х г., наиболее характерно исследование генетических явлений на молекулярном уровне, благодаря внедрению в генетику новых химических, физических, математических подходов и методов, совершенных приборов и сложных реактивов.

В последнее десятилетие появились принципиально новые методы манипулирования генетическим материалом, положившие начало генетической инженерии, был полностью раскрыт генетический код, удалось выделить отдельные гены и установить их нуклеотидную последовательность, понять тонкое строение генов различных про – и эукариотов, изучить принципы регуляции генной активности. В 1969 г. в США Г.Корана с сотрудниками синтезировали химическим путём вне организма первый простой по своей структуре ген (один из генов дрожжей). На основе открытий молекулярной биологии и генетики и использования рекомбинантной ДНК создаются новые лекарства, вакцины, трансгенные растения и животные. Полностью секвенированы геномы более чем 60 организмов. В 2001 г. завершен проект «Геном человека».

3. Какие основные теоретические и практические проблемы решаются генетикой?

Генетика преследует цели двоякого рода: во-первых, познание закономерностей наследственности и изменчивости и, во-вторых, изыскание путей практического использования этих закономерностей. Оба направления тесно связаны между собой: решение практических задач основывается на заключениях, полученных при изучении теоретических генетических проблем, и в то же время нередко доставляет фактические данные, важные для расширения и углубления теоретических представлений.

Генетикой исследуются четыре основные теоретические проблемы:

1. Проблема хранения генетической информации. Изучается, в каких материальных структурах клетки заключена генетическая информация и каким образом она закодирована.
2. Проблема передачи генетической информации. Изучаются механизмы и закономерности передачи генетической информации от клетки к клетке и от поколения к поколению.
3. Проблема реализации генетической информации. Изучается, как генетическая информация воплощается в конкретных признаках развивающегося организма, взаимодействуя при этом с влиянием окружающей среды (фенотипика).
4. Проблема изменения генетической информации. Изучаются типы и причины изменений, которым подвергается генетическая информация, и механизмы их возникновения.

Все эти проблемы изучаются генетикой на разных уровнях – молекулярном, клеточном, организменном и популяционном. Заключение, полученные при изучении теоретических проблем наследственности и изменчивости, служат основой

для решения стоящих перед генетикой практических задач, главные из которых следующие:

1. Использование достижений генетики для выбора наилучших типов скрещивания.
2. Использование достижений генетики для выбора наиболее эффективных способов отбора.
3. Использование достижений генетики для управления развитием наследственных признаков.
4. Использование достижений генетики в области изучения мутаций.

Глава II

КЛЕТОЧНЫЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

4. Почему клетку называют элементарной единицей жизни?

Материальная и информационная преемственность между поколениями организмов, размножающихся половым путем, осуществляется в процессе оплодотворения, т. е. слияния мужской и женской половых клеток. Следовательно, носителем наследственной информации является клетка – универсальная единица структурно-функциональной организации живой материи. Это положение распространяется и на организмы с бесполом типом размножения. В ходе эволюции на Земле сформировались два типа клеточной организации – эукариотический и прокариотический. У эукариот протоплазматическая масса клетки четко разделена на ядро и цитоплазму вследствие того, что ядерный материал ограничен мембраной. У прокариот ядерный материал не обособлен от цитоплазмы. Вирусы представляют собой неклеточную форму живой материи.

Клетки имеют сложную структуру, многие компоненты которой прямо или косвенно включены в генетические процессы. Основными компонентами клетки являются ядро и цитоплазма. Отдельные внутриклеточные структуры выполняют специальные жизненно важные функции. Между ними существует согласованность в работе и своеобразное «разделение труда» (рис. 1).

В эукариотической клетке содержится ядро и другие клеточные компоненты, окруженные мембраной. Ядро является центром, управляющим жизнедеятельностью всей клетки и координирующим её. Оно имеет сложное строение, изменяющееся на разных фазах жизненного цикла клетки. В неделящейся клетке (интерфаза) ядро занимает ~10-20% её объема. Оно окружено ядерной оболочкой (мембраной), пронизанной пораами,

через которые осуществляется обмен веществ между ядром и цитоплазмой.

Внутри ядра находится хроматин, одно или несколько ядрышек и ядерный сок (кариолимфа, нуклеоплазма).

В ядерном соке в световом микроскопе можно различить сетчатую структуру с глыбками хроматина. По данным электронной микроскопии, эта сеть есть не что иное, как хромосомы, которые становятся хорошо различимыми только во время деления клетки. В ядре находятся одно или несколько ядрышек, где синтезируются рибосомальные РНК (рРНК), а также происходит сборка рибосом.



Рис. 1. Общая структура животной клетки.

В клетках прокариот ядро и окружённые мембранами органеллы отсутствуют. У бактерий молекула ДНК занимает довольно большую часть клетки, называемую нуклеоидом. Нуклеоид является эквивалентом ядра эукариот. Митоз у прокариот отсутствует.

Цитоплазма наряду с ядром является главным компонентом клетки, с ней связан обмен веществ. В цитоплазме эукариотической клетки находятся клеточные органеллы. Сама цитоплазма представляет собой коллоидный раствор цитозоль, окружающий органеллы и пронизанный целой системой микротрубочек, которые образуют цитоскелет.

Цитоплазму разделяют на отдельные отсеки – компартменты – сеть внутриклеточных мембран или эндоплазматический ретикулум (ЭР). Гладкий ЭР служит для синтеза жирных кислот и фосфолипидов, а шероховатый ЭР покрыт рибосомами, участвующими в синтезе белка.

Как животные, так и растительные клетки содержат митохондрии, необходимые для дыхания и метаболизма клеток. В митохондриях образуются богатые энергией молекулы аденозинтрифосфата (АТФ). В клетках большинства растений, водорослей и некоторых простейших имеются хлоропласты, в которых происходит фотосинтез. В митохондриях и хлоропластах существует собственный генетический аппарат.

В клетках также имеется аппарат Гольджи, функцию которого составляют транспорт веществ и химическая модификация поступающих в него клеточных продуктов. В аппарате Гольджи формируются лизосомы, выполняющие функцию внутриклеточного переваривания.

5. Что такое клеточный цикл?

Все живые организмы содержат наследственный материал в виде ДНК, или РНК (как у некоторых вирусов), который организован в гены, а гены – в хромосомы. Существуют очень точные механизмы передачи хромосом от клетки к дочерним клеткам и от одного поколения к другому. Жизненный цикл многих клеток представляет собой постоянное чередование фаз деления и покоя. События, происходящие в период после окончания одного деления до начала другого деления – это клеточный цикл (рис. 2). Период между делениями клеток называется

интерфазой. В интерфазе наблюдается очень важное событие, а именно репликация ДНК.

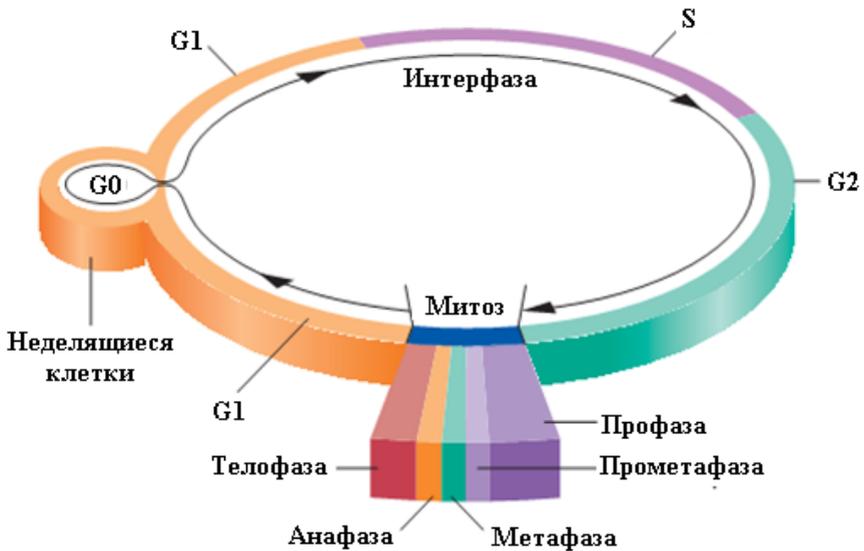


Рис. 2. Схема клеточного цикла. Вслед за митозом (М) клетки вступают в фазу интерфазы, с которой начинается новый цикл. Клетки могут находиться в состоянии покоя (G0) или вступать в фазу G1, переходя затем в S-фазу, когда происходит репликация ДНК хромосом, а затем наступает G2 фаза и новый митоз.

Интерфаза состоит из трех периодов: центрального – фазы синтеза ДНК (S), когда генетический материал удваивается, а также предсинтетического (G₁) и постсинтетического (G₂), после которого клетка вступает в митоз (М). После фазы синтеза ДНК в G₂-периоде и в митозе, вплоть до анафазы, в хромосоме обнаруживаются две нити, называемые сестринскими хроматидами. Основной химический компонент хромосом — молекулы ДНК. Содержание ее в ядрах соматических клеток в два раза больше, чем в ядрах зрелых половых клеток. Эти два типа клеток отличаются друг от друга и по числу хромосом. Число хромосом – n в соматических клетках и количество ДНК – c (от англ. content – содержание) обозначают как диплоидное

($2n$ хромосом, $2c$ ДНК), а в зрелых половых клетках – как гаплоидное (n хромосом, c ДНК). После фазы синтеза ДНК в соматических клетках число хромосом не изменяется ($2n$), однако каждая из них содержит две сестринские хроматиды, т. е. идентичные молекулы ДНК, поэтому содержание ДНК в ядрах G_2 -фазы $4c$.

В интерфазе в ядре не видно хромосом, оно заполнено диффузным хроматином. После завершения фаз G_1 , S и G_2 начинается митоз, представляющий собой универсальный способ размножения клеток у всех живых существ, лежащий в основе наследственной преемственности свойств организма.

6. Что такое кариотип?

Кариотипом называется хромосомный комплекс вида со всеми его особенностями: числом хромосом, их формой, наличием видимых под световым микроскопом деталей строения отдельных хромосом. Иногда термин «кариотип» употребляют по отношению к хромосомному набору единичной клетки или группы тканевых клеток.

Строение хромосомы можно хорошо рассмотреть при делении клетки, во время метафазы. Каждая хромосома имеет центромеру, или первичную перетяжку – место прикрепления нитей веретена. Иногда наблюдаются вторичные перетяжки, не связанные с функциями митотических движений хромосом. Первичная перетяжка делит хромосомы на плечи. Ее положение в середине, близко к середине или почти у концевых участков хромосомы, называемых теломерами, позволяет классифицировать хромосомы на метацентрические, субметацентрические и акроцентрические соответственно. У некоторых хромосом во всех или в большинстве клеток бывают видны спутники – небольшие, как правило, специфические фрагменты тела хромосомы, соединенные с теломерами участком декомпактизованной ДНК – спутничной нитью.

Число хромосом видоспецифично. Ниже приводится диплоидное число хромосом у некоторых животных и растений.

Диплоидное число хромосом у некоторых животных и растений

Животные	Растения
Человек46	Кукуруза20
Шимпанзе48	Рожь14
Крыса42	Рис24
Мышь40	Яблоня.....51, 34
Курица78	Слива48
Кролик44	Хлопчатник52
Собака78	Картофель48
Дрозофила8	Томат24
Окунь28	Скерда зелёная6
Сазан108	Подсолнечник34
Пчела16, 32	Бобы конские12
Речной рак98	Твёрдая пшеница28
Лошадиная аскарида 2,4	Шелковица (<i>Morus nigra</i>).. 308

Хотя закономерности, характеризующие кариотип, иногда и отражают эволюцию определенных видов, в целом, по структуре кариотипа прямо судить о систематическом положении вида нельзя. Вариации числа хромосом (если учесть, что у одного из вариантов лошадиной аскариды $2n=2$) достигают двух порядков, т. е. существуют виды с кариотипом, включающим сотни хромосом.

7. Какие методы используют для идентификации хромосом?

В начале 70-х годов были разработаны методы дифференциальной окраски, которые позволили выявить в каждой хромосоме любого вида специфическое чередование различно окрашенных (темных и светлых) полос. В принципе, гомологичные хромосомы имеют одинаковую картину дифференциальной окрашиваемости. Специфичность поперечной исчерченности хромосом заключается в числе и размерах этих полос. Уже в 1971 г. была принята действующая и в настоящее время унифицированная система идентификации хромосом и хромосомных сегментов человека.

Среди методов выявления полос наиболее распространены С-метод и G-метод. В обоих случаях в качестве красителя используют реактив Гимза, а различия в расположении полос проявляются вследствие особенностей предфиксационной обработки.

В составе хромосом в виде темных полос С-метод позволяет выявить гетерохроматические районы, т.е. те участки, которые в ядрах интерфазных клеток остаются компактными и под микроскопом выглядят как плотно окрашенные глыбки. Темные С-полосы располагаются чаще всего в прицентромерных участках хромосом, что указывает на внутривнутрихромосомное распределение гетерохроматических районов.

Гетерохроматические районы в функциональном отношении слабоактивны. Различают конститутивный (истинный) и факультативный гетерохроматин. Первый имеет специфичную структуру и постоянно находится в идентичных участках гомологичных хромосом: в прицентромерных районах и возле уплотнений на концах плеч – так называемых теломеров, реже в других, характерных для каждой хромосомы местах. Второй появляется лишь в определенные периоды жизни клетки либо содержится в хромосомах клеток некоторых тканей.

Неокрашенные С-методом участки хромосом (светлые полосы) соответствуют эухроматическим районам, составляющим у большинства видов 80-90% всего генетического материала клетки. В отличие от гетерохроматических эухроматические районы декомпактизируются в телофазе митоза.

Маркировка хромосом с помощью G-метода позволяет идентифицировать индивидуальные хромосомы и их фрагменты. Кроме того сам по себе набор темных полос в хромосомах отражает определенные районы. Установлено, что районы, соответствующие G-полосам, обеднены генами, в них повышенное содержание AT и LINE – элементов. ДНК из G-полос является позднореплицирующейся в S – периоде.

8. Как происходит митоз?

Митоз или непрямое деление – основной способ размножения эукариотических клеток, обуславливающий, в частности, возможность увеличения их биомассы, рост и регенерацию. Митоз состоит из четырех фаз.

Первая – профазы. Характеризуется началом цикла компактизации хромосом, который продолжается в течение всей этой фазы. Вследствие этого хромосомы становятся видимыми под микроскопом, причем уже в средней профазе митоза они представляются двойными структурами – сестринскими хроматидами, закрученными одна вокруг другой. К концу профазы исчезают ядрышко и ядерная мембрана.

Вторая – метафаза. Процесс компактизации хромосом продолжается и ведет к еще большему укорочению их длины. Хромосомы выстраиваются по экватору клетки. Хроматиды соединены между собой в центромере, называемой также первичной перетяжкой. Появляются нити митотического веретена, которые присоединяются к центромерам. Каждая центромера испытывает напряжение, поскольку нити веретена тянут ее к противоположным полюсам.

Полюса клетки формируются специальными органеллами – центросомами.

Третья – анафаза. Начинается с разрыва центромеры, в результате чего сестринские хроматиды расходятся к разным полюсам клетки. С этого момента каждая пара сестринских хроматид получает название дочерних хромосом.

Четвертая – телофаза. Хромосомы достигают полюсов клетки, появляются ядерная мембрана, ядрышко. Происходит декомпактизация хромосом и восстановление структуры интерфазного ядра. Заканчивается митоз делением цитоплазмы и в типичных случаях – восстановлением исходной биомассы дочерних клеток.

В результате формируются две дочерние клетки с хромосомным набором идентичным родительскому.

Вслед за кариокинезом (делением ядра) происходит деление цитоплазмы, или цитокинез, когда содержимое клетки делится пополам, и новые клетки покрываются мембраной. Цитоплазматические органеллы также реплицируются или синтезируются заново и распределяются в дочерние клетки поровну.

9. Что такое мейоз?

Термином «мейоз» обозначают два последующих друг за другом деления, в результате которых из диплоидных клеток образуются гаплоидные половые клетки – гаметы. В первом, или редукционном делении мейоза (число хромосом уменьшается вдвое) к полюсам клетки расходятся гомологичные хромосомы в составе тетрады. В результате дочерние клетки содержат диады – по одной хромосоме пары, состоящей из двух соединенных в области центромеры хроматид. Во втором, или эквационном делении мейоза (число центромер не изменяется) каждая хромосома (диада) расщепляется на две хроматиды. Общим мейотическим делениям предшествует только одна фаза синтеза ДНК.

Главные события мейоза разворачиваются в профазе I деления. Она состоит из пяти стадий. В первой стадии – лептотене, следующей непосредственно за окончанием предмейотического синтеза ДНК, выявляются тонкие длинные хромосомы. Они отличаются от хромосом в профазе митоза двумя особенностями: во-первых, в них не обнаруживается двойственность, т. е. не видно сестринских хроматид, во-вторых, лептотенные хромосомы имеют выраженное хромомерное строение. Хромомеры – узелки, участки плотной компактизации ДНК, размеры и расположение которых строго видоспецифично. Хромомеры встречаются как в мейотических, так и в митотических хромосомах, однако в последних без специфической обработки они не видны.

Во второй стадии профазы I деления – зиготене – происходит тесное сближение по всей длине (конъюгация) гомологичных хромосом. Гомологичными называют хромосомы,

имеющие одинаковую форму и размер, но одна из них получена от матери, другая – от отца. Гаплоидный набор равен числу пар гомологов. Конъюгация гомологичных хромосом происходит по принципу действия застежки-молнии. По окончании конъюгации число хромосом как бы уменьшается вдвое. Каждый элемент, состоящий из двух гомологов, называют бивалентом или тетрадой. Последний термин подчеркивает, что бивалент содержит четыре хроматиды, образующиеся в ходе предмейотического синтеза ДНК.

Третья стадия профазы I деления – пахитена. В середине пахитены между хроматидами гомологичных хромосом появляется продольная щель, которая ясно показывает, что бивалент – это, по существу, четверная хромосомная структура. В пахитене происходит важное генетическое событие – кроссинговер, или перекрест хроматид гомологичных хромосом. В результате этого в каждом гомологе смешивается отцовский и материнский наследственный материал.

Результаты кроссинговера становятся заметными лишь в четвертой и пятой стадиях профазы I деления – диплотене и диакинезе. Диплотена начинается с момента расхождения гомологичных хромосом. В это время в точках кроссинговера видны перекрещенные хроматиды. Область перекреста хроматид называют хиазмой. Число хиазм в целом соответствует количеству актов кроссинговера в биваленте и пропорционально длине гомологичных хромосом, его составляющих. Для диплотены и диакинеза характерно прогрессирующее укорочение хромосом в результате компактизации; поэтому хиазмы постепенно терминализуются, т. е. приближаются к концам бивалента и спадают с него. Таким образом, по мере приближения к метафазе первого деления число хиазм уменьшается.

В метафазе I деления мейоза район центромеры каждой хромосомы соединен (в отличие от метафазы митоза) нитью веретена только с одним полюсом клетки, причем центромеры разошедшихся гомологов всегда связаны с противоположными полюсами. Анафазе I деления мейоза не предшествует расщеп-

ление центромеры, как при митозе, и поэтому к полюсам отходят не хроматиды, а целые хромосомы, состоящие из двух хроматид. Однако, поскольку гомологичные хромосомы расходятся к разным полюсам, первое мейотическое деление приводит к редукции числа хромосом. Другими словами, по числу хромосом продукты I деления мейоза становятся гаплоидными. Однако в связи с тем, что хромосомы в них сохраняют двойственность, т. е. содержат две хроматиды, количество ДНК уменьшается лишь до $2c$.

Второе деление мейоза, следующее после краткого промежутка – интеркинеза, приводит в соответствие число хромосом и содержание ДНК. Формально оно напоминает митоз. В начале анафазы происходит разделение центромеры, сестринские хроматиды становятся дочерними хромосомами и расходятся к полюсам. Таким образом, каждая из четырех клеток, образовавшихся вследствие двух мейотических делений одной клетки, прошедшей предмейотическую S-фазу, будет содержать n хромосом и c ДНК.

Итак, главное отличие мейоза от митоза – конъюгация гомологичных хромосом с последующим расхождением их в разные гаметы. Точность расхождения обусловлена точностью конъюгации, а последняя – идентичностью молекулярной структуры ДНК гомологов.

В заключение отметим, что цитологами доказано независимое расхождение негомологичных хромосом в профазе I деления мейоза. Это означает, что любая отцовская хромосома может попасть в гамету с любой, в крайнем варианте – со всеми материнскими негомологичными хромосомами.

10. В чём заключается генетическая сущность митоза и мейоза?

Генетическая непрерывность между клетками и организмами у видов с половым размножением поддерживается благодаря митозу и мейозу. Механизмы этих процессов сходны, однако результаты различны. В результате митоза образуются две

дочерние клетки с одинаковыми наборами хромосом, идентичными родительскому. В результате мейоза каждая дочерняя клетка получает половину хромосом родительской клетки, что является необходимым условием для полового размножения. Строго говоря, митоз – это часть клеточного цикла, когда хромосомы поровну расходятся в дочерние клетки. Мейоз – специальное деление клеток с образованием половых клеток: гамет и спор – важный этап в передаче генетической информации от родителей потомству. Митоз – это эквационное деление клеток. При мейозе первое мейотическое деление является редукционным, второе – эквационным.

Биологическая роль митоза состоит в обеспечении идентичной генетической информацией двух дочерних клеток.

Генетическое значение мейоза можно суммировать следующим образом:

1. Мейоз обеспечивает постоянное число хромосом у разных поколений организмов, размножающихся половым путём.
2. В метафазе каждая отцовская и материнская хромосома имеет равную вероятность оказаться по ту или другую сторону метафазной пластинки, т.е. в каждой гамете могут оказаться как отцовские, так и материнские хромосомы.
3. Кроссинговер между несестринскими хроматидами перемешивает материнские и отцовские наследственные признаки в гаметах. В результате обмена участками между несестринскими хроматидами число различных типов гамет становится практически бесконечно большим (рис. 3).

11. Каковы основные отличия хромосом прокариотов и эукариотов?

У ДНК-содержащих вирусов, бактерий, сине-зелёных водорослей, а также в самореплицирующихся органеллах клеток у эукариотов, т.е. в пластидах, митохондриях хромосома пред-

ставляет собой голую двуспиральную молекулу ДНК. Молекула эта у некоторых форм линейна, но у большинства концы её соединены так, что она образует кольцо, которое закручено в шпильку, и хромосома сверхспирализована.

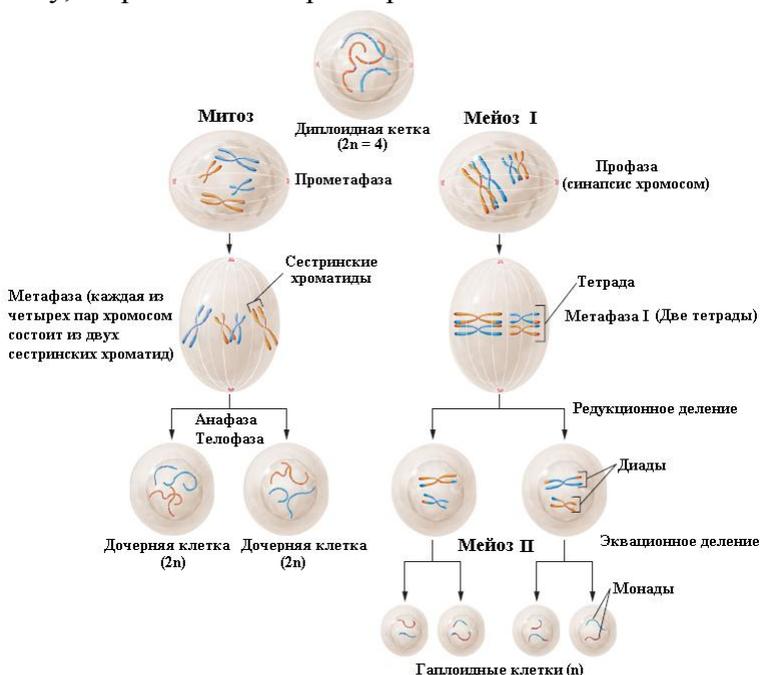


Рис. 3. Общие схемы митоза и мейоза с результатами поведения двух пар гомологичных хромосом.

Репликация этих хромосом – молекул ДНК начинается с определённой точки и прогрессирует, пока не закончится репликация всей хромосомы. Длина молекул ДНК, служащих хромосомами вирусов, прокариотов и клеточных органелл, составляет от 0,4 до 1 мк у мелких вирусов и кинетопластов, 5-100 мк у других вирусов, пластид и митохондрий и достигает 1000-2000 мк у бактерий. У большинства РНК-содержащих вирусов хромосома представлена голый одонитевой молекулой РНК, которая подобно одонитевой ДНК превращается в заражённой клетке в репликативную двунитевую молекулу. Однако извест-

ны и вирусы с двунитевой молекулой РНК. У бактерий геном организован в компактное тело, называемое нуклеоидом.

В отличие от прокариотов в хромосомах эукариотов молекулы ДНК имеют гигантские размеры, длина их может достигать нескольких сантиметров. У эукариотов хромосома состоит из множества репликонов, т.е. в хромосоме есть множество определённых точек, с которых начинается репликация ДНК. Обычно возле каждой такой точки инициации образуются две вилки репликации и синтез новой нити ДНК идёт в обе стороны до концов данного репликона.

В эухроматиновых участках хромосом репликация всех репликонов происходит более или менее одновременно, гетерохроматиновые же участки реплицируются с опозданием. Длина репликона у эукариотов колеблется от 10 до 150 микрон, что соответствует приблизительно 20-300 тысячам пар нуклеотидов. В хромосоме бывает от 200-300 до более 1000 репликонов. В геноме дрозофилы насчитывается, по-видимому, свыше 1000 репликонов, в геноме человека их около 37000.

12. Сколько молекул ДНК заключается в хромосоме?

Существуют три гипотезы о способах упаковки ДНК в хромосомах эукариот. Согласно первой, по всей длине хромосомы тянется одна-единственная непрерывная молекула ДНК (гипотеза однонитчатой, или унитарной, хромосомы). По второй гипотезе, хромосома (хроматида в G_2) состоит из двух (или более) субъединиц – полухроматид, субхроматид, которые могут идти параллельно или быть взаимно закрученными. Каждая субхроматида содержит молекулу (лы) ДНК. Это гипотеза многонитчатой, или полинормной, в простейшем случае – бинормной хромосомы. Некоторые авторы полагают, что ДНК в эукариотических хромосомах периодически прерывается связками иной химической природы, например белковой или фосфолипидной. Однако это предположение не нашло экспериментального подтверждения и в настоящее время в основном оставлено.

Что касается моделей многонитчатой хромосомы, то они основаны преимущественно на данных цитологов, наблюдавших «субхроматиды» в живых клетках или после их специальной фиксации. Однако теперь ясно, что с помощью световой и электронной микроскопии строго обосновать эти модели невозможно.

На сегодняшний день по совокупности фактов предпочтение следует отдать гипотезе «одна ДНК – одна хромосома». В пользу ее свидетельствуют: данные генетики о линейном расположении генов в хромосомах, наличие уникальных нуклеотидных последовательностей в геномах эукариот, распределение ³H-тимидиновой метки в I и II циклах репликации, полностью соответствующее модели Уотсона и Крика.

13. Каким образом организован генетический материал в хромосомах?

В последнее десятилетие выяснено, что эукариотические хромосомы имеют несколько уровней организации, соответствующих уровням компактизации ДНК. От этой организации в значительной мере зависят и другие элементарные генетические процессы. Комплекс ДНК с белками, имеющий специфическую структурную организацию, получил название хроматина. Существенные элементы хроматина – нуклеосомы, дисковидные частицы 10 нм в диаметре. Нуклеосомы образуются в результате взаимодействия четырех классов основных белков – гистонов H2A, H2B, H3 и H4, причем молекулы двух последних гистонов могут *in vitro* формировать тетрамер, к которому присоединяются два димера – H2A и H2B. Участок двойной спирали ДНК образует 2 оборота вокруг так называемой сердцевинки нуклеосомы. Этот участок ДНК, непосредственно связанный с сердцевинкой, имеет постоянную длину, равную 146 п.н. В то же время межнуклеосомные линкеры (связки) варьируют по длине от 15 до 100 п.н. и даже больше. Таким образом, закручивание ДНК вокруг нуклеосомы уменьшает ее длину в семь раз. Еще один тип гистонов – H1 – непосред-

ственно в формировании нуклеосом не участвует. Он прикреплен к линкеру обоими своими концами и стабилизирует связь нуклеосом, образующих спираль более высокого порядка – соленоид, диаметр которого 25-50 нм. Конденсация ДНК в структуре соленоида дополнительно (к нуклеосомному уровню) уменьшает ее длину в шесть раз. В интерфазных хромосомах путем еще одного цикла конденсации соленоиды образуют полые трубочки диаметром 200 нм, что уменьшает длину ДНК еще в 18 раз.

В метафазе вследствие дальнейшей конденсации возникает большая образованная дезокси-нуклеопротеидом спираль диаметром около 600 нм. В результате строго упорядоченной иерархии спиралей, в основе которой лежит нуклеосома, в митозе и мейозе хромосомы эукариот совершают цикл компактизации – декомпактизации. Следствие этого цикла – укорочение метафазных хромосом по сравнению с размерами заключенной в них молекулы ДНК в 10^3 - 10^4 раз. По-видимому, цикл компактизации – декомпактизации регулируется белками хроматина негистонового типа. Возможно, что некоторые из них выполняют и структурную роль, образуя элементы каркаса метафазных хромосом.

14. Что такое эухроматин и гетерохроматин?

Каждая эукариотическая хромосома представляет собой двойную спираль ДНК, тянущуюся вдоль оси хромосомы, поэтому можно было бы предположить, что хромосома является однородной структурой. Однако, в первой половине прошлого столетия обнаружили, что некоторые участки интерфазной хромосомы остаются конденсированными и на препаратах окрашиваются, а большинство участков деконденсированы и не окрашиваются на цитологических препаратах. В 1928 году были введены термины гетерохроматин и эухроматин, обозначающие, соответственно, конденсированные и неконденсированные участки хромосом.

Неконденсированные, неокрашенные участки хромосом соответствуют районам, составляющим у большинства видов 80-90% всего генетического материала клетки.

Гетерохроматиновые районы в функциональном отношении слабоактивны. Различают конститутивный (истинный) и факультативный гетерохроматин. Первый находится в идентичных участках гомологических хромосом, прицентромерных районах и на концах плеч – так называемых теломеров. Второй появляется в определённые периоды жизни клетки.

Репликация гетерохроматина происходит в течение S-фазы клеточного цикла, позже, чем репликация эухроматина. В отдельных случаях, целые хромосомы представлены в виде гетерохроматина. Например, большая часть Y хромосомы млекопитающих инертна, инактивированная X-хромосома у самок млекопитающих также конденсирована в инертный гетерохроматин (тельце Барра). У некоторых организмов, например, у мучного жука-хрущака, один гаплоидный набор хромосом инактивирован и представлен в виде гетерохроматина.

Регулярность расположения гетерохроматиновых (тёмных) и эухроматиновый (светлых) полос и их видоспецифичность дают основание полагать, что они отражают строго определённые черты хромосомной организации.

15. Какие виды активного хроматина существуют?

В беспорядочном сплетении хроматид интерфазного ядра довольно трудно обнаружить активные участки. Однако в некоторых участках удаётся видеть ответвляющиеся от хроматид тонкие нити мРНК. Особенно хорошо различимы активные участки в хромосомах ооцитов земноводных, в политенных хромосомах слюнных желез дрозофилы и других двукрылых насекомых, а также в ядрышковом организаторе. В ооцитах амфибий, рыб, птиц и рептилий хромосомы сильно вытянуты и образуют симметричные петли (хромосомы типа «ламповых щеток»). Как показали электронно-микроскопические исследования петли состоят из деспирализованного участка ДНК.

Вдоль петли расположены молекулы РНК-полимеразы и от каждой из них отходит нить иРНК. В слюнных железах большинство генов репрессировано. Активация гена ведёт к разбуханию соответствующего хромомера. Такие вздувшиеся хромомеры получили название пуффов. Пуфф образован петлями деспирализованных нитей ДНК хромомеров, подобно петлям «ламповых щёток».

Особый вид активного хроматина представлен ядрашками, хорошо видимыми в большинстве интерфазных ядер, ДНК в этом участке хромосом (ядрышковом организаторе) состоит из многократных повторов генов рРНК, число таких повторов может составлять у разных объектов от сотен до тысяч.

В некоторых клетках, в которых происходит интенсивный синтез белка и необходимо большое количество рибосом, происходит амплификация генов рРНК. При репликации генов рРНК часть этих генов выходит из хромосомы в ядерный сок, располагается вблизи ядерной мембраны и продолжает там автономно реплицироваться по способу «катящегося обруча». Затем в сотнях, тысячах или даже миллионах сформированных таким образом добавочных ядрышках происходит транскрипция, и огромное количество молекул рРНК поступает из ядра в цитоплазму и используется при образовании рибосом.

Другой способ компенсаторного увеличения числа генов рРНК, называется магнификацией. Магнификация существенно отличается от амплификации тем, что: 1. происходит не только в ооцитах, но и во всех клетках зародыша; 2. гены рРНК встраиваются в хромосомы и стойко сохраняются в ряду клеточных поколений; 3. магнификации могут подвергаться не только гены, кодирующие рРНК, но и гены, кодирующие белки.

16. Что такое политенные хромосомы, хромосомы типа «ламповых щёток»?

Политенные хромосомы и хромосомы типа «ламповых щёток» представляют собой примеры специфической структур-

но-функциональной организации хромосом. Гигантские поли-тенные хромосомы найдены в различных тканях (слюнных железах, стенке кишечника и мальпигиевых канальцах) личинок некоторых мух и у некоторых видов простейших и растений. Политенные хромосомы достигают гигантских размеров, так как они в 100-150 раз длиннее, чем другие хромосомы той же личинки, гораздо толще и исчерчены характерными поперечными полосами («дисками»), чередующимися в строго определённом для каждой хромосомы порядке. Образуются политенные хромосомы вследствие того, что находящаяся в деспирализованном состоянии хромосома многократно делится, но это не сопровождается расхождением хроматид и делением ядра и все хроматиды остаются вместе. Гигантские хромосомы клеток слюнных желез двукрылых насекомых – это бивалентные интерфазные хромосомы, образованные спаренными гомологами, хроматиды которых сильно деспирализованы. Вдоль хроматид на разных расстояниях друг от друга расположены различного утолщения – хромомеры, в которых нить ДНК сохранилась спирализованной.

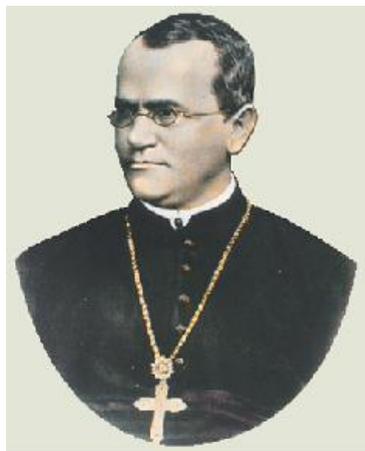
Другой вид гигантских хромосом – это хромосомы типа ламповых щёток. Такое название было дано потому, что внешний вид этих хромосом имеет сходство с щётками, которые в XIX веке использовались для чистки керосиновых ламп. Как показали электронно-микроскопические исследования множество петель, отходящие от хромомеров, состоят из почти деспирализованного участка ДНК, на всём протяжении которого осуществляется транскрипция.

В слюнных железах большинство генов репрессировано. Активация гена ведёт к разбуханию соответствующего хромомера. Такие вздувшиеся хромомеры получили название пuffedов. Установлено, что пuffedы образованы петлями деспирализованных нитей ДНК хромомеров, вполне аналогичных петлям «ламповых щёток» ооцитов земноводных.

Глава III

МЕНДЕЛИЗМ

17. Кто является основоположником генетики?



Грегор Иоганн Мендель
(1822-1884)

Будущий создатель теории, которую называют величайшим открытием биологии, Грегор Мендель, родился в 1822 г. в крестьянской семье в австрийской деревне Хейнцендорф. Он с отличием закончил высшую школу по курсу философии и в 1843 году вступил в августинский монастырь Св.Фомы в городке Брюнне (в настоящем Брно в Чехии). В 1849 г. начал преподавательскую деятельность, а с 1851 по 1853 гг. изучал физику и ботанику в Венском Университете. В 1854 г. Мендель

вернулся в Брно, где в течение 16-ти лет преподавал физику и естественные науки. В 1856 г. Мендель поставил первые опыты по гибридизации с растениями гороха, проследил наследование семи пар хорошо различимых контрастных признаков. В 1865 г. Мендель доложил о результатах скрещиваний между отдельными линиями гороха в докладе «Опыты над растительными гибридами», а в 1866 г. работа Менделя была напечатана в «Записках общества естествоиспытателей в Брюнне». Работа Менделя и по настоящее время служит превосходным образцом генетического исследования. В 1884 г. Грегор Мендель скончался от почечной недостаточности. Вот что писали местные газеты о жизни величайшего учёного, открывшего универсальные законы наследственности: «Смерть лишила обездоленных людей источника милосердия и благодеяний, а всё общество по-

теряло великодушного человека и задушевного друга, покровителя и движителя естественных наук, редкого в личном плане, пастыря».

После смерти Менделя его законы переоткрыли учёные, получившие сходные результаты: Гуго де Фриз в Голландии, Карл Корренс в Германии и Эрих Чермак в Австрии. Они признали приоритет Менделя в открытии законов передачи наследственных признаков.

18. В чем заключается сущность метода Г. Менделя?

История современной генетики начинается с утверждения теории гена в 1900 г., когда Е.Чермак, К.Корренс и Г. де Фриз независимо друг от друга открыли законы наследования отдельных признаков, не предполагая, что эти законы были открыты Г.Менделем.

На протяжении столетий предшественники Менделя (О.Сажрэ, И.Г.Кельрейтер, Т.Э.Найт, Ш.Ноден, Дж. Госс и др.) изучали наследование совокупности всех признаков у гибридного потомства. Г. Мендель положил в основу изучения наследования новые принципы.

Первая особенность метода Менделя состояла в получении в течение нескольких поколений константных форм, которые он в дальнейшем подвергал скрещиванию.

Второй особенностью метода Менделя является анализ наследования отдельных пар признаков в потомстве скрещиваемых растений одного вида гороха, отличающихся по одной, двум и трём парам контрастных, альтернативных признаков, например, цветки пурпурные и белые, форма семян гладкая и морщинистая и т.п. В каждом поколении вёлся учёт отдельно по каждой такой паре альтернативных признаков, без учёта других различий между скрещиваемыми растениями.

Третья особенность этого метода заключалась в использовании количественного учёта гибридных растений, различающихся по отдельным парам альтернативных признаков, в ряду последовательных поколений.

Четвёртой особенностью метода Менделя было применение индивидуального анализа потомства от каждого гибридного растения.

Перечисленные простые приёмы исследования составили принципиально новый гибридологический метод изучения наследования, открывший целую эпоху в изучении наследственности и изменчивости. Совокупность генетических методов изучения наследования называют генетическим анализом.

19. Какие основные законы наследования установил Мендель?

Первым этапом возникновения особи любого вида, размножающегося половым путём, является слияние гамет, в хромосомах которых находятся гены («наследственные зачатки» или «наследственные факторы»), которые по гениальному научному предвидению Менделя, не подозревающего наличие хромосом, обуславливают передачу признаков по наследству. Благодаря математическому складу ума, великий учёный решил так, что задачи со многими неизвестными (множество признаков, присущих любому организму) не имеют однозначного решения. Следовательно, необходимо упростить задачу и решать её с помощью уравнения с одним неизвестным, а далее переходить к более сложным задачам.

В простейших экспериментах по скрещиванию растений Мендель исследовал только одну пару контрастных признаков и назвал такие скрещивания моногибридными. При этом каждый из родителей имеет один из пары контрастных признаков. До начала скрещивания Мендель отобрал растения, отличающиеся по 7 парам контрастных признаков. Каждая пара отличалась от другой по одному контрастирующему признаку: фиолетовые или белые цветы, пазушные или верхушечные цветы, гладкие или с перехватом бобы, высокие или короткие стебли, жёлтая или зелёная окраска бобов, гладкая или морщинистая поверхность семян, серо-коричневая или белая окраска семенных оболочек.

В результате длительного самоопыления внутри каждого из сортов Мендель создал «чистые линии» - группу особей с максимально-однородной наследственностью.

После того как Мендель скрестил формы гороха, различающиеся по 7 признакам, у гибридов проявился, или доминировал, только один из пары родительских признаков. Признак другого родителя (рецессивный) у гибридов первого поколения не проявлялся. Позднее это явление доминирования было названо немецким ученым Карлом Корренсом первым законом Менделя, законом единообразия гибридов первого поколения или законом доминирования.

Родительское поколение в генетике обозначают буквой *P* (от латинского *Parento* — родители), гибридное поколение обозначают буквой *F* (от латинского *Filii* — дети) с цифровым индексом, соответствующим порядковому номеру гибридного поколения. Доминирующий признак Мендель предложил обозначать заглавной буквой, например, *A*, *B*, а рецессивный — той же буквой, но строчной — *a*, *b*.

Для облегчения расчёта сочетаний разных типов гамет английский генетик Р.Пэннет предложил запись в виде решётки — таблицы с числом строк (столбцов) по числу типов гамет, образуемых скрещиваемыми особями (широко известна как решётка Пэннета), на пересечении которых вписывают образующиеся сочетания гамет. Так, в скрещивании *Aa* x *Aa* будут следующие гаметы и их сочетания:

<i>Гаметы</i>	<i>A</i>	<i>a</i>
<i>A</i>	<i>AA</i>	<i>Aa</i>
<i>a</i>	<i>Aa</i>	<i>aa</i>

Скрещивание, выполненное Менделем, можно показать на следующей схеме:



В F_2 можно выделить два типа расщепления: 3:1 по внешнему проявлению и 1:2:1 по наследственным факторам. Для «внешней» характеристики признака В.Иогансен в 1909 г. предложил термин «фенотип», а для характеристики истинно наследственных задатков – «генотип». Поэтому расщепление по генотипу в F_2 моногибридного скрещивания составляет ряд 1:2:1, а по фенотипу – 3:1. Это расщепление позднее было названо вторым законом Менделя или законом расщепления признаков в F_2 .

Константные формы AA и aa , которые в последующих поколениях не дают расщепления, У.Бэтсон в 1902 г. предложил называть гомозиготными, а формы Aa , дающие расщепление, гетерозиготными.

У гибридов F_1 рецессивная аллель a , хотя и не проявляется, но и не смешивается с доминантной аллелью A , а в F_2 обе аллели вновь проявляются в чистом виде. Такое явление можно объяснить, лишь исходя из допущения, что гибрид F_1 Aa образует не гибридные, а «чистые гаметы», при этом указанные аллели оказываются в разных гаметах. Гаметы, несущие аллели A и a , образуются в равном числе; исходя из этого становится понятным расщепление по генотипу 1:2:1. Несмешивание аллелей каждой пары альтернативных признаков в гаметах гибридного организма называется правилом чистоты гамет, в основе которого лежат цитологические механизмы мейоза.

Далее Мендель скрестил полученные гибриды между собой. Всего в данном опыте было получено 7324 семени, из которых

гладких было 5474, а морщинистых – 1850, откуда выводится соотношение 2,96:1. Данные этого опыта свидетельствуют о том, что рецессивный признак не теряется и в следующем поколении он снова проявляется (выщепляется) в чистом виде.

Мендель расширил схему моногибридного скрещивания, анализируя наследование более одной пары альтернативных признаков – полигибридное скрещивание (две пары признаков – дигибридное, три - тригибридное).

Мендель скрещивал формы гороха, различающиеся по двум парам признаков: с желтыми и гладкими семенами (AB) и с зелеными и морщинистыми (ab).

Родительские растения будут иметь генотипы $AABB$ и $aabb$ и образовывать гаметы соответственно. В этом случае генотип гибрида F_1 будет $AaBb$, т.е. является дигетерозиготой. Все гибриды первого поколения будут с жёлтыми гладкими горошинами, из чего следует, что жёлтый цвет семян доминирует над зелёным, а гладкость горошин - над морщинистостью. После опыления гибридов первого поколения получается 9/16 растений с жёлтыми круглыми семенами ($A-B-$), 3/16 с жёлтыми морщинистыми семенами ($A-bb$), 3/16 с зелёными гладкими семенами ($aaB-$) и 1/16 с зелёными морщинистыми семенами ($aabb$). Таким образом, гибриды дают расщепление 9:3:3:1, причём каждый признак в отдельности даёт расщепление 3:1. При дигибридном скрещивании 12/16 растений в F_2 имеют жёлтые горошины, 4/16 – зелёные, т.е. их соотношение составляет 3:1. Кроме того, 12/16 растений имеют гладкие горошины, 4/16 морщинистые, здесь сохраняется то же соотношение 3:1. Очевидно, что пары признаков наследуются независимо. Таким образом, третий закон Менделя или закон независимого наследования признаков гласит так: расщепление по каждой паре признаков идёт независимо от других пар признаков.

Менделю удалось показать, что при независимом распределении аллелей и гамет, наследование по трём парам контрастных признаков также подчиняется указанным выше закономерностям. Наследование трёх признаков, контролируемых ал-

лелями A/a , B/b и C/c выглядит более сложно. В первом поколении от скрещивания особей с генотипами $AABBCC$ и $aabvcc$ получаются гетерозиготы по всем генам $AaBbCc$ с доминантными признаками в фенотипе. Каждый из таких гибридов продуцирует в равном количестве 8 различных типов гамет ABC , abc . Поэтому соответствующая решётка Пеннета содержит 64 клетки, в которых можно записать генотипы и фенотипы всех возможных потомков от скрещивания $F_1 \times F_1$. Общее соотношение фенотипов F_2 при тригибридном скрещивании получается $27/64 ABC$, $9/64 ABc$, $9/64 AbC$, $9/16 aBC$, $3/64 Abc$, $3/64 aBc$, $3/64 abC$, $1/64 abc$.

Опыты Менделя являются доказательством того, что наследственность - явление, подчинённое определённым законам.

20. Что является причиной проявления альтернативных признаков с точки зрения молекулярной генетики?

Причина проявления одного из контрастных признаков, изученных Менделем, морщинистости горошин, стала ясной лишь спустя сотню лет со времени первых экспериментов Менделя по скрещиванию растений гороха. Аллель дикого типа $SBEI$, определяющий форму горошин, кодирует фермент, катализирующий разветвление крахмала, запасающего вещества семян. Растения с морщинистыми семенами гомозиготны по мутантному аллелю этого гена, в результате чего образуется дефектный неактивный фермент и в семенах накапливаются не разветвлённые полимерные молекулы крахмала и в основном, молекулы его предшественника – сахарозы. Во время созревания семян осмотическое давление внутри семян растёт, а количество воды снижается. Поэтому происходит сморщивание горошин. При наличии хотя бы одного нормального аллеля в семенах синтезируются обычные разветвлённые молекулы крахмала и осмотическое давление сбалансировано с содержанием воды в горошинах. В результате поверхность семян гладкая. В последние годы ген $SBEI$ удалось клонировать и секвенировать. Выяснилось, что мутантный аллель этого гена содержит чуже-

родный фрагмент ДНК, длиной 800 п.н., который прерывает кодирующую последовательность гена. По своей структуре этот фрагмент напоминает мобильный элемент, который может перемещаться по геному. Похожие мобильные элементы были найдены у кукурузы, петрушки и львиного зева. Исследование гена *SBE1* показало глубокую связь между генотипом и фенотипом.

21. Существуют ли отклонения от классического менделевского расщепления?

Установленные Г.Менделем закономерности можно наблюдать при следующих условиях: равная вероятность образования гамет всех типов, их одинаковая жизнеспособность, отсутствие избирательности оплодотворения, одинаковая жизнеспособность зигот. Нарушения хотя бы одного из этих условий вызывает закономерные отклонения от ожидаемого расщепления в потомстве гибридов.

Много десятилетий известно, что при скрещивании желтых мышей между собой в потомстве наблюдается необычное расщепление по окраске на желтых и черных в соотношении 2:1. Аналогичное расщепление было обнаружено в скрещиваниях лисиц платиновой окраски между собой, в потомстве от которых появлялись как платиновые, так и серебристо-черные лисицы. Детальный анализ этого явления показал, что лисицы платиновой и мыши желтой окраски всегда гетерозиготны, а гомозиготы по доминантному аллелю этих генов гибнут на эмбриональной стадии, гомозиготы по рецессивному аллелю имеют серебристо-черную и черную окраску, соответственно. Очевидно, что гены обуславливающие платиновую окраску у лисиц и желтую у мышей, одновременно обладают рецессивным летальным эффектом и в случае гомозиготности (AA) приводят к недоразвитию и гибели зародыша.

У овец доминантный аллель, дающий окраску ширази (серый каракуль), летален в гомозиготе, в результате чего ягнята гибнут вскоре после рождения, и расщепление также сме-

щается в сторону 2:1 (ширази – черные). Летальным в гомозиготе является также доминантный аллель, обуславливающий линейное расположение чешуи у карпа. Множество таких мутаций известно у дрозофилы (*N*, *Sb*, *D*, *Cy*, *L* и др.). Во всех случаях получается расщепление 2:1 вместо 3:1. Это отклонение не только не свидетельствует об ошибочности законов Менделя, но дает дополнительные доказательства их справедливости.

22. Что такое анализирующее скрещивание?

Чтобы проверить, является ли данный организм гомозиготным или гетерозиготным, можно, как предложил Мендель, скрестить его с исходной гомозиготой по рецессивным аллелям. Такой тип скрещивания получил название анализирующего.

$$\begin{array}{cc}
 Aa \times aa & AA \times aa \\
 \downarrow & \downarrow \\
 1Aa : 1aa & Aa
 \end{array}$$

Если особь является гомозиготной по доминантному признаку, все потомки принадлежат к одному классу. Если в результате анализирующего скрещивания расщепление и по фенотипу, и по генотипу составляет 1:1, это свидетельствует о гетерозиготности одного из родителей.

При скрещивании дигибрида с формой гомозиготной по двум рецессивным признакам *AaBb* × *aabb* мы получим расщепление в отношении 1:1:1:1. Это объясняется тем, что дигетерозигота *AaBb* образует четыре типа гамет *AB*, *Ab*, *aB*, *ab*, рецессивная форма *aabb* один – *ab* тип. Скрещивая тригибрид с формой гомозиготной по всем трём рецессивным признакам *AaBbCc* × *aabbcc* получим расщепление в отношении 1:1:1:1:1:1:1:1. Таким образом, по характеру расщепления в потомстве можно проанализировать наследственную структуру гибрида по данному гену. Поэтому скрещивание организма с исходной формой гомозиготной по рецессивному гену получило название анализирующего скрещивания. Подобное скрещи-

вание является очень важным приёмом генетического анализа сложных гибридов. С помощью метода анализирующего скрещивания можно проверить гетерозиготность организма по изучаемой паре генов из любого поколения F₁, F₂, F₃, F₄ и т.д., что даёт важную информацию для селекционной практики.

23. Какой тип наследственности называется промежуточным?

Кроме полного доминирования, описанного Менделем, установлено также неполное, или частичное доминирование и кодоминирование. При неполном доминировании гибрид F₁ (Aa) не воспроизводит ни одного из родительских признаков и имеет фенотип, промежуточный между фенотипами гомозигот. При этом соблюдается закон Менделя о единообразии фенотипа в F₁. В F₂ имеет место совпадение по фенотипу и генотипу и расщепление выражается соотношением 1:2:1. Примером неполного доминирования может служить промежуточная розовая окраска цветка у гибридов ночной красавицы *Mirabilis jalapa*, полученных от скрещивания красноцветковой и белоцветковой форм:

P	\overline{AA} x aa
Гаметы	A a
	\ /
F ₁	Aa
	/\
Гаметы F ₁	A a
F ₂	\overline{AA} \overline{Aa} \overline{Aa} aa

\overline{AA} – красная, aa – белая, \overline{Aa} – розовая окраска

Неполное доминирование оказалось широко распространенным явлением и было отмечено при изучении наследования окраски цветка у львиного зева, окраски оперения у андалузских кур, шерсти у крупного рогатого скота и овец и др.

Приведенные выше примеры свидетельствуют о том, что доминирование в одних случаях может быть полным, а в дру-

гих неполным (промежуточное наследование). Однако существует такое взаимодействие генов-кодминирование, при котором у гетерозиготных особей (Aa) проявляются в равной степени оба аллеля. Кодминирование – это явление, когда оба аллеля дают равномерный вклад в формирование генотипа. Типичный пример такого взаимодействия аллелей – наследование антигенных групп крови человека: А, В, АВ и О, детерминированных геном I . Известны три типа аллелей гена I : I^A , I^B , I^O . У человека гетерозиготного $I^A I^B$ эритроциты несут оба антигена: А и В (группа крови АВ, или IV), которые проявляются одинаково.

24. Как установить характер расщепления признаков в F_2 ?

При одновременном учете нескольких признаков, можно идти двумя путями. Первый путь – построение решетки Пеннета. Решетка Пеннета позволяет установить все возможные сочетания мужских и женских гамет при оплодотворении, а также определить фенотипы и генотипы особей F_2 .

Второй путь является чисто математическим, основанным на законе сочетания двух и более независимых явлений. Этот закон гласит: вероятность того, что они произойдут одновременно, равна вероятности каждого из них.

Расщепление в F_2 по фенотипу для каждой пары альтернативных признаков равно 3:1. Это исходное отношение обеспечивается точным цитологическим механизмом расхождения гомологичных хромосом в мейозе.

Принцип независимого поведения разных пар альтернативных признаков в расщеплении по фенотипу в F_2 выражается формулой $(3+1)^n$, где n – степень гетерозиготности. Исходя из приведенной формулы, можно рассчитать число ожидаемых классов, в расщеплении по фенотипу, при любом числе пар признаков, взятых в скрещивание:

моногибридное скрещивание $(3+1)^1=3:1$, т.е. 2 класса,
дигибридное скрещивание $(3+1)^2 = 9:3:3:1$, т. е. 4 класса,

тригибридное скрещивание $(3+1)^3 = 27:9:9:9:3:3:3:1$, т.е. 8 классов, и т. д.

Таким же образом можно рассчитать число типов гамет, образующихся у любого гибрида первого поколения, и число комбинаций гамет, дающих различные генотипы в F_2 . У моногибрида Aa образуются два сорта гамет, или 2^1 ; у дигибрида $AaBb$ – четыре, или 2^2 ; у тригибрида – 2^3 , или восемь сортов гамет и т. д. Следовательно, число различных типов гамет, образуемых гибридом F_1 , также может быть выражено формулой 2^n , где n – число генов, по которым различаются скрещиваемые формы.

Так как при моногибридном скрещивании у гибрида F_1 образуются два сорта женских и мужских гамет, то очевидно, что при этом возможно образование 4 комбинаций в отношении: $1AA:2Aa:1aa$, т. е. 4^1 . При дигибридном скрещивании таких сочетаний будет $4^2=16$, при тригибридном $4^3=64$ и т.д., т.е. число возможных комбинаций гамет выражается формулой 4^n , где основание 4 отражает число возможных комбинаций мужских и женских гамет в моногибридном скрещивании, n – число пар аллелей.

Число генотипических классов в потомстве моногибрида составляет 3, при дигибридном скрещивании в F_2 генотипических классов 3^2 , при тригибридном – 3^3 и т. д.

Итак, число генотипических классов можно определить по формуле 3^n , где n – число гетерозиготных пар аллелей.

25. Для чего используется критерий χ^2 ?

Расщепление потомства в F_2 обычно не совпадает с теоретически ожидаемым, так как в зависимости от размера выборки возможны случайные отклонения. С увеличением размера выборки среднее отклонение уменьшается. Принято считать, что если отклонение встречается чаще, чем одно на 20 ($1/20=0,05$), то наблюдения принимаются условно соответствующими ожидаемому. Если вероятность меньше 0,01, то отклонение высоко достоверно и предполагается, что действует

нечто иное, чем случайность. Возрастание P (вероятность) по отношению к $0,05$ показывает, что отклонения мы должны рассматривать как случайные. Чем больше значения P , тем с большей вероятностью мы говорим о случайности отклонений (чем больше вероятность, тем меньше χ^2). Для оценки достоверности опыта используется метод - χ^2 .

$$\chi^2 = \sum \frac{d^2}{q}$$

где q – ожидаемая величина, d – наблюдаемая величина, Σ – сумма всех вычислений.

Чтобы ответить на вопрос случайно ли отклонение в опыте от ожидаемых результатов, необходимо познакомиться с двумя понятиями: число степеней свободы и уровень значимости P . Число степеней свободы легко определить как число «классов» (n). При моногибридном скрещивании число степеней равно 1, так как, зная объём одного класса, мы можем вычислить другой: $n=2$ класса, $n-1=1$. Для дигибридного скрещивания классов 4, значит $n=4-1=3$ и т.д. Рассмотрим пример. В моногибридном скрещивании получено потомство из 400 особей. Ожидаемое расщепление $3/4 A$ и $1/4 a$, т.е. 300 особей доминантного фенотипа, 100 – рецессивного. В опыте мы наблюдаем 285 особей одного и 115 особей другого фенотипа. Случайно ли отклонение? Отклонение от ожидаемой величины (d) составляет у класса, A и a -15, $d^2=225$. Отсюда $\frac{d^2}{q}$ для A класса составляет 0,75, а для a -2,25. Значение $\chi^2=0,75+2,25=3$. По таблице Фишера (сокращённый вариант) в нашем примере $df=1$ (табл. 1). В строке соответствующей $df=1$ находим значение $\chi^2=3$ и по нему определяем P : $P \approx 0,05$, т. е. меньше, чем значение для $0,05=3,84$. Таким образом, мы можем считать полученное в данном опыте отклонение случайным.

Табл. 1. Значения χ^2 при разных степенях свободы

df	Вероятность P				
	0,99	0,95	0,1	0,05	0,01
1	0,0001	0,039	2,71	3,84	6,63
2	0,101	0,103	4,61	5,99	9,21
3	0,115	0,352	6,25	7,81	11,34

26. В чем различия понятий «наследственность» и «наследование»?

Наследственность и наследование есть два разных явления, которые не всегда различают. Наследование – процесс передачи задатков наследственно детерминированных признаков и свойств организма в процессе размножения от родителей потомкам. Под наследственностью следует понимать свойство структур клетки и организма обеспечивать материальную и функциональную преемственность между поколениями. В основе того и другого лежит точная репродукция наследственно значимых структур и закономерное распределение их при делении клеток.

Закономерности единообразия гибридов первого поколения, расщепления и независимого комбинирования признаков, открытые Менделем, а также явление сцепления и наследование признаков, сцепленных с полом, открытые Морганом, относятся к закономерностям наследования, а не наследственности.

Успех Менделя в их открытии обусловлен разработкой им метода генетического анализа отдельных пар признаков; Мендель, по существу, создал научные основы генетики, открыв следующие явления:

1. Каждый признак определяется отдельным наследственным фактором, передающимся через половые клетки; в современном представлении эти задатки соответствуют генам.

2. Гены сохраняются в чистом виде в ряду поколений, не утрачивая своей индивидуальности и не изменяясь, т.е. ген относительно постоянен.

3. Наследственные задатки являются парными: один – материнский, другой – отцовский; один из них может быть доминантным, другой – рецессивным; это положение соответствует открытию принципа аллелизма, согласно которому ген представлен всегда минимум двумя аллелями.

4. Оба пола в равной мере участвуют в передаче своих наследственных свойств потомству.

5. Число генов уменьшается в половых клетках вдвое; это положение явилось генетическим предвидением существования мейоза.

На основании изложенного нам представляется полезным различать законы, непосредственно сформулированные Менделем и относящиеся к процессу наследования, и принципы наследственности, вытекающие из работы Менделя.

К законам наследования относятся закон единообразия гибридов первого поколения, расщепления наследственных признаков в потомстве гибрида и закон независимого комбинирования наследственных признаков. Эти законы отражают процесс передачи наследственной информации в поколениях при половом размножении.

Принципы наследственности имеют другое содержание и могут быть сформулированы в следующем виде:

1. Дискретная (генная) наследственная детерминация признаков.
2. Относительное постоянство наследственной единицы – гена.
3. Аллельное состояние гена (доминантность и рецессивность).

Менделевские законы наследования и вытекающие из них принципы наследственности являются основным содержанием генетики. Их открытие дало современному естествознанию единицу измерения жизненных процессов — ген и тем самым создало возможности объединения естественных наук — биологии, физики, химии и математики с целью анализа биологических процессов.

Глава IV

НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИ НЕАЛЛЕЛЬНОМ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ГЕНОВ

27. Что такое комлементарность и новообразование?

Если несколько генов определяют одно свойство организма (окраску цветка, длину шерсти и др.), то они взаимодействуют друг с другом. При этом в потомстве дигетерозиготы может наблюдаться необычное расщепление – 9:3:4; 9:7; 9:6:1, 13:3; 12:3:1; 15:1. Генетический анализ показывает, что необычные расщепления по фенотипу в F_2 представляют видоизменение общей менделевской формулы 9:3:3:1. Известны случаи взаимодействия трех и большего числа генов.

Различают следующие основные типы взаимодействия неаллельных генов: комлементарность, эпистаз, полимерию, плейотропию.

К комлементарным относятся такие гены, которые при совместном действии в генотипе в гомозиготном или гетерозиготном состоянии ($A-B-$) обуславливают развитие нового признака. Действие же каждого гена в отдельности ($A-bb$ и $aaB-$) воспроизводит признак лишь одного из скрещиваемых родителей. Впервые такого рода взаимодействие было обнаружено у душистого горошка *Lathyrus odoratus*. При скрещивании двух рас этого растения с белыми цветками у гибрида F_1 цветки оказались пурпурными. При самоопылении растений F_1 в F_2 наблюдалось расщепление по окраске цветков в отношении 9:7. один фенотипический класс (9/16) имел такую же окраску, как и растения F_1 , а второй (7/16) – белую окраску.

P	<i>AAbb</i>	х	<i>aaBB</i>
	белый		белый
F ₁	<i>AaBb</i>		
	пурпурный		
F ₂	<i>A-B-</i>		<i>A-bb, aaB-</i> и <i>aabb</i>
	пурпурные		белые
	9/16		7/16

Явление новообразования по своей генетической сущности сходно с комплементарностью и аналогично менделевскому дигибридному расщеплению 9:3:3:1.

Один из первых примеров взаимодействия генов был обнаружен в начале XX в. при анализе наследования формы гребня у кур. Описано четыре разновидности форм гребней, при этом разные породы имеют характерную морфологию гребня: леггорны – листовидный, виандоты – розовидный, европейские – гороховидный, малайские – ореховидный.

При скрещивании кур, имеющих розовидный гребень с петухами с гороховидным гребнем (оба доминируют над листовидным) в F₁ у птиц появляется ореховидный гребень. При скрещивании таких птиц между собой во втором поколении по форме гребня наблюдается следующее расщепление: 9/16 *A-B-* ореховидный, 3/16 *A-bb* розовидный, 3/16 *aaB-* гороховидный, 1/16 *aabb* листовидный.

У попугайчиков (*Melopsittacus undulatus*) встречаются голубая и жёлтая окраски оперения. Обе они рецессивны по отношению к зелёной окраске и доминантны – к белой. При скрещивании голубых птиц с жёлтыми гибриды F₁ оказываются зелёными, а в F₂ наблюдается расщепление на 4 фенотипических класса в отношении 9 зелёных : 3 голубых : 3 жёлтых : 1 белый.

Генетический анализ свидетельствует о том, что в этом скрещивании участвуют не одна, а две пары аллелей. Мы можем сделать вывод, что ген *A* определяет голубую окраску оперения, *B* – желтую, а вместе (*A-B-*) они дают новое качество – зеленую окраску. Рecessивные аллели обоих генов определяют

белое оперение. Тогда генотип голубых попугайчиков должен быть $AAbb$, желтых – $aaBB$, зеленых гибридов F_1 – $AaBb$ и выщепляющихся в F_2 белых – $aabb$.

28. Что такое эпистаз?

При доминировании действие одной аллели подавляется другой аллелью этого же гена: $A>a$, $B>b$ и т.д. Но существует взаимодействие, при котором один ген подавляет действие другого, например $A>B$ или $B>A$, $a>B$ или $b>A$ и т.д. Такое явление называют эпистазом. Гены, подавляющие действие других генов, называют супрессорами или ингибиторами. Они могут быть как доминантными, так и рецессивными. Гены-супрессоры известны у животных, растений и микроорганизмов. Обычно они обозначаются I или S .

Эпистаз принято делить на два типа: доминантный и рецессивный. Под доминантным эпистазом понимают подавление одним доминантным геном действия другого гена.

Расщепление 13:3. У лука (*Allium cepa*) гибриды от скрещивания двух форм с неокрашенной луковицей имеют луковицы также неокрашенные, а в F_2 получается расщепление: 13 растений с неокрашенными луковицами и 3 с окрашенными. Характер расщепления свидетельствует о том, что окраска луковицы определяется двумя генами. В таком случае одно из исходных растений должно нести в скрытом состоянии ген окрашенности луковицы, действие которого подавлено ингибитором. Следовательно, у растений этого генотипа неокрашенность луковицы определяется не особым геном неокрашенности, а геном – подавителем окраски.

Обозначим аллель окрашенности луковицы A , неокрашенности – a , ингибитор окраски – I , аллель не подавляющую окраску – i . Тогда исходные формы будут иметь генотипы $IIAA$ и $ii aa$, гибриды F_1 – $IiAa$. Они, как и родительские растения, являются неокрашенными. В F_2 на 13/16 неокрашенных получилось 3/16 окрашенных луковок. Это расщепление можно представить как $9(I-A-) + 3(I-aa) + 1(iaa) = 13$ не-

окрашенных и 3 *iiA*- окрашенных. Таким образом, подавление действия доминантного гена окрашенности луковицы доминантной же аллелью другого гена (ингибитора) обуславливает расщепление по фенотипу 13:3.

Расщепление 12:3:1. Доминантный эпистаз может давать и другое расщепление в F₂ по фенотипу, а именно 12:3:1 [(9+3):3:1]. В этом случае, в отличие от предыдущего, форма, гомозиготная по обоим рецессивным генам имеет специфический фенотип.

Расщепление по фенотипу в случае эпистаза 13:3 отличается от 12:3:1 потому, что в первом случае доминантный ингибитор (*I*) и рецессивная аллель основного гена (*a*) имеют одинаковый фенотипический эффект, а во втором случае эти эффекты различны. Таким образом, гены-подавители обычно не определяют сами какой-либо качественной реакции в развитии данного признака, а лишь подавляют действие других генов.

Под рецессивным эпистазом понимают такой тип взаимодействия, когда рецессивная аллель одного гена, будучи в гомозиготном состоянии, не дает возможности проявиться доминантной или рецессивной аллели другого гена: *aa>B-* или *aa>bb*.

Кроме описанных случаев одинарного рецессивного эпистаза, существуют и такие, когда рецессивная аллель каждого гена в гомозиготном состоянии одновременно реципрокно подавляет действие доминантной аллели комплементарного гена, т. е. *aa* эпистатирует над *B-*, *bb* над *A-*. Такое взаимодействие двух рецессивных подавителей – двойной рецессивный эпистаз, дает в дигибридном скрещивании расщепление по фенотипу 9:7, как и в случае комплементарного взаимодействия генов.

29. Что такое полимерия?

Ряд признаков и свойств организмов может определяться однозначными факторами, действие которых суммируется (кумулятивный эффект). Множественные гены с однозначным

действием (полигены) могут наследственно определять количественные и качественные (альтернативные) признаки. Такое неаллельное взаимодействие называется полимерией.

При скрещивании рас пшениц с красными и белыми (неокрашенными) зернами шведский генетик Г.Нильсон-Эле в 1908 г. обнаружил в F_2 обычное моногибридное расщепление в отношении 3:1.

Однако при скрещивании некоторых других линий пшениц, различающихся по таким же признакам, в F_2 наблюдается расщепление в отношении 15/16 окрашенных и 1/16 белых. Окраска зерен из первой группы варьирует от темно- до светло-красной. Интенсивность окраски зерен зависит от числа доминантных генов в генотипе.

Следовательно, исходные родительские формы, давшие расщепление в F_2 15:1, имели генотипы $A_1A_1A_2A_2$ и $a_1a_1a_2a_2$. Гибрид F_1 обладал генотипом $A_1a_1A_2a_2$, а в F_2 появились зерна с разным числом доминантных генов. Наличие всех четырех доминантных аллелей $A_1A_1A_2A_2$ у 1/16 растений определяет самую интенсивную окраску зерна; 4/16 всех зерен имели три доминантные аллели (типа $A_1A_1A_2a_2$), 6/16 – две ($A_1a_1A_2a_2$), 4/16 – одну (типа $A_1a_1a_2a_2$). Все эти генотипы определяли различную промежуточную окраску, переходную между интенсивно-красной и белой. Гомозиготной по обоим рецессивным генам ($a_1a_1a_2a_2$) являлась 1/16 всех зерен, и эти зерна оказались неокрашенными.

Частоты пяти перечисленных генотипических классов F_2 распределяются в ряду: $1+4+6+4+1=16$, который отображает изменчивость признака окраски зерна пшеницы в зависимости от числа доминантных аллелей в генотипе.

Некумулятивная полимерия. Гены с однозначным действием могут определять и качественные, т.е. альтернативные признаки. Примером может служить наследование оперенности ног у кур. От скрещивания пород, имеющих оперенные и неоперенные ноги, в F_1 появляются цыплята с оперенными ногами. Во втором поколении происходит расщепление по фено-

типу в отношении 15/16 с оперенными ногами и 1/16 с неоперенными, т.е. наблюдаются два фенотипических класса. Генотипы A_1A_2 -(9/16), $A_1-a_2a_2$ -(3/16) и $a_1a_1A_2$ -(3/16) соответствуют фенотипу с оперенными ногами, а генотип $a_1a_1a_2a_2$ (1/16) – с неоперенными. Достаточно одной доминантной аллели любого из двух генов, чтобы вызвать развитие признака. Поэтому такой тип взаимодействия генов был назван некумулятивной полимерией.

30. Может ли один ген влиять одновременно на несколько признаков организма?

Наряду с явлением взаимодействия генов, свидетельствующим о влиянии на одно какое-либо свойство двух и более пар генов, существует и множественное (плейотропное) действие генов. В этом случае один ген определяет развитие одновременно не одного, а нескольких признаков, т.е. он имеет плейотропный эффект. Так у дрозофилы фактор, обуславливающий белую окраску глаз, снижает плодовитость, уменьшает продолжительность в жизни и т.д. У человека синдром Марфана, обусловленный одним геном, характеризуется длинным и худым телом, смещением хрусталика глаза, врожденным пороком сердца.

Рассмотрим другие примеры множественного действия гена. У человека встречается рецессивная наследственная болезнь – серповидно-клеточная анемия. Первичный дефект в этом случае – замена одной из аминокислот в молекуле гемоглобина. Следствием этого, казалось бы незначительного изменения являются глубокие нарушения в сердечно-сосудистой, нервной, пищеварительной, выделительной системах. В результате человек гомозиготный по этому заболеванию, погибает в детстве. Вместе с тем лица гетерозиготные по мутантной аллели Hb^S , отличаются устойчивостью к малярии.

Примером плейотропного действия у человека служит рецессивный ген, определяющий фенилкетонурию – болезнь, приводящую к серьезным умственным нарушениям. Люди ге-

терозиготные по этому гену отличаются по уровню содержания фенилаланина в крови, по коэффициенту умственного развития (IQ), размеру головы, цвету волос. У дрозофилы, у мух с зачаточными крыльями изменяются жужжальца, репродуктивные органы, продолжительность жизни, репродуктивность.

Таким образом, на основе изучения взаимодействия и множественного действия генов был сделан вывод, что любой наследственный признак определяется многими генами, точнее, всем генотипом и что каждый ген может действовать на развитие многих признаков или, точнее, на всю систему развивающегося организма. Следовательно, генотип является не суммой, а сложной системой взаимодействующих генов.

Любой организм представляет сложную систему, в которой различные процессы находятся во взаимодействии, и даже нарушение одного из них может привести к изменению многих признаков. Причем один и тот же ген может оказывать различное действие на проявление разных признаков: усиливать (гены - модификаторы) или ослаблять (гены - ингибиторы) действие основного гена, отвечающего за данный признак.

31. Что такое гены-модификаторы?

Наряду с «основными генами», определяющими проявление того или иного признака, существует ряд генов-модификаторов этого признака. Подобный тип наследования встречается часто. На степень проявления фенотипа оказывают также действие не только генные взаимодействия, но и факторы среды, в которой развивается организм. Известно, что у примулы окраска цветка розовая (*P*) и белая (*p*) наследуется по моногибридной схеме, если растения развиваются в интервале температур 15-25°C. Если же растения F_2 вырастить при температуре 30-35°C, все цветки у них оказываются белыми. Способность гена проявляться в фенотипе называют пенетрантностью. Степень выражения влияния гена на фенотип называется экспрессивностью.

В настоящее время открыты несколько десятков генов, мутации которых могут приводить к усилению или ослаблению признака (генетической инактивации).

После клонирования ДНК многих известных на сегодня генов-модификаторов, получение антител на кодируемые ими белки, определение локализации этих антител в клетках выяснилось, что многие модификаторы кодируют белки, входящие в состав хромосом. Некоторые гены-модификаторы кодируют структурные белки хроматина, другие – белки, которые могут играть опосредственную роль в регулировании процесса формирования хроматина. В результате изучения энхансеров (усилителей) и супрессоров (ослабителей) выяснилось, что один и тот же ген может быть и энхансером, и супрессором. Всё зависит от дозы гена. Например, в двух дозах белки, осуществляющие компактизацию и декомпактизацию хромосом, сохраняют нормальную функцию. Уменьшение дозы молекул белков-компактизаторов до одной приводит к ослаблению компактизации участка хромосомы и усилению активности гена. В трёх дозах белковые молекулы будут сильнее компактизировать хроматин.

Глава V

ГЕНЕТИКА ПОЛА. НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКОВ, СЦЕПЛЕННЫХ С ПОЛОМ

32. Какие существуют типы определение пола?

Наиболее древняя форма полового размножения – обоеполость, когда особь способна производить и женские, и мужские гаметы. С возникновением раздельнополости эта способность утрачивается. Однако любая особь остаётся потенциально двуполой, т.е. сохраняет тенденцию к развитию в мужскую и женскую сторону. У немногих организмов преобладание женской или мужской тенденции развития обуславливается внешними причинами. Это так называемое эпигамное (т.е. происходит после оплодотворения) определение пола. Пример – морской червь бонеллия. У бонеллии очень мелкие самцы обитают в матке крупных самок. Если личинка прикрепляется ко дну, она развивается в самку. Если попадает на хоботок самки под влиянием выделяемых хоботком веществ превращается в самца, мигрирующего в половые органы самки. У растений японской ариземы экземпляры, выросшие из крупных клубней, образуют женские цветки, из щуплых клубней – мужские.

У немногих организмов встречается прогамное (происходящее до оплодотворения) определение пола (червей, кольчатых червей). Пол зависит от того, что самки производят яйца двух сортов – крупные, богатые цитоплазмой, из которых развиваются самки, мелкие – самцы.

У большинства раздельнополых вопрос о том, получится из зиготы женская или мужская особь, решается в момент оплодотворения. При таком сингамном определении пола преобладание мужской или женской тенденции развития обеспечивается генотипом зиготы и не зависит от внешних условий.

33. Почему рождается одинаковое число особей мужского и женского пола?

Мендель отметил, что пол наследуется как любой признак при моногибридном анализирующем скрещивании между гетерозиготным (Aa) и гомозиготным рецессивным (aa) родителями.

Каждому виду животных и двудомных растений свойственно примерно равное количество особей мужского и женского пола, т. е. соотношение полов, близкое к расщеплению 1:1.

Это соотношение совпадает с расщеплением в анализирующем скрещивании, когда одна из скрещивающихся форм является гомозиготной по рецессивной аллели (aa), а другая – гетерозиготной (Aa). В потомстве в этом случае наблюдается расщепление в отношении 1 Aa :1 aa . Если пол наследуется по такому же принципу, то следует предположить, что один пол, например женский, должен быть гомозиготным, а мужской гетерозиготным, или наоборот. Тогда расщепление по полу должно быть в каждом поколении равным 1:1, что и имеет место в действительности у раздельнополых организмов.

Действительно, особей мужского и женского пола рождается примерно поровну. Так, например, у лошадей процент самцов при рождении составляет 52, у людей – 51%, у мышей и голубей – 50, у кур – 49%. Примерно такие же соотношения существуют между полами у растений и насекомых.

34. Какую роль выполняет хромосомный аппарат в определении пола?

Хромосомы, по которым различаются особи мужского и женского полов, получили название половых хромосом. Те из них, которые являются парными у одного из полов, называют X-хромосомами. Непарная половая хромосома, имеющаяся только у особей одного пола и отсутствующая у другого, была названа Y-хромосомой. Хромосомы, по которым мужской и женский пол не различаются, называют аутосомами. При оплодотворении яйцеклетки, имеющей X-хромосому, сперматозои-

дом с X-хромосомой, получается женская зигота, сперматозоидом с Y-хромосомой – мужская зигота.

Выделяют три основных типа хромосомного определения пола, названных по тем видам животных, у которых данный тип был впервые описан.

Первый тип определения пола был открыт у клопа *Ligeus*. К этому типу относятся млекопитающие, в том числе человек, двукрылые насекомые, некоторые рыбы и др.

У дрозофилы особи обоих полов имеют по 6 одинаковых аутосом плюс половые хромосомы XX у самок и XY у самцов. Поскольку у самок X-хромосомы парные, в результате мейоза у них образуются одинаковые яйцеклетки, каждая с одной X-хромосомой. Пол, производящий одинаковые гаметы в отношении половых хромосом, называют гомогаметным. У самца образуются сперматозоиды двух сортов – с X- или Y-хромосомой, причем в равных количествах, в соответствии с механизмом мейоза.

У человека также гомогаметным является женский пол (XX), а гетерогаметным мужской (XY)

Второй тип определения пола был открыт у клопа *Protenor*. При проверке числа хромосом в клетках мужских и женских особей оказалось, что самцы содержат по 21, а самки по 22 хромосомы. Поэтому все яйцеклетки имеют одинаковое (11), а сперматозоиды различное (10, 11) число хромосом. При слиянии мужской гаметы с 11 хромосомами и яйцеклетки (11) образуется зигота женского пола, а при слиянии сперматозоида с 10 хромосомами и яйцеклетки (11) – зигота мужского пола. Тип *Protenor* обнаруживается у большинства насекомых и части червей. У типа *Protenor*, так же как у *Ligeus*, гомогаметен женский пол.

Гетерогаметность не всегда присуща именно мужскому полу. Например, у птиц, некоторых рыб и бабочек гетерогаметным полом является женский, а гомогаметным – мужской. Яйцеклетки у этих животных двух типов – с Z и W хромосома-

ми, а сперматозоиды несут только Z-хромосому (тип ZZ-ZW у кур).

Определение пола у пчёл, ос и муравьёв происходит также с помощью хромосомного аппарата, в котором отсутствует специальная пара половых хромосом. Если яйцеклетки развиваются без оплодотворения, превращаются в самцов, оплодотворённые яйцеклетки превращаются в самок. Оплодотворением яйцеклеток управляет самка, которая хранит в специальных хранилищах большое количество сперматозоидов, полученных от трутня. Это выгодно таким насекомым как медоносные пчёлы, для сообщества которых достаточно 1 матки, несколько сот трутней и тысячи рабочих пчёл. Рабочие пчёлы, подобно матке развиваются из оплодотворённых яйцеклеток, но остаются недоразвитыми, что определяется кормом, на котором они выращиваются.

Следует отметить, что гаплоидность у трутней почти всегда сохраняется в клетках зародышего пути, тогда как в соматических клетках восстанавливается диплоидность, что приводит к гомозиготности тканевых клеток. Рецессивные гены проявляют свой отрицательный эффект еще на ранних этапах развития трутня, понижая его жизнеспособность или вызывая летальное действие. Таким образом, за счет гаплодиплоидии популяция пчел очищается от действия вредных генов.

Прямые доказательства того, что именно механизм гетерогаметности и гомогаметности имеет непосредственное отношение к определению пола и расщеплению по полу, были получены при изучении закономерностей наследования сцепленных с полом признаков и особенностей наследования последних при различных типах нарушения расхождения хромосом в мейозе.

35. Что такое половой хроматин?

Во многих интерфазных клеточных ядрах млекопитающих, в том числе человека, присутствуют небольшие дисконидные тельца, легко окрашивающиеся основными красителя-

ми. Эти тельца имеются в большинстве (60-70%) клеточных ядер у особей женского пола, у мужского пола их нет или имеются в небольшом количестве (5-10%). Вследствие различной встречаемости этого образования у различных полов получило название полового хроматина или тельца Барра.

Впервые тельце Барра было обнаружено в ядрах соматических клеток нормальной самки (кошки) в конце 40-х гг. прошлого века М.Барром. Благодаря этому открытию и при изучении половых аномалий возникли современные представления о механизме определения пола у человека и других млекопитающих.

Установлено, что наличие и число полового хроматина зависит от числа X-хромосом. Как правило, половой хроматин отсутствует при наличии одной X-хромосомы, у мужчин – XY, у женщин XO (синдром Шерешевского-Тернера). Один половой хроматин имеется у нормальной женщины – XX и у мужчин XXY. У женщин трисомиков – XXX – два половых хроматина. Половой хроматин – черта женского пола. Определение полового хроматина используется как тест при определении наследственных болезней и ранней диагностики пола.

В клетке активна только одна X-хромосома из двух. Поэтому в клетках нормальной женщины имеется тельце Барра, а у мужчины его нет.

36. Что такое балансовая теория определения пола?

В природе и эксперименте встречаются факты, свидетельствующие о том, что роль половых хромосом не абсолютна; их функция может быть нарушена в зависимости от общего генного баланса.

Иногда среди раздельнополых животных появляются особи, имеющие признаки того или другого пола, это так называемые интерсексы, или особи с усиленным развитием половых признаков – сверхсамки и сверхсамцы, являющиеся бесплодными. Цитологический анализ у дрозофилы показал, что появление таких необычных особей у дрозофилы характерно

при необычном соотношении половых хромосом (X) и аутосом (A). Оказалось, что при отношении числа X-хромосом к числу наборов аутосом (X/A) равном 1, развиваются самки. Если X/A равно 0,5, то образуются самцы независимо от присутствия Y-хромосомы. Когда же отношение X/A промежуточное между 0,5 и 1, насекомые приобретают черты интерсексуальности. Эта концепция получила название балансовой теории определения пола. Фенотипическое определение пола у дрозофилы зависит от того, какая из двух потенций в общем балансе окажется сильнее. Увеличение числа X-хромосом, в которых локализованы гены женского пола, определяет усиленное развитие признаков самки, а увеличение числа аутосом - усиленное развитие самцов. При сочетании $3X:2A$ (1,5) появляется сверхсамка, при $2X:3A$ (0,67) - интерсекс, при $1X:3A$ (0,33) – сверхсамец. У человека X-хромосома направляет развитие организма в женскую сторону, а Y-хромосома в мужскую. При соотношении X/Y равным 1 развивается нормальный мужчина, $2X$ – нормальная женщина. Согласно балансовой теории определения пола особи определяется балансом генов, детерминирующих мужской и женский пол и локализованных в любых хромосомах генома. В настоящее время у человека описано 6 генов (3 в X-хромосоме и 3 в Y-хромосоме), взаимодействие которых определяет пол особи. При отсутствии Y-хромосом и любом числе X-хромосом особь определяется как женская. Балансовая теория определения пола показывает генетически обусловленную потенциальную бисексуальность всех раздельнополых организмов и их гамет.

37. Какие признаки называются сцепленными с полом?

Для менделевских закономерностей не имеет значения, каким полом привносятся доминантные или рецессивные аллели. Это правильно для всех случаев, когда гены находятся в аутосомах, одинаково представленных у особей обоих полов. В том случае, когда гены находятся в половых хромосомах, характер наследования обусловлен поведением этих хромосом в

мейозе и их сочетанием при оплодотворении. Наследование признаков, гены которых находятся в половых хромосомах, называется наследованием, сцепленным с полом.

Явление наследования признаков сцепленных с полом впервые было открыто Т.Морганом на дрозофиле. Анализ наследования таких признаков выявил некоторые особенности: 1) результаты прямых и реципрокных скрещиваний различаются; 2) наблюдается наследование крест-накрест, т.е. признак от матери наследуется сыновьями, от отца – дочерьми. Свою единственную X – хромосому сыновья получают от матери.

Генетическими исследованиями установлено, что у дрозофилы Y-хромосома в отличие от X-хромосомы, за некоторым исключением, не содержит генов, т. е. наследственно инертна. Поэтому гены, находящиеся в X-хромосоме, как правило, не имеют аллелей в Y-хромосоме. В силу этого рецессивные гены в X-хромосоме гетерогаметного пола могут проявляться, будучи в единственном числе.

38. Каковы особенности наследования признаков сцепленных с полом при гетерогаметности мужского или женского пола?

У дрозофилы известно около двухсот признаков, которые наследуются сцепленно с полом. В качестве примера рассмотрим наследование окраски глаз. У мух дикого типа красные глаза (w^+), белые глаза (w) определяются рецессивным, мутантным геном, локализованным в X-хромосоме. Если самка является гомозиготной по доминантной аллели красной окраски глаз, находящейся в X-хромосоме, то эта аллель вместе с половой хромосомой передается сыновьям F_1 , и поэтому они оказываются красноглазыми. Дочери F_1 получают одну X-хромосому с рецессивной аллелью белой окраски глаз от отца, а вторую X-хромосому с доминантной аллелью красного цвета глаз от матери. В силу доминирования красной окраски они оказываются также красноглазыми.

В обратном скрещивании дочери получают от отца X-хромосому, несущую доминантную аллель красной окраски глаз, а другую X-хромосому с рецессивной аллелью белого цвета глаз от матери, поэтому они оказываются красноглазыми. Так как сыновья получают свою единственную X-хромосому с аллелью белых глаз от матери, а Y-хромосому, которая не содержит доминантной аллели красной окраски, от отца, то рецессивная аллель белых глаз у самца, находясь в одной дозе, проявляется. Такое состояние гена принято называть гемизиготным, а организм подобного генотипа – гемизиготой.

У человека также известны случаи наследования признаков, сцепленных с полом. К ним относятся, в частности, дальтонизм (цветовая слепота) и гемофилия (несвертываемость крови), определяемые рецессивными генами. Так как у человека мужской пол гетерогаметен, подобные признаки чаще проявляются у мужчин, а передатчиками таких заболеваний служат здоровые женщины, которые несут эти гены в гетерозиготном состоянии.

При гетерогаметности женского пола все гены X-хромосомы будут находиться в гемизиготном состоянии у самок, а не у самцов. У кур наследуется сцепленно с полом полосатое оперение, которое определяется доминантным геном В. Если скрещивать полосатых кур (XY) с петухом (XX) рецессивной черной окраски, то петушки F₁, получившие доминантный ген полосатости с X-хромосомой от матери, будут иметь полосатую окраску. Курочки, получившие рецессивную аллель от отца, оказываются черными. Обратное скрещивание курицы, имеющей черную окраску, с петухом, гомозиготным по доминантному гену полосатости, даст в F₁ петухов и кур только полосатой окраски.

Таким образом, в данном примере, как и в случае с окраской глаз у дрозофилы, наследование признаков, сцепленных с полом, полностью соответствует распределению половых хромосом в мейозе и сочетанию их при оплодотворении.

39. Какие наследственные болезни человека сцеплены с полом?

Известно, что у человека многие гены локализованы в X-хромосоме. Детерминированные такими генами признаки легко обнаруживаются при анализе родословной. Перечислим некоторые X-сцепленные признаки у человека: цветовая слепота (дальтонизм), гемофилия А, гемофилия В, ихтиоз (сухость и шелушение кожи), мышечная дистрофия Дюшена (дегенеративные изменения мышечной ткани при нехватке белка дистрофина) и т.д.

Особенности наследования X-сцепленных заболеваний отличаются от наследования аутосомных болезней. Если X-сцепленное заболевание приводит к гибели индивида до наступления половой зрелости, то оно проявляется только у мужчин, носителем летального аллеля являются гетерозиготные женщины. Они передают эту аллель половине сыновей, которые заболевают. У половины дочерей заболевание не проявляется, поскольку они помимо рецессивного летального аллеля, несут нормальный доминантный аллель. Примером может служить наследование X-сцепленной мышечной дистрофии Дюшена. Это заболевание поражает мальчиков – носителей мутантного гена в раннем возрасте (до 6-ти лет) и обычно заканчивается смертью к 20 годам. У женщин оно не проявляется. Довольно распространённым признаком сцепленным с X-хромосомой является дальтонизм. Носителями данного признака являются гетерозиготные женщины. Если женщина передаёт сыну X-хромосому с геном дальтонизма, то он заболевает, поскольку сын единственную X-хромосому получает от матери. У отца-дальтоника рождаются здоровые сыновья, так как он передаёт сыну Y-хромосому. X-сцепленную с дальтонизмом хромосому дочь получает от обоих родителей. Подобным образом наследуется гемофилия, т.е. плохая свёртываемость крови.

40. Какие признаки называются ограниченными полом и зависимыми от пола?

Существуют признаки, которые проявляются только у одного пола, несмотря на то, что гены, определяющие эти при-

знаки, имеются у обоих полов, как в аутосомах, так и половых хромосомах. Такие признаки называются ограниченными полом. Различия в молочности разных пород крупного рогатого скота, а также в яйценоскости разных пород кур, обусловлены генами, имеющимися у самок и у самцов, но проявляются, естественно, только у самок.

Также существуют признаки, характер доминирования которых зависит от пола. Это зависимые от пола признаки. Так, например, у крупного рогатого скота развитие рогов определяется доминантным геном, а их отсутствие – рецессивным. Однако, доминирует данный ген только у самцов, у самок он рецессивен. Поэтому гетерозиготные самцы оказываются рогатыми, а гетерозиготные самки – безрогими. Лишь в гомозиготном состоянии и доминантные, и рецессивные гены у обоих полов проявляются одинаково.

К зависимым от пола признакам относится также частичное облысение у человека. У мужчин ген «лысости» доминирует, а у женщин - он рецессивен. Следовательно, у мужчин для облысения достаточно одного доминантного гена, для подобного эффекта у женщин необходима гомозиготность по доминантному гену. У мужчин и женщин гомозигот *BB* проявляется лысина, женщины гетерозиготы с генотипом *Bb* имеют нормальные волосы, мужчины – лысые, *bb* – нормальные волосы у обоих полов. Причём у женщин с генотипом *BB* облысение проявляется в меньшей степени и в более позднем возрасте. Проявление зависимых от пола признаков определяется соотношением мужских и женских гормонов в крови.

41. Как наследуются признаки при нерасхождении половых хромосом?

Обычно, скрещивание белоглазой самки дрозофилы с красноглазым самцом дает в первом поколении белоглазых самцов и красноглазых самок.

Однако иногда в таком скрещивании проявляются единичные красноглазые самцы и белоглазые самки, так называемые «исключительные мухи» с частотой 0,1-0,001%. Бриджес

предположил, что появление таких «исключительных особей» объясняется тем, что у их матери во время мейоза обе X-хромосомы попали в одно яйцо, т.е. произошло нерасхождение X-хромосом. Каждое из таких яиц может быть оплодотворено либо спермием с X-хромосомой, либо Y-хромосомой. В результате может образоваться 4 типа зигот: 1) с тремя X-хромосомами – XXX; 2) с двумя материнскими X-хромосомами и Y-хромосомой XXY; 3) с одной отцовской X-хромосомой; 4) без X-хромосомы, но с Y –хромосомой.

XXY являются нормальными плодовитыми самками. XO-самцы, но стерильны. Это показывает, что у дрозофилы Y-хромосома не содержит генов, определяющих пол. При скрещивании XXY самок с нормальными красноглазыми самцами (XY) Бриджес обнаружил среди потомства 4% белоглазых самок и 4% красноглазых самцов. Остальная часть потомства состояла из красноглазых самок и белоглазых самцов. Появление подобных исключительных особей автор объяснил вторичным нерасхождением X-хромосом в мейозе, потому что самки, взятые в скрещивании (XXY), возникли вследствие первичного нерасхождения хромосом. Вторичное нерасхождение хромосом у таких самок в мейозе наблюдается в 100 раз чаще, чем первичное.

У ряда других организмов, в том числе у человека, также известно нерасхождение половых хромосом. Из 4-х типов потомков, получающихся при нерасхождении X-хромосом у женщин, особи, не имеющие ни одной X-хромосомы, погибают в течение эмбрионального развития. Зиготы XXX развиваются у женщин, у которых чаще обычного встречаются умственные дефекты и бесплодие. Из зигот XXY развиваются неполноценные мужчины, с синдромом Клайнфельтера, отличающиеся бесплодием, умственной отсталостью, евнухоидным телосложением. Потомки с одной X-хромосомой чаще погибают в эмбриональном развитии, редкие выжившие – женщины с синдромом Шерешевского-Тернера. Они низкого роста, инфантильны, бесплодны. У человека Y-хромосомы содержат гены,

определяющие развитие организма мужского пола. При отсутствии Y-хромосомы развитие идёт по женскому типу. Нерасхождение половых хромосом у человека происходит чаще, чем у дрозофилы; в среднем на каждые 600 родившихся мальчиков приходится один с синдромом Клайнфельтера.

42. Что такое компенсация доз генов?

У многих видов X- и Y-хромосомы резко различаются по величине. Как правило, Y-хромосома невелика по величине и содержит большой гетерохроматиновый район. У человека обнаружено около 200 генов, наследующихся в связи с X-хромосомой, в том числе гены гемофилии, дальтонизма, мускульной дистрофии. Гены, локализованные в Y-хромосоме, передаются только по мужской линии, а признаки человека-дикобраза, синдактилии, гипертрихоза ушной раковины передаются только мальчикам. В связи с различием в величине хромосом и числом генов в X- и Y-хромосомах эволюционно сложились механизмы компенсации доз генов. Однако эти механизмы у человека, млекопитающих и у дрозофилы – неодинаковы. У млекопитающих компенсация достигается почти полной генетической инактивацией одной из двух X-хромосом. Инактивация X-хромосом отсутствует в клетках зародышевого пути. Выбор активной и неактивной X-хромосомы происходит случайно. Происходит она по механизму гетерохроматинизации, X-хромосома превращается в плотно конденсированное тельце, в котором отсутствует генетическая активность. У дрозофилы единственная X-хромосома самца направляет синтез столько же генных продуктов, сколько обе функционально активные X-хромосомы самки.

43. Что такое гинандроморфизм?

У насекомых известны случаи появления особей, половина тела которых имеет женское строение, половина – мужское. Гинандроморфы развиваются из яиц, несущих две X-хромосомы, т.е. потенциальных самок. Если во время первого

деления дробления одно из дочерних ядер получает обе X-хромосомы, а другое – только одну, то кариотип второго ядра будет XO. Такие особи, согласно балансовой теории определения пола, дают самцов. Гинандроморфы могут получаться вследствие того, что после мейоза в неоплодотворённом яйце случайно оказывается не одно, а два гаплоидных ядра. Ядра двух сперматозоидов сливаются с двумя ядрами яйцеклеток. Один сперматозоид имеет X-хромосому, другой – Y. Образуется гинандроморф, половина тела которого развивается из XY, другая – из XX.

Подобным образом получают гинандроморфы у бабочек, и некоторых птиц. Если X-хромосома была потеряна при более позднем делении зиготы, участок тела с мужскими признаками будет соответственно меньше. Поэтому, в некоторых случаях у гинандроморфов одна четверть или еще меньшая часть тела принадлежит мужскому типу, а остальная женскому.

Гинандроморфы могут быть познаваемы, если X-хромосомы гетерозиготны по гену *w*, женская половина тела всегда будет красноглазой, тогда как мужская может быть белоглазой, если потеряна X-хромосома с доминантной аллелью.

Глава VI

СЦЕПЛЕННОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ И КРОССИНГОВЕР

44. Какие признаки называются сцепленными? Как они наследуются?

Из принципов генетического анализа, следует, что независимое комбинирование признаков может осуществляться лишь при условии, что гены, определяющие эти признаки, находятся в негомологичных хромосомах. Следовательно, у каждого организма число пар признаков, по которым наблюдается независимое наследование, ограничено числом пар хромосом. С другой стороны, очевидно, что число признаков и свойств организма, контролируемых генами, чрезвычайно велико, а число пар хромосом у каждого вида относительно мало и постоянно.

Остается предположить, что в каждой хромосоме находится не один ген, а много. Если это так, то третий закон Менделя касается распределения хромосом, а не генов, т. е. его действие ограничено.

Из третьего закона Менделя следует, что при скрещивании форм, различающихся двумя парами генов (AB и ab), получается гибрид $AaBb$, образующий четыре сорта гамет AB , Ab , aB и ab в равных количествах. В соответствии с этим в анализирующем скрещивании осуществляется расщепление $1:1:1:1$, т.е. сочетания признаков, свойственные родительским формам (AB и ab), встречаются с такой же частотой, как и новые комбинации (Ab и aB) – по 25%. Однако по мере накопления фактов генетики все чаще стали сталкиваться с отклонениями от независимого наследования. В отдельных случаях новые комбинации признаков (Ab и aB) в F_2 совсем отсутствовали – наблюдалось полное сцепление между генами исходных форм. Но чаще в потомстве в той или иной степени преобладали родительские сочетания признаков, а новые комбинации встречались с меньшей частотой, чем ожидается при независимом наследовании, т.е. меньше 50%. Таким образом, в данном случае

гены чаще наследовались в исходном сочетании (были сцеплены), но иногда это сцепление нарушалось, давая новые комбинации.

Совместное наследование генов, ограничивающее их свободное комбинирование, Морган предложил называть сцеплением генов или сцепленным наследованием.

Отклонения от независимого менделевского расщепления – сцепление генов впервые установили В. Бетсон и Р. Пеннет в 1906 г. Однако разработка этой проблемы принадлежит школе Т.Г.Моргана.

45. Что такое кроссинговер? Какой опыт Моргана доказал генетическую сущность перекреста хромосом?



Томас Хант Морган
(1866-1945)

Великий американский биолог, один из основателей генетики, Томас Хант Морган родился 25 сентября 1866 г. в г. Лексингтоне (штат Кентукки). Исследуя плодовую мушку дрозофилу, ученый вместе со своими учениками К.Бриджесом, А.Стертевантом и Г. Меллером сформулировал хромосомную теорию наследственности. В 1933 г. Моргану была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине за открытия, связанные с ролью хромосом в наследственности. Намного предвосхищая время, Морган в своей Нобелевской лекции (1934)

характеризует ген как «...материальную единицу, то есть кусочек хромосомы...», который «...должен быть отнесен к определенному месту в хромосоме».

Исследования Т.Моргана и его школы показали, что в гомологичной паре хромосом регулярно происходит обмен генами. Процесс обмена идентичными участками гомологичных хромосом с содержащимися в них генами называют перекрестом хромосом или кроссинговером. Кроссинговер обеспечивает новые сочетания генов, находящихся в гомологичных хромосомах. Явление кроссинговера, так же как и сцепление, оказалось общим для всех животных, растений и микроорганизмов. Наличие обмена идентичными участками между гомологичными хромосомами обеспечивает обмен или рекомбинацию генов и тем самым значительно увеличивает роль комбинативной изменчивости. О перекресте хромосом можно судить по частоте возникновения организмов с новым сочетанием признаков. Такие организмы называют рекомбинантами.

Рассмотрим один из классических опытов Морганна на дрозофиле, позволивший ему доказать, что гены расположены в хромосомах в определенном порядке.

У дрозофилы рецессивный ген черной окраски тела обозначается b , а его доминантная аллель, определяющая дикую серую окраску, b^+ , ген рудиментарных крыльев - vg , нормальных - vg^+ . При скрещивании мух, различающихся по двум парам сцепленных признаков, серых с рудиментарными крыльями $\left(\frac{b^+vg}{b^+vg} \right)$ и черных с нормальными крыльями $\left(\frac{bvg^+}{bvg^+} \right)$, гибриды $F_1 \left(\frac{b^+vg}{bvg^+} \right)$ имеют серое тело и нормальные крылья.

Далее проводились реципрокные скрещивания: в одном опыте дигетерозиготой была самка, а дизиготой - самец, в другом наоборот.

Если гибридные самцы скрещиваются с самками, гомозиготными по обоим рецессивным генам $\left(\sigma \frac{b^+vg}{bvg^+} \times \text{♀} \frac{bvg}{bvg} \right)$, то в потомстве получается расщепление в отношении 1 серотелая

муха с рудиментарными крыльями и 1 чернотелая с нормальными крыльями. Следовательно, данная дигетерозигота образует только два сорта гамет (b^+vg и bvg^+) вместо четырех, причем сочетание генов в гаметах самца соответствует тому, которое было у его родителей. Исходя из указанного расщепления, следует предположить, что у самцов дрозофилы перекрест хромосом не происходит.

В реципрокном скрещивании получаются четыре класса потомков, два как у родителей, а два возникшие в результате кроссинговера:

$$\begin{array}{c}
 \text{♀ } \frac{b^+vg}{bvg^+} \times \text{♂ } \frac{bvg}{bvg} \\
 \downarrow \\
 \begin{array}{cc}
 \frac{b^+vg}{b} \quad \frac{bvg^+}{vg} & \frac{b^+vg^+}{b} \quad \frac{bvg}{vg} \\
 \text{некроссоверы} & \text{кроссоверы}
 \end{array}
 \end{array}$$

Эти результаты показывают, что в ходе гаметогенеза произошел обмен фрагментами хромосом.

Изученное Морганом сцепленное наследование признаков получило название закона сцепления Моргана. Гаметы с хромосомами, претерпевшими кроссинговер, называют кроссоверными, а с непретерпевшими – некроссоверными. Соответственно организмы, возникшие от сочетания кроссоверных гамет гибрида с гаметами анализатора, называют кроссоверами или рекомбинантами, а возникшие за счет некроссоверных гамет гибрида – некроссоверными или нереконбинантными.

При анализе расщепления в случае кроссинговера обращает на себя внимание определенное количественное соотношение кроссоверных и некроссоверных классов. Число мух в классах: b^+vg/bvg и bvg/bvg^+ составляло по 41,5%, т.е., некроссоверов было 83%. Два кроссоверных класса по числу особей также одинаковы, и сумма их равна 17%.

46. В чём сущность и значение хромосомной теории наследственности? Кто является её автором?

В 1909-1911 гг. Морган и его ученики А.Стертевант, Г.Меллер, К.Бриджес показали, что третий закон Менделя требует внесения дополнений, наследственные задатки не всегда передаются независимо; порой они передаются целой группой – сцеплено друг с другом. Такие группы, расположенные в соответствующей хромосоме, могут перемещаться в другую гомологичную хромосому при их конъюгации во время мейоза (профаза I).

Полностью хромосомная теория была сформулирована в период с 1911 по 1926 г. В 1933 г. за услуги в формировании хромосомной теории наследственности Т.Моргану была присуждена Нобелевская премия.

Согласно хромосомной теории генетическая информация связана с хромосомами, в которых линейно, в определённом локусе (от лат. *locus* - место) лежат гены.

Каждая пара хромосом характеризуется определённым набором генов, составляющих группу сцепления. Именно поэтому группы генов разных признаков иногда наследуются совместно друг с другом. Соматические клетки дрозофилы содержат четыре пары хромосом ($2n=8$), а половые ($n=4$), таким образом, у дрозофилы насчитывается четыре группы сцепления; аналогично этому у человека число групп сцепления равно числу хромосом гаплоидного набора (23).

Для ряда организмов (дрозофила, кукуруза, горох, домовая мышь, человек и т.д.) составлены генетические карты, представляющие собой схематическое расположение генов в хромосомах.

47. Кем и когда были получены цитологические доказательства кроссинговера?

Прямые доказательства кроссинговера были получены в начале 30-х годов у дрозофилы и кукурузы. Рассмотрим опыт К.Штерна, проведённый на *D.melanogaster*. У самки на одну из

хромосом был перенесён фрагмент Y-хромосомы, что придавало ей Г-образную форму. Вторая X-хромосома была короче нормальной, так как часть её была перенесена на IV хромосому. Были получены самки, гетерозиготные по указанным морфологическим признакам, а также гетерозиготные по генам *Var* (полосковидные глаза) и *carnation* (гвоздичный цвет глаз). Г-образная X-хромосома несла аллели дикого типа B^+ и cr^+ , укороченная хромосома – мутантные аллели B и cr . Самки указанного генотипа скрещивались с самцами с нормальными X-хромосомами с аллелями B^+ и cr . В потомстве самок было два класса мух с некрсоверными хромосомами: crB/crB^+ и cr^+B^+/crB^+ и два класса мух, фенотип которых соответствовал крсоверным: crB^+/crB^+ и cr^+B/crB^+ . Цитологический анализ показал, что у крсоверных мух произошёл обмен X-хромосомами и, соответственно, изменилась их форма. Все четыре класса самок имели по одной нормальной, т.е. палочковидной хромосоме, полученной от отца. Крсоверные самки содержали в своём кариотипе преобразованные X-хромосомы – длинную палочковидную или двуплечую с короткими плечами.

Аналогичные результаты были получены на кукурузе Г.Крейтом и Г.Мак-Клинтон. Эти опыты доказали, что крсоинговер представляет обмен участками гомологических хромосом, и что гены действительно локализованы в хромосомах.

48. Что доказывает линейное расположение генов в хромосоме?

Т. Морган предположил, что гены расположены в хромосомах линейно, а частота крсоинговера отражает относительное расстояние между ними: чем чаще осуществляется крсоинговер, тем далее отстоят гены друг от друга в хромосоме; чем реже крсоинговер, тем они ближе друг к другу.

Одним из классических опытов Моргана на дрозофиле, доказывающим линейное расположение генов, был следующий. Самки, гетерозиготные по трем сцепленным рецессивным генам, определяющим желтую окраску тела у, белый цвет глаз

w и вильчатые крылья bi , были скрещены с самцами, несущими эти признаки. В потомстве было получено 1,2% мух кроссоверных, возникших от перекреста между генами y и w ; 3,5% – от кроссинговера между генами w и bi и 4,7% – между y и bi .

Из этих данных с очевидностью вытекает, что процент перекреста является функцией расстояния между генами. Поскольку расстояние между крайними генами y и bi равно сумме двух расстояний между y и w , w и bi , следует предположить, что гены расположены в хромосоме последовательно, т.е. линейно.

Воспроизводимость этих результатов в повторных опытах указывает на то, что местоположение генов в хромосоме строго фиксировано, т.е. каждый ген занимает в хромосоме свое определенное место – локус.

Основным положением хромосомной теории наследственности – парности аллелей, их редукции в мейозе и линейному расположению генов в хромосоме – соответствует однонитчатая модель хромосомы.

В рассмотренном ранее примере с дрозофилой процент кроссинговера между генами y и w равен 1,2, а между генами w и bi - 3,5. Но по этим показателям еще нельзя сказать, где находится ген y , слева или справа от гена w , нельзя судить и о положении гена w по отношению к гену bi . И, только определив процент перекреста между третьей парой генов y и bi (в данном случае 4,7%), можно прийти к заключению, что ген w должен находиться обязательно между генами y и bi (рис. 4).

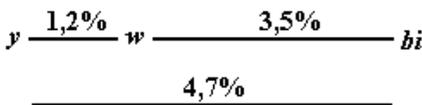


Рис. 4. Схема локализации генов в хромосоме. Цифры указывают на процент кроссинговера между генами.

49. Как создаются цитологические карты хромосом?

Если определить локализацию генов какого-либо организма непосредственно в хромосоме, можно создать цитологи-

ческую карту данной хромосомы. Метод создания цитологических карт сводится к следующему: с помощью мутагенов индуцируются различные хромосомные aberrации – делеции, транслокации или инверсии, которые приводят к изменению силы сцепления генов, выявленных при генетическом анализе. Благодаря этому можно установить корреляцию между генетическими и цитологическими данными. Так, например, если в группе сцепления произошла транслокация, можно измерить величину транслоцированного фрагмента при помощи светового микроскопа и составить его генетическую карту. Если произошла делеция участка хромосомы, то в мейозе при конъюгации нормальная X-хромосома образует петлю в том месте, где в гомологичной хромосоме произошла делеция, что даёт возможность определить локализацию выпавшего фрагмента. После сопоставления цитологических и генетических данных можно считать, что данный ген локализован в выпавшем фрагменте, положение которого в хромосоме установлено.

Когда цитологическую карту сравнивают с соответствующими генетическими картами, линейный порядок расположения генов полностью совпадает. Однако, могут иметь место расхождения в относительном положении (расстоянии) генов. Это несовпадение генетических и цитологических карт объясняется неравномерной частотой перекреста по длине хромосомы.

Чтобы сопоставить цитологические карты гигантских хромосом с генетическими, Бриджес предложил воспользоваться коэффициентом кроссинговера. Для этого он разделил общую длину всех хромосом слюнных желез (1180 мкм) на общую длину генетических карт (279 единиц). В среднем это отношение оказалось равным 4,2. Следовательно, каждой единице перекреста на генетической карте соответствует 4,2 мкм на цитологической карте (для хромосом слюнных желез). Зная расстояние между генами на генетической карте какой-либо хромосомы, можно сравнить относительную частоту перекреста в разных ее районах. Например, в X-хромосоме дрозофилы

гены *u* и *es* находятся на расстоянии 5,5%, следовательно, расстояние между ними в гигантской хромосоме должно быть $4,2 \text{ мкм} \times 5,5 = 23 \text{ мкм}$, но непосредственное измерение дает 30 мкм. Значит, в этом районе X-хромосомы кроссинговер идет реже средней нормы.

Сопоставление генетических и цитологических карт дало возможность подтвердить следующие положения хромосомной теории наследственности:

1. Хромосомы по своей длине наследственно дискретны;
2. Каждый ген имеет определённое место (локус) в хромосоме;
3. Гены расположены в хромосоме в определённой линейной последовательности;
4. Частота кроссинговера между генами зависит от расстояния между ними.

50. Как составляются генетические карты хромосом?

Генетической картой хромосом называют схему относительного расположения генов, находящихся в данной группе сцепления. Они составлены пока лишь для некоторых наиболее изученных с генетической точки зрения объектов: дрозофилы, кукурузы, томатов, мыши, нейроспоры, кишечной палочки и др.

Генетические карты составляют для каждой пары гомологичных хромосом. Группы сцепления нумеруют.

Для того, чтобы составить карты, необходимо изучить закономерности наследования большого числа генов. При составлении генетических карт указывается группа сцепления, полное или сокращенное название генов, расстояние в процентах от одного из концов хромосомы.

После определения группы сцепления следует установить место локализации исследуемого гена в хромосоме. Для этого проводят скрещивание мутантной формы с нормальной и учитывают результаты кроссинговера с другими генами, локализа-

ция которых известна. Очевидно, частота кроссинговера будет больше для генов, расположенных на большом расстоянии друг от друга (так как увеличивается вероятность разрыва), чем для близко расположенных генов с большей силой сцепления. Если, например, установлено, что между сцепленными генами *A* и *B* частота кроссинговера 10%, а между генами *B* и *C* 20%, очевидно, что расстояние между *BC* в 2 раза больше, чем между *A* и *B*.

Предположение об обратной пропорциональной зависимости силы сцепления и расстояния между генами впервые было высказано Т.Г.Морганом в 1911 г. Из его работ было известно, что по частоте рекомбинаций между генами можно оценить межгенное расстояние. Исходя из частот рекомбинаций, Стертевант построил карту X-хромосомы дрозофилы: 1 единица карты соответствует 1% рекомбинаций между генами. В честь Т.Моргана 1 единица карты названа сантиморганидой (сМ).

В настоящем для организмов с хорошо изученными сцепленными мутациями классический метод картирования остаётся предпочтительным. В последние годы для локализации генов в хромосомах используют тесторные линии: определяют группы сцепления с помощью рецессивных и доминантных маркеров, летальных мутаций, для картирования генов используют хромосомные перестройки, соматический кроссинговер.

51. Существует ли соответствие между размером генома и частотой кроссинговера?

Поскольку на частоту кроссинговера влияют разнообразные факторы, возникает вопрос, существует ли соответствие между кроссинговерным расстоянием и размером генома. Обычно, чтобы получить данные о таком соотношении, значение размера генома (в парах нуклеотидов) делят на общую длину кроссоверной карты (табл. 2).

Подобные данные позволяют заключить, что частота генетической рекомбинации значительно выше у прокариот и

низших эукариот. Так, дрожжи имеют кроссоверную карту размером 4200 единиц, в то время как дрозофила или нематода -280 и 320 соответственно. Как следствие, у прокариот число нуклеотидов на единицу карты значительно ниже, чем у эукариот.

Табл. 2. Соотношение кроссоверных и молекулярных карт

Виды	Размер генома в парах нуклеотидов (<i>a</i>)	Число кроссоверных единиц карты в геноме (<i>б</i>)	Размер кроссоверной единицы в парах нуклеотидов (<i>аб</i>)
Фаг T4	$1,6 \times 10^5$	800	200
<i>E.coli</i>	$4,2 \times 10^6$	1 750	2 400
Дрожжи	$2,0 \times 10^7$	4 200	5 000
Грибы	$2,7 \times 10^7$	1 000	27 000
Нематоды	$8,0 \times 10^7$	320	250 000
Дрозофила	$1,4 \times 10^8$	280	500 000
Мышь	$3,0 \times 10^9$	1 700	1 800 000
Человек (муж.)	$3,3 \times 10^9$	2 809	1 200 000
Человек (жен.)	$3,3 \times 10^9$	4 782	700 000

52. Как учитывать кроссинговер у гаплоидных организмов?

У гаплоидных организмов число кроссоверных генотипов точно соответствует числу кроссоверных спор или гамет, поэтому и у диплоидов вполне правомерно судить о частоте кроссинговера по числу рекомбинантов в потомстве.

Результаты кроссинговера можно наблюдать и учитывать непосредственно по продуктам мейоза (тетрадный анализ). Удобным в этом отношении объектом является плесневой гриб *Neurospora crassa*. У гетерозигот *Aa* в результате мейоза и последующего за ним митоза в каждом аске образуется по восемь спор, различающихся по окраске, чёрные окрашенные зрелые споры *A* и четыре неокрашенные незрелые споры *a*. Если в

профазе мейоза не произошло кроссинговера, расположение спор будет *AAAAaaaa* или *aaaaAAAA*. Если же произошёл кроссинговер, расположение спор окажется изменённым в различных вариантах: *AAaaAAaa*, *aaAAaaAA*, *AAAAaaAA*, *aaAAAAaa*, зависящих от расхождения хроматид в первом и втором делении мейоза.

53. Что такое множественный кроссинговер?

Приняв положение, что генов в хромосоме может быть много и расположены они в хромосоме в линейном порядке, а каждый ген занимает определённый локус в хромосоме, Морган допустил, что перекрест между гомологичными хромосомами может происходить одновременно в нескольких точках. Это предположение было им доказано тоже на дрозофиле, а затем полностью подтвердилось на ряде других животных, а также на растениях и микроорганизмах.

Кроссинговер, происходящий лишь в одном месте, называют одинарным, в двух точках одновременно – двойным, в трёх – тройным и т.д., т.е. он может быть множественным.

Чем дальше отстоят друг от друга в хромосоме гены, тем больше вероятность двойных перекрестов между ними. Процент рекомбинаций между двумя генами тем точнее отражает расстояние между ними, чем оно меньше, так как в случае малого расстояния уменьшается возможность двойных обменов.

Для учета двойного кроссинговера необходимо иметь дополнительный маркер, находящийся между двумя изучаемыми генами. Определение расстояния между генами осуществляют следующим образом: к сумме процентов одинарных кроссоверных классов прибавляют удвоенный процент двойных кроссинговеров. Удвоение процента двойных кроссинговеров необходимо в связи с тем, что каждый двойной кроссинговер возникает благодаря двум независимым одинарным разрывам в двух точках.

Рекомбинации между хроматидами в тетраде происходят случайным образом, поэтому, чем ближе расположены два локуса на хромосоме, тем вероятность кроссинговера между ними меньше и наоборот. Если между двумя несестринскими хроматидами происходит одиночный кроссинговер, то две другие хроматиды остаются интактными и попадают в нерекомбинантные гаметы, поэтому даже 100% кроссинговер между данными локусами приводит к появлению 50% рекомбинантных гамет. Если в эксперименте обнаруживается 20% рекомбинантных гамет, то кроссинговер между локусами происходит в два раза чаще (40%). Значит, теоретически частота рекомбинантных гамет не может превышать 50%.

Частота двойных кроссоверов значительно ниже, чем одиночных. Допустим, что между генами *A* и *B* в результате рекомбинаций образовалось 20% кроссоверных гамет, между генами *B* и *C* 30% кроссоверных гамет. Тогда вероятность двойного кроссинговера между генами *A* и *B*, *B* и *C* равна произведению вероятностей каждого из них $(0,20) \times (0,30) = 0,06$, т.е. всего 6%.

54. Что такое интерференция?

Установлено, что кроссинговер, происшедший в одном месте хромосомы, подавляет кроссинговер в близлежащих районах. Это явление носит название интерференции. При двойном перекресте интерференция проявляется особенно сильно в случае малых расстояний между генами. Разрывы хромосом оказываются зависимыми друг от друга. Степень этой зависимости определяется расстоянием между происходящими разрывами: по мере удаления от места разрыва возможность другого разрыва увеличивается.

Эффект интерференции измеряется отношением числа наблюдаемых двойных разрывов к числу возможных при допущении полной независимости каждого из разрывов.

Объясним это на примере с кукурузой. На основании измерения частоты перекреста было установлено, что в гено-

типе $\frac{v^+ gl^+ sl^+}{v gl sl}$ гены v и gl разделяются расстоянием 18,3%, а gl и sl — 13,6%. Если разрывы на участках $v - gl$ и $gl - sl$ происходят как независимые друг от друга события, то вероятность двойного кроссинговера между генами v и sl должна быть равна произведению процентов кроссинговера на участках $v - gl$ и $gl - sl$, т.е.

$$\frac{18,3}{100} \times \frac{13,6}{100} \times 100 = 2,5\%$$

Но в опыте получено всего 1,5% растений, возникших вследствие двойного кроссинговера, т.е. ниже ожидаемого, что и объясняется наличием интерференции. Величину интерференции измеряют отношением наблюдаемого числа двойных перекрестов к теоретически ожидаемому. Это отношение в генетике называют коинцидентией и выражают в долях единицы или в процентах. В приведенном примере она равна 1,5 : 2,5, т.е. 0,6, или 60%.

На небольшом расстоянии, где имеет место влияние одного разрыва на другой, коинцидентия будет меньше 1. Но влияние интерференции распространяется лишь на определенное расстояние, а затем исчезает. В последнем случае коинцидентия равна 1, или 100%. Коинцидентия в разных хромосомах и в разных участках одной и той же хромосомы различна. Особенности распределения генов в хромосомах, их строение, а также расположение центромеры влияют на частоту перекреста хромосом.

55. Что такое соматический (митотический) кроссинговер?

Кроссинговер происходит в профазе I мейоза при образовании гамет. Однако существует соматический, или митотический кроссинговер, который осуществляется при митотическом делении соматических клеток главным образом эмбриональных тканей.

Известно, что гомологичные хромосомы в профазе митоза обычно не конъюгируют и располагаются независимо друг от друга. Однако иногда удается наблюдать синапсис гомологичных хромосом и фигуры, похожие на хиазмы, но при этом редукции числа хромосом не наблюдается.

Соматический кроссинговер может привести к мозаичности в проявлении признаков. Механизм этого явления ясен из следующего примера. Самки дрозофилы, гетерозиготные по сцепленным рецессивным генам у (желтая окраска тела) и *sn*

(опаленные щетинки) $\frac{y^+ sn}{ysn^+}$ имеют серое тело и нормальные

щетинки. В случае, если в соматических клетках происходит перекрест в этой паре хромосом, на теле могут появляться пятна с рецессивными признаками.

Соматический кроссинговер может быть обнаружен, если он осуществляется между двумя несестринскими хроматидами. Он выявляется в виде двойных пятен, если место обмена находится между геном *sn* и центромерой и если в анафазе того же митотического цикла случайно обе хромосомы $y sn^+$ отойдут к одному полюсу, а обе хромосомы $y^+ sn$ – к другому. Две клетки, возникшие как следствие одного митоза, при размножении дадут два вида пятен ткани, примерно равных по размеру и проявляющих рецессивные признаки, в силу того, что гены *y* и *sn* оказываются в результате происшедшего перекреста в гомозиготном состоянии: $\frac{ysn^+}{ysn^+}$ и $\frac{y^+ sn}{y^+ sn}$. На сером теле мухи с нормальными щетинками появляется одно пятно желтого цвета, а другое серого цвета с «опаленными» щетинками. Поскольку появление пятен может быть следствием обменов только на стадии четырех нитей, то этот случай является прямым доказательством того, что кроссинговер у многоклеточных организмов осуществляется между хроматидами.

56. Какие факторы влияют на кроссинговер?

На кроссинговер влияет множество факторов как генетической природы, так и внешней среды. Поэтому в реальном эксперименте о частоте кроссинговера можно говорить, имея в виду все те условия, в которых она была определена. Кроссинговер практически отсутствует между гетероморфными X- и Y-хромосомами. Если бы он происходил, то хромосомный механизм определения пола постоянно разрушался бы. Блокирование кроссинговера между этими хромосомами связано не только с различием в их величине (оно наблюдается не всегда), но и обусловлено Y-специфичными нуклеотидными последовательностями. Обязательное условие синапса хромосом (или их участков) – гомология нуклеотидных последовательностей.

Для абсолютного большинства высших эукариот характерна примерно одинаковая частота кроссинговера как у гомогаметного, так и гетерогаметного полов. Однако есть виды, у которых кроссинговер отсутствует у особей гетерогаметного пола, в то время как у особей гомогаметного пола он протекает нормально. Такая ситуация наблюдается у гетерогаметных самцов дрозофилы и самок шелкопряда. Существенно, что частота митотического кроссинговера у этих видов у самцов и самок практически одинакова, что указывает на различные элементы контроля отдельных этапов генетической рекомбинации в половых и соматических клетках. В гетерохроматических районах, в частности прицентромерных, частота кроссинговера снижена, и поэтому истинное расстояние между генами в этих участках может быть изменено.

Обнаружены гены, выполняющие роль запираателей кроссинговера, но есть также гены, повышающие его частоту. Они иногда могут индуцировать заметное число кроссоверов у самцов дрозофилы. В качестве запираателей кроссинговера могут выступать также хромосомные перестройки, в частности инверсии. Они нарушают нормальную конъюгацию хромосом в зиготене.

Обнаружено, что на частоту кроссинговера влияют возраст организма, а также экзогенные факторы: температура, радиация, концентрация солей, химические мутагены, лекарства, гормоны. При большинстве указанных воздействий частота кроссинговера повышается.

В целом, кроссинговер представляет собой один из регулярных генетических процессов, контролируемых многими генами как непосредственно, так и через физиологическое состояние мейотических или митотических клеток. Частота различных типов рекомбинаций (мейотический, митотический кроссинговер и сестринские, хроматидные обмены) может служить мерой действия мутагенов, канцерогенов, антибиотиков и др.

57. Как объясняются механизмы кроссинговера?

У эукариотов необходимой предпосылкой рекомбинации как несцепленных генов, лежащих в разных хромосомах, так и сцепленных генов, локализованных в одной и той же хромосоме, является конъюгация гомологичных хромосом, обеспечивающая правильное их распределение во время мейоза и делающая возможным обмен их частями путем кроссинговера.

В основном существуют две модели объясняющие молекулярные механизмы кроссинговера. Одна из них – гипотеза «разрыва и воссоединения» – согласно которой кроссинговер осуществляется путем разрывов, возникающих одновременно в тождественных точках двух родительских молекул ДНК и последующего ковалентного соединения образовавшихся фрагментов в новых сочетаниях. Согласно гипотезе Холидея кроссинговер протекает без репликации ДНК, а кроссоверная молекула ДНК составлена из вещества двух родительских молекул. Другая гипотеза, выдвинутая Уайтхаузом и Хестингсом и названная гипотезой «выборочного копирования», предполагает, что при кроссинговере вовсе не происходит обмена участками между родительскими молекулами ДНК, но записанная в них генетическая информация частично передается вновь

синтезируемой молекуле во время репликации: эта молекула при своем росте сначала использует в качестве матрицы нить одной родительской молекулы, а затем переключается на использование нити другой родительской молекулы. Согласно этой гипотезе кроссинговер осуществляется в процессе репликации ДНК, а связь кроссоверной молекулы ДНК с родительскими имеет чисто информационный характер: часть получаемой ею генетической информации поставляют один родитель, часть – второй, вещество же родительских молекул в кроссоверную молекулу не попадает.

Исследования последних двух десятилетий однозначно показали, что при кроссинговере всегда происходит реальный обмен частями двух молекул ДНК и, следовательно, правильна гипотеза «разрыва и воссоединения», а не гипотеза «выборочного копирования».

Глава VII

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

58. Какие свойства характерны для генетического материала?

Для молекул-носителей генетического материала характерны четыре свойства: репликация, хранение информации, экспрессия информации и изменчивость, обусловленная мутациями.

Генетическая информация хранится в молекулах нуклеиновых кислот и передается ими по наследству. У всех клеточных организмов и ДНК-содержащих вирусов, это осуществляется молекулами ДНК, а у РНК-содержащих вирусов молекулами РНК.

При размножении любых форм жизни (кроме РНК-содержащих вирусов) происходит увеличение числа молекул ДНК – репликация. В процессе репликации генетический материал удваивается и затем равномерно распределяется между дочерними клетками (митоз). При формировании половых клеток генетический материал также удваивается, но в каждой гамете остаётся только его половина (мейоз). Митоз и мейоз являются важнейшими составляющими процессами в воспроизводстве клеток. Большинство клеток содержит полный набор генов и в определённые этапы развития происходит экспрессия части этого материала.

Экспрессия генетической информации, т.е. реализация информации закодированной в ДНК, происходит путём транскрипции нуклеиновых кислот с образованием трёх типов молекул РНК, информационной или матричной РНК (иРНК, мРНК), транспортной РНК (тРНК) и рибосомной РНК (рРНК). Молекулы иРНК – продукты различных генов, и на них в процессе трансляции синтезируются разные полипептиды. Трансляция генетической информации с иРНК на белки происходит с участием рибосом и молекул тРНК, которые преобразуют нуклео-

тидную запись информации в аминокислотную. Все эти процессы отражены в центральной догме молекулярной биологии: генетическая информация передаётся от ДНК к РНК и затем к белкам. Генетическая изменчивость служит источником изменчивости организмов. Ниже приведена схема передачи генетической информации от ДНК к белкам (рис.5).

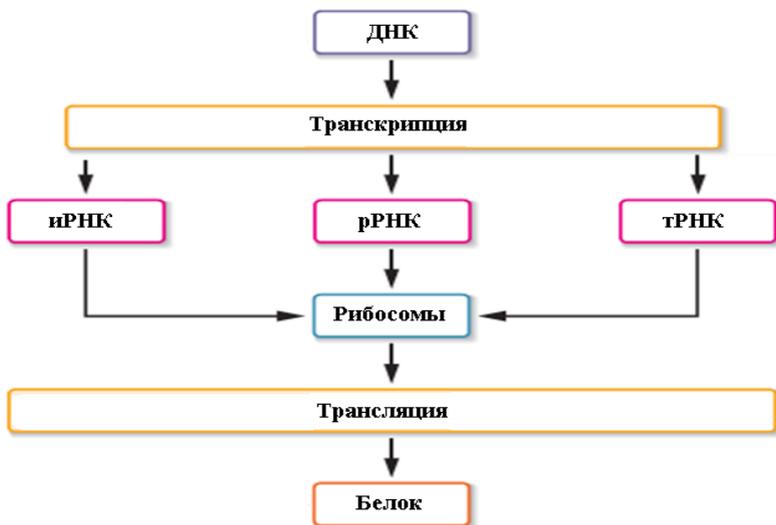


Рис. 5. Схема клеточного потока информации от ДНК к белкам

59. Какие опыты выявили трансформирующую активность ДНК?

Большую роль в выяснении химической природы генов сыграли опыты Ф.Гриффитса (1928), обнаружившего у пневмококков (*Streptococcus pneumoniae*) явление трансформации. Известно несколько типов пневмококков, различающихся по виду и размеру колоний, наличию или отсутствию плотной полисахаридной капсулы, защищающей их от фагоцитоза. При росте на питательной среде пневмококки, окруженные капсулой, образуют крупные гладкие колонии. Такие пневмококки, отнесенные к типу S (от англ. smooth – гладкий), являются возбудителями пневмонии у человека и некоторых животных, в том числе мы-

шей. Примерно одна из 10^7 клеток пневмококков может спонтанно превратиться (мутировать) в форму, лишенную полисахаридной капсулы. Бескапсульные пневмококки непатогенны, поскольку быстро уничтожаются путем фагоцитоза в организме зараженного животного или человека. На поверхности питательной среды такие бактерии, отнесенные к типу *R* (от англ. rough – шероховатый), образуют мелкие шероховатые колонии, которые легко отличить от гладких колоний, образуемых пневмококками типа *S*. Пневмококки, кроме того, различаются по типу поверхностных антигенов, определяемому особенностями капсульного липополисахарида (например, тип *III_S*, *II_R* и др.), что служит еще одним важным признаком, наследующимся в потомстве. Введение мышам убитых нагреванием пневмококков типа *III_S* либо живых пневмококков типа *II_R* не вызывало гибели животных. Напротив, введение живых бактерий типа *III_S*, как и предполагалось, привело к развитию тяжелой пневмонии и гибели большинства зараженных мышей. Неожиданными оказались результаты опытов, в которых мышам вводили смесь убитых бактерий типа *III_S* и невирулентных пневмококков типа *II_R*. В этом случае многие животные также погибли от пневмонии, а из организма погибших мышей были высеяны живые пневмококки типа *III_S*. Такое превращение некапсульных форм бактерий в вирулентные капсульные не зависело от организма хозяина, поскольку наблюдалось и в опытах *in vitro*, когда в пробирку, содержащую живые *R*-клетки, добавляли убитые клетки типа *III_S* либо экстракты из них. В обоих случаях при высеве бактерий из пробирок на чашки Петри с питательной средой формировались не только шероховатые колонии, образованные бескапсульными бактериями, но обнаруживались и гладкие колонии, состоящие из клеток капсульных бактерий. Частота появления последних значительно превышала частоту спонтанного мутирования бактерий из *II_R*-типа в *III_S*-тип.

Эксперименты Гриффитса выявили существование некоего «трансформирующего начала», превращающего клетки пневмококков типа *II_R* в клетки типа *III_S*. Для доказательства

того, что ДНК действительно являлась трансформирующим началом в опытах Гриффитса, препараты ДНК из пневмококков типа *III S* делили на порции, каждую из которых обрабатывали дезоксирибонуклеазой (ДНК-азой), рибонуклеазой или протеазой – ферментами, разрушающими соответственно ДНК, РНК или белки, а затем применяли для трансформации клеток типа *II R* в тип *III S*. Оказалось, что только обработка ДНК-азой полностью снимала трансформирующую активность препаратов ДНК. С другой стороны, по мере очистки ДНК от примесей белка частота трансформации увеличилась. Эта очистка была доведена до такой степени, что в препарате ДНК, полностью сохранившем трансформирующую активность, белка было в 10000 раз меньше, чем ДНК. Обе группы фактов явились доказательством того, что генетическая информация, кодирующая капсульный полисахарид и его антигенную специфичность у пневмококков, находится в ДНК.

**60. Какую структуру имеют нуклеиновые кислоты?
На основании каких данных Уотсоном и Криком
была представлена модель структуры ДНК?**



Дж. Уотсон (р. 1928) и Ф.Крик (р. 1916) у стереомодели молекулы ДНК

Нуклеиновые кислоты представляют собой макромолекулы, образованные повторяющимися структурами – нуклеотидами. Каждый нуклеотид состоит из трёх компонентов: азотистых оснований, сахара (пентозы) и фосфатной группы. Различают два вида азотистых оснований: двуциклические пурины, к которым относятся аденин, гуанин и моноциклические пиримидины – цитозин, тимин и урацил. Аденин (А), гуанин (G) и цитозин (С), тимин (Т) входят в состав молекул ДНК, в молекуле РНК тимину соответствует урацил (U). В состав молекул рибонуклеиновой кислоты (РНК) входит сахар рибоза, в состав дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) – дезоксирибоза. Молекулы нуклеозидов состоят из пуриновых или пиримидиновых оснований, а также рибозы или дезоксирибозы. Молекулы нуклеотидов представлены нуклеозидами, к которым присоединяется фосфатная группа (рис. 6).

Молекула РНК состоит из одной цепи, в которой последовательно чередуются четыре возможных нуклеотида. В молекуле РНК содержится от ста до ста тысяч нуклеотидов. Молекулы ДНК представляют собой двойную спираль с водородными связями между комплементарными нуклеотидами. В молекуле ДНК содержится от нескольких тысяч до многих миллионов нуклеотидов.

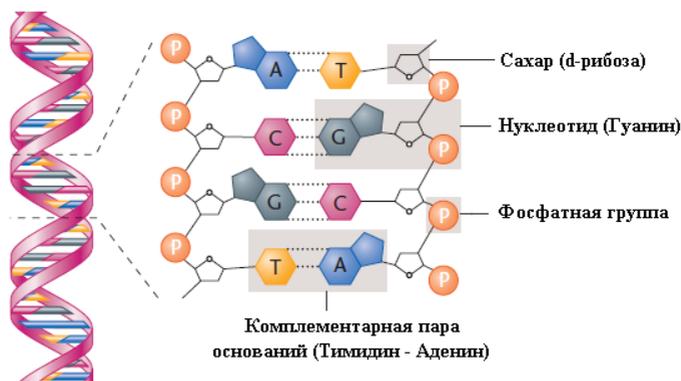


Рис. 6. Структура двухспиральной молекулы ДНК (слева) и схема ее строения (справа)

Существенное значение для понимания строения ДНК имели установленные Э.Чаргаффом закономерности, в соответствии с которыми в любой молекуле ДНК соотношение азотистых оснований следующее:

1. Количество остатка аденина (их молярное содержание) в ДНК пропорционально количеству остатков тимина, а количество остатков гуанина пропорционально количеству остатков цитозина, т.е. $A=T$; $G=C$.
2. Сумма пуринов ($A+G$) равна сумме пиримидинов ($T+C$), т.е. $A+G=T+C$.
3. Процентное содержание ($A+T/G+C$) может варьировать у различных организмов.

Большую роль в расшифровке строения ДНК сыграло рентгеноструктурное исследование, проведенное (1952) М.Уилкинсом и Р.Франклин. Оно показало, что ДНК упорядоченная структура, состоящая из повторяющихся элементов, расположенных вдоль оси молекулы на расстоянии 0,34 нм друг от друга.

На основании химических данных Чаргаффа и рентгеноструктурного анализа, проведенного М.Уилкинсом и Р.Франклин, Уотсон и Крик в 1953 году предложили модель молекулы ДНК. Они предположили, что ДНК имеет форму двойной спирали со следующими свойствами:

1. Две длинные полинуклеотидные цепочки закручены вокруг центральной оси, формируя правостороннюю двойную спираль.
2. Эти две цепи ориентированы в противоположных направлениях, то есть их 5' и 3' концы не совпадают.
3. Основания в составе каждой полинуклеотидной цепи лежат в плоскости, перпендикулярной оси молекулы и располагаются внутри двойной спирали параллельно, один над другим, с интервалом 3,4 Å (0,34 нм).
4. Азотистые основания противоположных цепей ДНК спарены с помощью водородных связей в строго определенном виде: только $A=T$ или $G=C$.

5. Полный оборот спирали занимает 34 \AA (3,4 нм), включая по 10 оснований в каждой цепи.
6. По длине молекулы чередуются большие и малые бороздки.
7. Диаметр двойной спирали составляет 20 \AA (2 нм).
(\AA - ангстрем, единица длины, равная 0,1 нм).

Специфичность спаривания между основаниями обусловлена комплементарностью, химическим родством. Принцип комплементарности крайне важен для репликации ДНК и экспрессии генов.

61. Каковы основные различия в химическом строении РНК и ДНК?

Нуклеиновые кислоты представляют собой макромолекулы, образованные повторяющимися структурами – нуклеотидами. Каждый нуклеотид состоит из трех компонентов: циклического азотсодержащего соединения, называемого основанием, сахара пентозы, включающего пять атомов углерода, и фосфорной кислоты. Известны пять главных азотистых оснований. Одно из них, урацил (2,6-оксипиримидин), обнаруживается только в РНК. Другое, тимин (2,6-окси-5-метилпиримидин), находится, как правило, только в ДНК. Остальные три основания: цитозин (6-амино-2-оксипиримидин), аденин (6-аминопурин) и гуанин (2-амино-6-оксипурин) – присутствуют как в ДНК, так и в РНК. Двухциклические основания – аденин и гуанин – относятся к пуринам, моноциклические основания – цитозин, тимин и урацил – к пиримидинам. Наряду с этими главными азотистыми основаниями в ДНК некоторых организмов обнаружены минорные редко встречающиеся основания: 5-метилцитозин, 5-оксиметилцитозин и др.

Сахар пентоза, входящий в состав РНК, является рибозой, а входящий в состав ДНК - 2-деоксирибозой. Молекула РНК состоит из одной цепи, в которой последовательно чередуются четыре возможных нуклеотида. Существенное зна-

чение для понимания строения ДНК имели установленные Э.Чаргаффом закономерности (1944).

Существенный элемент модели двойной спирали – принцип комплементарности, заключающийся в том, что спаривание оснований осуществляется строго специфично.

Комплементарность нуклеотидного состава противоположных цепей молекул ДНК обеспечивает её способность хранить и передавать генетическую информацию, она же лежит в основе аутокаталитической функции ДНК, т.е. репликации.

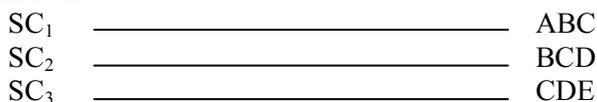
62. Каково современное представление о гене?

Представление о генах, основанное на данных классической генетики и прежде всего на работах школы Т.Моргана, сформулировались к концу 30-х годов XX века. В основу определения гена как единицы наследственности были положены три критерия: функция, мутация, рекомбинация. В дальнейшем стало ясно, что лишь один из перечисленных критериев, в основном, соответствует определению гена: ген является единицей функции, кодирующей молекулы полипептида либо нуклеиновой кислоты (рРНК и тРНК). Что же касается определения гена как единицы рекомбинации и мутации, то оно пересмотрено, была установлена делимость гена на части в результате кроссинговера, а затем показано, что единица структуры не ген, а лишь одиночная пара нуклеотидов, способная к мутации и рекомбинации.

Первые экспериментальные доказательства делимости гена были получены в опытах с *D.melanogaster* и связаны с открытием явлений ступенчатого аллеломорфизма, и псевдоаллелизма. Ступенчатый аллелизм был обнаружен в конце 20-х годов советскими генетиками А.С.Серебровским и его учениками. Авторы изучали мутации гена *scute* - SC_1 , SC_2 и т.д., вызывающие редукцию щетинок на разных участках тела дрозофилы. При скрещивании гомозиготных по аллелям гена *scute* особей, $\frac{SC_1}{SC_1} \times \frac{SC_2}{SC_2}$ у гетерозигот $\frac{SC_1}{SC_2}$ чаще всего отсутствовали толь-

ко те щетинки, которых не было у обеих гомозиготных особей. Если аллель SC_1 приводит к редукции щетинок в частях тела, условно обозначаемых ABC, а аллель SC_2 в частях - BCD, то у гетерозигот не было щетинок B и C, а A и D развивались нормально. Авторы приходят к заключению, что функциональной единицей может быть не вся аллель, а отдельные её части. Явление ступенчатого аллелизма было истолковано как свидетельство дробимости, сложности структурного гена.

При графическом изображении открытой А.С.Серебровским закономерности получается лестница, ступени которой – аллели гена *scute*:



где C, D, E – ступени лестницы.

В начале 40-х гг. Дж.Бидл и Э.Тейтум исследовали биохимические мутации у *Neurospora crassa*. Эти исследования показали, что аллельные мутации всегда затрагивали один и тот же этап биосинтеза. На основании полученных результатов Дж.Бидл и Э.Тейтум сформулировали принцип «один ген – один фермент», означающий, что каждый ген контролирует синтез какого-либо определённого фермента.

В 1961 г. С.Бензер изучил область II фага T4. Он сопоставил молекулярные размеры этой области – 2700 нм и рекомбинационную длину – 10%.

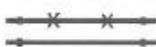
В экспериментах были получены минимальные частоты рекомбинации – около 0,02%, т.е. 1/500 от всего рекомбинационного расстояния (10%). Если весь район имеет длину 2700 нм, значит, рекомбинация происходит между каждыми 5-6 нуклеотидами (2700:500).

Позже У.Янковский показал, что кроссинговер происходит между любой парой нуклеотидов. Таким образом, не только ген, но и любая его часть может быть разделена с помощью кроссинговера.

63. Для чего используют цис-транс-тест?

Развитие исследований структуры гена связано с введением Э.Льюисом и С.Бензером в качестве критерия аллелизма комплементационного или цис-транс-теста. Напомним, что аллелями называют формы одного и того же гена, возникающие в результате его мутационной изменчивости. Аллели дикого типа, как правило, доминантные, мутантные аллели обычно рецессивны. Гетероаллели - различаются по типу и (или) локализации, изоаллели (когда в гомологичных точках содержатся одинаковые, но противоположно ориентированные в отношении цепей ДНК пары нуклеотидов), гомааллели (когда в гомологичных точках аллелей в той же ориентации расположены одинаковые пары нуклеотидов).

Для того, чтобы две мутации, a_1 и a_2 могли быть исследованы с помощью цис-транс-теста они должны оказаться в одной клетке в одной, из двух возможных конфигураций по отношению друг к другу. Организм или клетку, несущую обе мутации в цис-положении, т.е. в одной хромосоме называют цис-гетерозиготой. Расположение этих мутаций в разных хромосомах одной пары (у эукариот) означает, что они находятся в транс-конфигурации в составе транс-гетерозиготы. Поскольку речь идёт о рецессивных мутациях, цис-гетерозигота будет иметь дикый фенотип, независимо от того, находятся ли мутации в разных аллелях одного гена, или разных генах. В транс-гетерозиготе результат будет различен. Если мутации расположены в разных генах, фенотип будет диким, если же обе мутации затрагивают одну единицу функции, возникает гомозигота с мутантным фенотипом, так как в гомологичных хромосомах мутантны одинаковые гены.

Мутации	Цис-конфигурация	Транс-конфигурация
Аллельные	 Дикый тип	 Мутант
Неаллельные	 Дикый тип	 Дикый тип

Таким образом, цис-транс-тест сводится фактически к транс-тесту, т.е. к функциональному критерию аллелизма, предложенному ранее Морганом.

Метод проведения транс-теста зависит от особенностей организма. Для диплоидов достаточно скрестить между собой две гомозиготы, каждая из которых несёт одну мутацию. Для бактериофагов клетку одновременно заражают двумя различными мутантами. В обоих случаях образуются транс-гетерозиготы. Их мутантный фенотип позволяет сделать заключение о принадлежности мутаций к одному гену.

64. Что является главной особенностью генома эукариот?

Главная количественная особенность генетического материала эукариот – наличие избыточной ДНК. Этот факт легко выявляется при анализе отношения числа генов к количеству ДНК в геноме бактерий и млекопитающих. Если средний размер гена бактерий 1500 пар нуклеотидов (п.н.), а длина кольцевой молекулы ДНК хромосомы *E.coli* и *B.subtilis* составляет около 1,1 мкм, то в такой хромосоме могут разместиться около 3000 генов. Примерно такое число генов было экспериментально определено у бактерий по числу типов иРНК. Если это число умножить на средний размер гена, то получится, что около 95% генома бактерий состоит из кодирующих (генных) последовательностей. Остальные 5%, по-видимому, заняты регуляторными элементами. Иная картина наблюдается у эукариотических организмов. Например, у человека всего 30000 активных генов, что составляет менее чем 5% от суммарной ДНК. Существует значительное число видов, геном которых в десятки раз больше генома человека, например некоторые рыбы, хвостатые амфибии, лилейные. Избыточная ДНК характерна для всех эукариот. В этой связи необходимо подчеркнуть неоднозначность терминов генотип и геном. Под генотипом следует понимать совокупность генов, имеющих фенотипическое проявление, тогда как понятие генома обозначает количество ДНК, находящееся в гаплоидном наборе хромосом данного вида.

Для генома эукариот характерны наличие различных типов повторов. В геноме эукариот различают следующие фракции:

1. Уникальные, т.е. последовательности, представленные в одном экземпляре.
2. Промежуточные, или среднечастотные, повторы – последовательности, повторяющиеся десятки и сотни раз.
3. Высокочастотные повторы, число которых достигает 10^6 (на геном). Повторы образуют так называемые семейства, под которыми понимают совокупность последовательностей, полностью или по большей части гомологичных друг другу.

65. Каковы различия между прокариотами и эукариотами по числу и размерам репликонов?

Репликация хромосом – молекул ДНК прокариот начинается с единственной определённой точки хромосомы и прогрессирует, пока не закончится репликация всей хромосомы. Таким образом, хромосома представляет здесь единицу репликации, т.е. состоит из одного репликона. В хромосомах эукариотов молекулы ДНК имеют гигантские размеры, длина их может достигать нескольких сантиметров. Если бы такая хромосома имела одну точку начала репликации, т.е. подобно прокариотам была одним репликоном, то деление этой хромосомы длилось бы несколько десятков часов. На самом деле оно заканчивается в течение нескольких минут, потому что у эукариотов хромосома состоит из множества репликонов, т.е. в хромосоме есть несколько точек, с которых начинается репликация ДНК.

Как свидетельствуют экспериментальные данные, размеры репликонов у эукариотов существенно меньше, чем у прокариотов. Скорость репликации у эукариот ниже.

Согласно современным представлениям репликоны у эукариотов распределены в геноме не случайно, они расположены группами. В этих группах собираются ферменты репликации, ко-

торые удлиняют вилки репликации одновременно 10-100 соседних репликонов длиной примерно по 100 т.п.н. каждый. Репликация в них завершается за 45-60 мин. Кроме этого существуют очень длинные репликоны (более 1000 т.п.н.). Они настолько большие, что репликация в них продолжается несколько часов.

66. Какие особенности генома отличают прокариотов и эукариотов?

У вирусов их нуклеиновая кислота состоит целиком из структурных генов. Хромосома РНК-содержащего вируса длиной 1200 нуклеотидов содержит один структурный ген. У других мелких вирусов содержится 3 тыс. нуклеотидов, т.е. три гена среднего размера. У ДНК-содержащих сложных вирусов геном содержит более 200 тыс. пар нуклеотидов и от десятков до сотен структурных генов. В гораздо более крупном бактериальном геноме молекула ДНК состоит из нескольких миллионов пар оснований, большинство генов уникальны (за исключением генов рРНК и тРНК).

У животных больше половины гаплоидного генома, как правило, занимают участки ДНК, представленные там лишь по одному разу. У высших растений доля уникальных генов составляет 20-30%. По-видимому, к числу таких уникальных участков относятся большинство структурных генов, кодирующих белки (кроме гистонов).

Для генома эукариотов характерно наличие различных категорий повторенной ДНК. Большая часть генома эукариотов не представлена функциональными генами. У человека, например, всего 30000 активных генов, что составляет менее, чем 5% суммарной ДНК.

К повторам средней частоты относятся гены рибосомальной РНК, транспортной РНК и гистонов. Число их копий в гаплоидном геноме колеблется от нескольких сот до нескольких тысяч. Общая доля всех видов повторов средней многократности составляет у эукариотов от $\frac{1}{10}$ до $\frac{1}{4}$ генома.

Высокоповторяющаяся фракция генома эукариотов представлена небольшим (10-15) числом семейств коротких (5-12 п.н.) повторов, образующих протяженные блоки. Внутри блоков группы повторов отдельных семейств могут чередоваться друг с другом, так что сателлитная ДНК имеет как бы лоскутную структуру. Эта фракция генома локализована в районах конститутивного гетерохроматина, чаще всего прицентромерного или теломерного районов хромосом и в генетическом отношении является инертной, т.е. не содержат генов. В действительности столь малые последовательности, составляющие сателлитную ДНК, не могут кодировать ничего, кроме олигопептидов. Более того, гетерохроматические районы не транскрибируются. Таким образом, в случае высокочастотных последовательностей ДНК обнаруживается тождество молекулярной организации и генетических свойств хромосомной ДНК эукариотов. Следует отметить, что эта фракция у огромного большинства видов занимает не более 10% генома.

67. Какая часть генома эукариот является кодирующей?

Для генома эукариот характерно наличие различных категорий повторенной ДНК. На основании результатов многих исследований выяснена структура ДНК-повторов, их организация внутри генома, а также проведена классификация повторенных последовательностей ДНК. Уникальные последовательности чаще всего представлены генами. Большинство ДНК-повторов не являются генами, и в действительности функциональное значение многих из них не ясно.

Возникает вопрос, какая часть генома эукариот является функциональными генами? Если суммировать все известные ДНК-повторы генома человека, то получится, что на их долю приходится 40% всей ДНК. Кроме повторов, большое количество одиночных копий ДНК, по-видимому, не кодируют белки. Малая доля такой ДНК называется псевдогенами. Псевдогены представляют собой эволюционные следы дублированных копий функциональных генов, которые в результате мутаций

стали не транслируемыми. В ряде случаев обнаружены копии таких последовательностей ДНК.

Несмотря на то, что количество повторенной ДНК в геномах различных организмов варьирует, по-видимому, во всех геномах эукариот, лишь малая часть ДНК кодирует белки. Так, у морских ежей из 20000-30000 генов, кодирующие белки, составляют 10% генома. У дрозофилы только 5-10% генома содержат гены, кодирующие белки. У человека, по приблизительным оценкам, имеется 30000 функциональных генов, что составляет всего 5% генома.

68. Какие элементы генома называются мобильными?

В 1948 г. американская исследовательница Мак-Клинтон открыла у кукурузы гены перемещающиеся из одного участка хромосомы в другой и назвала феномен транспозицией, а сами гены контролируемыми элементами (КЭ). 1. Эти элементы могут перемещаться из одного сайта в другой; 2. их встраивание в данный район влияет на активность генов расположенных рядом; 3. утрата КЭ в данном локусе превращает прежде мутабельный локус в стабильный; 4. в сайтах, в которых присутствуют КЭ, могут возникать делеции, транслокации, транспозиции, инверсии, а также разрывы хромосом. В 1983 г. за открытие мобильных генетических элементов Барбаре Мак-Клинтон была присуждена Нобелевская премия.

Наличие мобильных элементов в геномах имеет разнообразные последствия:

1. Перемещения и внедрение мобильных элементов в гены может вызывать мутации;
2. Изменение состояния активности генов;
3. Формирование хромосомных перестроек;
4. Формирование теломер;
5. Участие в горизонтальном переносе генов;
6. Транспозоны на основе Р-элемента используют для трансформации у эукариот, клонирования генов, поиска энхансеров и т.д.

У прокариот существуют три типа мобильных элементов – IS-элементы (инсерции), транспозоны, и некоторые бактериофаги. IS-элементы встраиваются в любой участок ДНК, часто вызывают мутации, разрушая кодирующие или регуляторные последовательности, влияют на экспрессию соседних генов. Бактериофаг может вызывать мутации в результате встраивания в геном.

К настоящему времени мобильные элементы открыты у множества видов растений, животных и микроорганизмов. По механизмам транспозиции мобильные элементы делятся на две большие группы. Элементы класса I перемещаются, используя обратную транскриптазу, т.е. на РНК-матрице мобильного элемента синтезируется ДНК. Такие мобильные элементы называют ретротранспозонами. Элементы II класса перемещаются как ДНК-копированные элементы и называются транспозонами. У дрозофилы 9% генома организовано примерно в 50 семейств мобильных элементов. У млекопитающих в составе генома обнаружено несколько классов умеренно повторенных последовательностей: SINE и LINE. В геноме человека SINE широко представлена элементами Alu. Члены этого семейства имеют длину 300 п.н. и повторены в геноме от 300000 до 500000 раз. В геноме человека на долю Alu-повторов приходится 3%. Полагают, что Alu-повторы являются мобильными элементами, скорее всего ретротранспозонами.

69. Какие эксперименты доказывают полуконсервативный механизм репликации ДНК?

В 1957 г. Дж.Тейлор с сотрудниками методом автордиографии исследовали хромосомы в быстро делящихся клетках корневой системы конских бобов (*Vicia faba*). За процессом репликации наблюдали по включению ³H-тимидина - меченого тритием радиоактивного предшественника ДНК. Одно поколение меристематических клеток выросло в присутствии изотопа, а затем бобы перенесли на свежую среду без трития. После второго цикла репликации в немеченой среде меченой оказа-

лась одна из двух синтезированных хроматид, поскольку половина цепей в родительской цепи ДНК не мечена, что доказало полуконсервативный способ репликации ДНК.

В 1958г. М.Мезельсоном и Ф.Сталем был доказан полуконсервативный способ репликации ДНК.

Сущность их опыта состояла в следующем (рис. 7). Бактерии (*E. coli*) на протяжении многих генераций выращивали в среде, содержащей в качестве источника азота только его тяжелый изотоп ^{15}N .

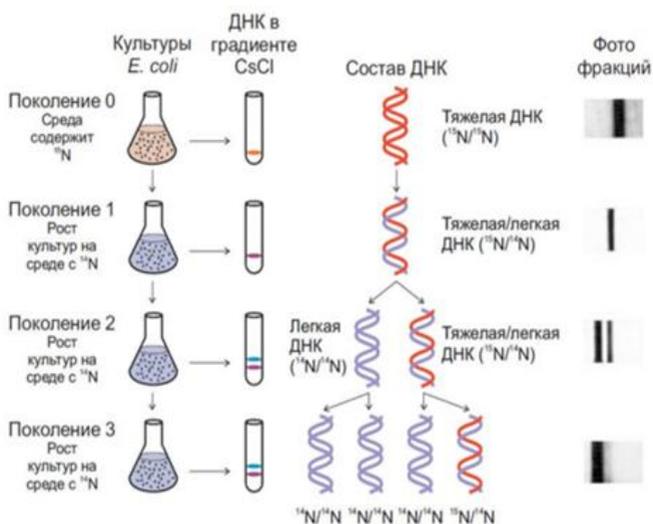


Рис. 7. Схема опытов Мезельсона и Сталля, доказывающих полуконсервативную модель репликации ДНК

Эта метка включалась в азотсодержащие пуриновые и пиримидиновые основания в ДНК, вследствие чего ДНК в клетках, выращенных в среде с ^{15}N , имела большую молекулярную массу на единицу объема (т.е. большую плотность), чем ДНК в клетках, выращенных в обычных условиях, в присутствии легкого изотопа ^{14}N . Поэтому если клетки после длительного выращивания на среде с ^{15}N отмывали и переносили на время, равное одной, двум и т.д. генерациям, в среду с ^{14}N вместо ^{15}N , то это должно было привести к появлению молекул ДНК с меньшей плотностью.

По прошествии одной генерации после переноса из среды с ^{15}N в среду с ^{14}N в клетках появилась гибридная по плотности ДНК, у которой одна цепь была «тяжелой», а другая – «легкой». Если ДНК выделяли из клетки через две генерации после такого переноса, то «гибридная» ДНК составляла лишь половину всей ДНК. В следующем поколении эта «легкая» фракция увеличивалась и составляла 75% тотальной ДНК. Такое изменение можно объяснить только с позиций представления о полуконсервативном способе репликации ДНК.

Сделанный Мезельсоном и Сталем вывод был полностью подтвержден и для других объектов, включая животных и высшие растения.

70. Как происходит репликация ДНК?

Для того чтобы объяснить, каким образом может самокопироваться, или редуцироваться, такая стабильная и замкнутая структура, как двойная спираль ДНК, Уотсон и Крик предположили, что ее цепи способны к раскручиванию и последующему частичному разделению вследствие разрыва водородных связей в каждой комплементарной паре оснований. Образовавшиеся одноцепочечные участки родительской молекулы могут служить матрицей, к которой на основе комплементарности оснований присоединяются соответствующие нуклеотиды. Эти нуклеотиды скрепляются между собой фосфодиэфирными связями с образованием новой цепи, комплементарной родительской. Так как этот процесс происходит на каждой разделившейся цепи исходной молекулы, то в результате образуются две двухцепочечные структуры, идентичные родительской ДНК. Такой способ репликации получил название полуконсервативного, поскольку в каждой из вновь образовавшихся молекул одна цепь является старой (родительской), а другая – вновь синтезированной (дочерней). Этот механизм обеспечивает возможность такого распределения ДНК между делящимися клетками, при котором каждая дочерняя клетка

получает гибридную двухцепочечную молекулу ДНК, состоящую из родительской и вновь синтезированной цепей.

Результаты опытов показали, что раскручивание двух комплементарных цепей родительской ДНК и их полуконсервативная репликация происходят практически одновременно и начинается в общей точке начала репликации, обозначаемой как локус *ori* (от англ. origin – начало).

Антипараллельная структура двух цепей молекулы ДНК создаёт проблемы для репликации ДНК. По мере движения вилки одновременно должны синтезироваться две дочерние цепи. Вилка движется в направлении от 5' к 3' в одной цепи, и от 3' к 5' – на другой. Однако нуклеиновые кислоты синтезируются только от 5' к 3' концу. Проблема решается таким образом, что на одной из родительских цепей новая цепь синтезируется непрерывно в направлении 5'→3' что совпадает с движением вилки репликации. Это лидирующая или ведущая цепь. Другая цепь – отстающая – растёт за счёт синтеза коротких фрагментов также от 5' к 3', однако они синтезируются в направлении, противоположном движению вилки. Короткие фрагменты ДНК (фрагменты Оказаки) объединяются между собой ферментом ДНК-лигазой. В результате обе дочерние нити растут в направлении 5'→3'.

Следует, отметить, что в ДНК эукариот, как правило, обнаруживается не один, а множество локусов *ori*, что, по-видимому, служит необходимым условием для того, чтобы громадные молекулы ДНК в хромосомах эукариот успели полностью отреплицироваться за время одного клеточного цикла.

Эксперименты, проведенные на прокариотах (*E. coli*, фаг T7, некоторые плазмиды), также выявили в их ДНК (скорость репликации которых составляет около 20 мкм/мин, что в 20-30 раз выше, чем у эукариот) не по одному, а по два или даже более локусов *ori*.

71. Какие ферменты участвуют в репликации ДНК?

Принцип комплементарности, заложенный в структуре двойной спирали ДНК, определяет возможность самокопирования генетического материала. Как и большинство других биологических процессов, репликация ДНК обеспечивается координированной работой ряда ферментов.

В 1957 г. Артур Корнберг впервые выделил из клеток *E. coli* фермент, контролирующий синтез ДНК, который был назван ДНК-полимеразой. Он установил, что для синтеза ДНК с участием ДНК-полимеразы необходимы два условия: наличие четырёх дезоксирибонуклеозидтрифосфатов и ДНК-матрицы. ДНК-полимераза I присоединяет нуклеотиды (dATP, dCTP, dGTP и dTTP) к растущей цепи ДНК. В дальнейшем были выделены ещё две другие полимеразы: ДНК-полимераза II и ДНК-полимераза III, сходные по некоторым свойствам с ДНК-полимеразой I. Ни одна из трёх полимераз не участвует в инициации синтеза ДНК на ДНК матрице, но все они могут достраивать комплементарную цепь с участием затравки или праймера. Праймером могут служить молекулы РНК. ДНК-полимераза I наряду с эндонуклеазной активностью, т.е. способностью добавлять нуклеотиды к растущей цепи ДНК в направлении $5' \rightarrow 3'$, обладает $3' \rightarrow 5'$ экзонуклеазной активностью, позволяющей «проверять» правильность вновь синтезированной цепи и удалять неправильно спаренные основания, заменяя комплементарными. ДНК-полимераза II, участвует в репарации повреждённой ДНК, вызванной внешними факторами. ДНК-полимераза III отвечает за полимеризацию цепи ДНК при её репликации и благодаря своей $3' \rightarrow 5'$ активности обеспечивает проверку комплементарности.

ДНК-топоизомеразы обеспечивают локальное расплетание ДНК, необходимое для инициации ее репликации и образования одиночных цепей, служащих матрицами для вновь синтезируемых дочерних молекул. Расплетенная замкнутая кольцевая молекула под действием фермента ДНК-гиразы образует сверхскрученную форму с большим запасом свободной

энергии, расходуемой затем в ходе репликации; ДНК-лигазы, сшивают сахарофосфатный каркас молекулы.

72. Каковы основные свойства генетического кода?

		Второе основание				
		U	C	A	G	
Первое основание (5' - конец)	U	UUU <i>phe</i>	UCU	UAU <i>tyr</i>	UGU <i>cys</i>	U
		UUC	UCC <i>ser</i>	UAC <i>tyr</i>	UGC <i>cys</i>	C
		UUA	UCA <i>ser</i>	UAA <i>Stop</i>	UGA <i>Stop</i>	A
	C	UUG	UCG	UAG <i>Stop</i>	UGG <i>trp</i>	G
		CUU <i>leu</i>	CCU	CAU <i>his</i>	CGU	U
		CUC	CCC <i>pro</i>	CAC <i>his</i>	CGC <i>arg</i>	C
	A	CUA	CCA <i>pro</i>	CAA <i>gln</i>	CGA <i>arg</i>	A
		CUG	CCG	CAG	CGG	G
		AUU	ACU	AAU <i>asn</i>	AGU <i>ser</i>	U
	G	AUC <i>ile</i>	ACC <i>thr</i>	AAC <i>asn</i>	AGC <i>ser</i>	C
		AUA	ACA <i>thr</i>	AAA <i>lys</i>	AGA <i>arg</i>	A
		AUG <i>met</i>	ACG	AAG <i>lys</i>	AGG <i>arg</i>	G
G	GUU	GCU	GAU <i>asp</i>	GGU	U	
	GUC <i>val</i>	GCC <i>ala</i>	GAC <i>asp</i>	GGC <i>gly</i>	C	
	GUA	GCA	GAA <i>glu</i>	GGA <i>gly</i>	A	
	GUG	GCC	GAG	GGG	G	
			GAG	GGG	G	

Рис. 8. Генетический код

Генетическая информация хранится в ДНК в виде трехбуквенного кода и переписывается на РНК в процессе транскрипции. Четыре рибонуклеотида чередуются в молекуле РНК образуя 64 различных триплетных кодона (рис. 8), которые соответствуют 20 различным аминокислотам. Гипотеза о существовании генетического кода, содержащего три нуклеотида в каждом кодоне была предложена физиком

Г.А.Гамовым (1951) и экспериментально доказана М.Ниренбергом и Дж. Маттеи (1961). Генетический код имеет следующие свойства: 1) генетический код универсален (т.е. идентичен в основном для всех живых организмов); 2) триплетен (т.е. каждая аминокислота кодируется тремя нуклеотидами); 3) не перекрывается (т.е. соседние триплеты не имеют общих оснований); 4) не содержит каких-либо разделительных знаков между отдельными триплетами (код без запятых); 5) имеет линейный порядок считывания и характеризуется коли-

неарностью, т.е. совпадением порядка расположения кодонов в иРНК с порядком кодируемых ими аминокислот в синтезирующемся белке; 6) является вырожденным, или избыточным, так как все аминокислоты (за исключением метионина и триптофана) имеют более одного кодона; 7) из трех нуклеотидов кодона преимущественное значение имеют два первых, третий может варьировать; 8) в среднем каждая аминокислота кодируется тремя триплетами; 9) число кодонов для каждой аминокислоты (кроме аргинина) коррелирует с частотой ее встречаемости в белках; 10) частота использования различных кодонов для включения одной и той же аминокислоты может быть видоспецифичной. Для пунктуации генетической информации во время ее трансляции имеют значение пять кодонов. Кодоны АУГ и ГУГ называются иницирующими. Они определяют правильное начало синтеза генного продукта при трансляции иРНК. Эти кодоны располагаются на границе последовательностей иРНК, списываемых с регуляторной и структурной частей гена. Они указывают точку, от которой начинается синтез полипептидной цепи, поскольку регуляторная часть гена не транслируется. Если те же кодоны располагаются в структурной части гена (за редким исключением, связанным с особенностями кода в митохондриях), они теряют свое иницирующее значение и направляют включение метионина или валина соответственно. Помимо двух иницирующих (АУГ и ГУГ) код содержит три терминирующих, или нонсенс (бессмысленных), кодона (УАА, УАГ и УГА), определяющих окончание синтеза полипептидной цепи.

73. Каким образом информация, заложенная в ДНК, реализуется при синтезе белка?

По мере исследования генетического кода стало известно, что конечные продукты многих генов – белки. Сложный многоступенчатый процесс экспрессии генов начинается с переноса на молекулы РНК генетической информации, которая хранится в ДНК. Синтез РНК называется транскрипцией. В ре-

зультате транскрипции ДНК-матрицы нуклеотидная последовательность синтезированной мРНК является комплементарной последовательности одной из цепей ДНК. В свою очередь, каждый кодон иРНК комплементарен антикодону акцепторной тРНК, поэтому аминокислота в составе белка соответствует кодирующей последовательности ДНК. Роль РНК как посредника между ДНК и белком подтверждается несколькими фактами:

1. Как правило, ДНК в ядрах эукариотических клеток находится в хромосомах, но синтез белка происходит на рибосомах в цитоплазме. Поэтому ДНК не участвует непосредственно в синтезе белков.
2. РНК синтезируется в ядре эукариотической клетки, где находится ДНК и имеет сходный химический состав.
3. Синтезированная в ядре РНК переходит в цитоплазму, где происходит синтез белков.
4. Общее количество РНК пропорционально количеству белка в клетке.

Все эти наблюдения свидетельствуют о том, что генетическая информация, записанная в ДНК, передаётся на РНК – посредник (иРНК), с которого и осуществляется синтез белков. Экспериментально это было доказано при исследовании бактерий и фагов. Было показано, что во время инфекции фагов синтез РНК предшествует синтезу фаговых белков и синтезированная РНК комплементарна фаговой ДНК. Эти данные согласуются с наличием в клетках иРНК, которая образуется на матрице ДНК и затем поступает в рибосомы. Таким образом, осуществляется связь между ДНК, находящейся в ядре и рибосомами цитоплазмы.

74. Какие типы РНК встречаются в клетках? Каковы их функции?

Известно три основных типа РНК, функционирующих в клетках: рибосомная РНК (рРНК), информационная или матричная РНК (иРНК, мРНК) и транспортная РНК (тРНК). Все

эти молекулы образуются в процессе транскрипции как копии соответствующих участков ДНК, поэтому их нуклеотидные последовательности комплементарны ДНК-матрице.

Основные типы РНК, обнаруженные в прокариотических и эукариотических клетках, имеют разную длину, массу, плотность и форму. Важнейшую роль в транскрипции выполняют матричные или информационные РНК (мРНК и иРНК). Молекулы иРНК переносят генетическую информацию на рибосомы, где происходит трансляция. Молекулы иРНК разнообразны по нуклеотидному составу и размерам; обычно они крупные, состоят из сотен или тысяч нуклеотидов. иРНК занимает ~3% всей клеточной РНК.

Самые крупные рРНК обычно составляют около 80% всей клеточной РНК. Они являются важными структурными компонентами рибосом на которых в процессе трансляции происходит синтез белков. Функционирующая рибосома состоит из большой и малой субъединиц, построенных из рРНК и белков. Имеется существенная разница в размерах рибосом, числе и размерах субъединиц рРНК между прокариотами и эукариотами.

Аминокислоты доставляются к месту синтеза белка, т.е. в рибосомы посредством транспортных РНК (тРНК). Благодаря малым размерам тРНК (~80 нуклеотидов), с рибосомой взаимодействуют сразу несколько тРНК, что ускоряет транскрипцию. Все тРНК имеют сходную вторичную структуру, напоминающую клеверный лист и образуют сложную пространственную структуру с несколькими петлями. Три участка молекулы тРНК особенно существенны для ее функционирования: 1) участок узнавания фермента, определяющий какая именно аминокислота будет присоединена к данной тРНК; 2) акцепторный участок, к которому прикрепляется аминокислота; 3) антикодон, состоящий из трёх нуклеотидов, участок, определяющий то место в синтезируемой молекуле белка, какое должна занять данная аминокислота. Акцепторный участок одинаков у всех тРНК, находится на конце молекулы и имеет

последовательность ЦЦА: аминокислота прикрепляется к аденину. Участки узнавания фермента и антикодоны разные у различных транспортных тРНК. тРНК занимает 10-15% клеточных РНК.

75. Как осуществляется транскрипция ДНК у прокариотов и эукариотов?

Воспроизводство генетического материала обеспечивается репликацией ДНК, приводящей к ее самокопированию в виде двух идентичных дочерних молекул. Однако проблема химических основ наследственности включает и вопрос о том, каким образом осуществляется гетерокаталитическая функция ДНК, т. е. экспрессия генов.

Сформулированная Ф.Криком так называемая центральная догма молекулярной биологии утверждает, что перенос генетической информации осуществляется: 1) от ДНК к ДНК (путем репликации); 2) от ДНК через информационную, или матричную РНК (иРНК) к белку.

Несмотря на то что в последнее десятилетие на примере РНК-содержащих вирусов была доказана возможность переноса генетической информации в направлении от РНК к ДНК с помощью процесса обратной транскрипции, основным путем экспрессии генов является их транскрипция, т.е. синтез одной цепи иРНК на матрице ДНК, и последующая трансляция этой иРНК на рибосомах, т.е. сборка аминокислот в полипептидную цепь на матрице иРНК. В клетках эукариот процессы транскрипции и трансляции отделены друг от друга в пространстве и во времени, поскольку первый происходит в окруженном ядерной мембраной ядре, откуда синтезированная иРНК поступает в цитоплазму, а затем начинает транслироваться на рибосомах. У прокариот с их расположенной в цитоплазме хромосомой (нуклеоидом) указанные процессы не разобщены, т.е. процессы транскрипции и трансляции сопряжены.

Транскрипция у эукариот происходит в ядре с участием трёх разных форм РНК-полимеразы. В отличие от прокариот,

РНК-транскрипты у эукариот не ассоциируют с рибосомами до завершения транскрипции. Трансляция на иРНК происходит после её выхода из ядра в цитоплазму клетки.

Инициация и регуляция транскрипции связана с последовательностями на 5'-конце ДНК, которые взаимодействуют с белками, принимающими участие в транскрипции.

Первичный РНК-транскрипт подвергается процессингу или созреванию молекулы РНК. Первичные транскрипты (пре-иРНК) намного длиннее зрелых иРНК и локализованы в ядре клетки. В пре-иРНК вырезаются интроны, не несущие генетическую информацию, а оставшиеся экзоны сшиваются, образуя зрелую молекулу иРНК, готовую к транскрипции.

76. Каковы этапы транскрипции?

Различают три этапа транскрипции: инициацию, элонгацию и терминацию.

Инициация. Последовательность ДНК, транскрибируемая в одну иРНК, начинающаяся промотором на 5'-конце и заканчивающаяся терминатором на 3'-конце, является единицей транскрипции и соответствует современному понятию «ген». Контроль экспрессии генов может осуществляться на этапе инициации транскрипции. На этом этапе РНК-полимераза распознает промотор – фрагмент длиной 41-44 п.н. Транскрипция ДНК происходит в направлении 5'→3', или слева направо. Предполагается, что последовательность ТАТА контролирует выбор стартового нуклеотида, а ЦААТ – первичное связывание РНК-полимеразы с ДНК-матрицей.

Элонгация. Стадия элонгации иРНК имеет ряд аналогий с элонгацией ДНК. В качестве предшественников для нее необходимы рибонуклеозидтрифосфаты. Этап элонгации транскрипции, т.е. рост цепи иРНК, происходит путем присоединения рибонуклеозидмонофосфатов к 3'-концу цепи с одновременным освобождением пирофосфата. Копирование у эукариот обычно осуществляется на ограниченном участке ДНК (т.е. в пределах гена), хотя у прокариот в ряде случаев транскрипция

может проходить с одного общего промотора последовательно через несколько сцепленных генов (цистронов), формирующих единый оперон. В таком случае образуется полицистронная иРНК.

Терминация. Транскрипция завершается в специфическом участке ДНК, содержащем терминирующую последовательность. В клетках *E. coli* выявлен особый белок (ро-фактор), повышающий точность терминации. Белок присоединяется к 5'-концу растущей иРНК и продвигается по ней, постепенно приближаясь к ДНК и как бы преследуя РНК-полимеразу. В момент, когда РНК-полимераза останавливается в сайте-терминаторе, фермент захватывается ро-фактором и сбрасывается с ДНК. Терминатор содержит особую последовательность оснований, прочитывающуюся одинаково в обеих цепях ДНК, но в противоположных направлениях. Например,



77. Что такое сплайсинг про-иРНК?

Сравнение структуры ДНК и соответствующей ей иРНК у эукариот привело к открытию прерывистого строения генов. Оказалось, что гены эукариот состоят из экзонов – последовательностей нуклеотидов, представленных в иРНК, и интронов – последовательностей, отсутствующих в иРНК. Отсюда было сделано заключение, что процесс экспрессии генов у эукариот включает этап, которого нет у бактерий: ДНК детерминирует синтез копии РНК, соответствующей последовательностям генома, однако это еще только РНК-предшественник, или пре-иРНК. Непосредственно для образования белка она не используется. Для того чтобы РНК-предшественник превратилась в транслирующуюся иРНК, она должна пройти созревание, или процессинг. Сначала из РНК-предшественника должны вырезаться последовательности, соответствующие интронным участкам. После вырезания интронов оставшиеся последовательности РНК, соответствующие экзонам в ДНК, объеди-

няются между собой с образованием зрелой иРНК. Этот процесс называют сплайсингом (сшиванием). В результате сплайсинга иРНК остается лишь 1/10 первоначального транскрипта. В некоторых случаях в аминокислотные последовательности транслируются не все существующие экзоны. В результате с одного гена считывается более одного типа иРНК. Наличие альтернативного сплайсинга может объяснять кажущееся несоответствие между числом генов и сложностью организма, поскольку один ген может давать много разных транскриптов. Сплайсинг происходит в особых структурах, называемых сплайсосомами и состоящих из пре-мРНК, связанной с частями малых ядерных рибонуклеопротеинов.

78. Какую структуру имеют белки?

Полипептиды – это предшественники белков, они образуются на рибосомах в процессе трансляции. После выхода из рибосомы полипептид формирует более сложную структуру, а затем трёхмерную конформацию. Трёхмерная конформация образована несколькими молекулами полипептидов, она функционально активна и называется протеином, или белком.

Полипептидные цепи представляют собой линейные неразветвленные молекулы, построенные из 20-ти аминокислот. Каждая аминокислота содержит карбоксильную группу и аминогруппу, а также радикал (R).

Известно 4 уровня организации белковой структуры: первичная, вторичная, третичная и квадратичная. Порядок взаимного расположения аминокислот в полипептидной цепи характерен и постоянен для каждого белка и представляет первичную структуру белковой молекулы. Существование водородных связей между NH- и CO-группами разных аминокислот полипептидной цепи приводит к тому, что она может свёртываться в так называемую альфа-спираль, в основном определяющую вторичную структуру белковой молекулы.

Альтернативная форма вторичной структуры полипептидной цепи образует β-складчатые слои. Как правило, боль-

шинство белков содержат смесь α -спиральных и β -складчатых структур.

Между цистеинами, входящими в состав полипептидной цепи, образуются дисульфидные мостики (S-S), связывающие два цистеиновых остатка друг с другом. Это, а также возникновение водородных связей приводит к тому, что молекулы многих белков имеют сложную третичную структуру, в которой полипептидная цепь свернута определённым специфичным для каждого белка образом.

Наконец, глобулярные белки, например, ферменты могут состоять из нескольких тождественных или различных цепей, стабильно соединённых друг с другом дисульфидными мостиками. Такие белки называются олигомерами, а входящие в их состав цепи протомерами, или субъединицами. Отдельные субъединицы в молекуле белка комплементарны друг другу. Особенно хорошо изучена структура молекулы олигомерного белка гемоглобина, состоящая из четырёх субъединиц. Четвертичная структура характерна для большинству ферментов, включая ДНК- и РНК-полимеразы.

79. Какие функции выполняют белки?

Разнообразие клеточных функций отражает многообразие жизни на Земле. Если ДНК и РНК служат для хранения и экспрессии генетической информации, то белки являются основой функционирования клеток. Являясь конечными продуктами генов, белки выполняют различные функции. Белки гемоглобин и миоглобин участвуют в переносе кислорода. Коллаген и кератин – структурные белки соединительной ткани, кожи и волос, актин и миозин – сократительные белки мышечной ткани. Иммуноглобулины осуществляют защитные функции, различные транспортные белки участвуют в прохождении молекул через мембраны. Гормоны и их рецепторы регулируют химическую активность в клетках, а гистоны участвуют в организации хромосом.

Большая группа белков относится к ферментам, или энзимам. Молекулы ферментов служат катализаторами химических реакций, протекающих в живых клетках. Каталитические ферменты высоко специфичны и в значительной степени, определяют метаболизм клеток. Метаболизм клетки во многом зависит от катаболических или анаболических реакций, которые катализируют ферменты. Катаболизм – это распад крупных макромолекул на небольшие молекулы, сопровождающийся выделением энергии. Анаболизм – синтез различных клеточных компонентов нуклеиновых кислот, белков, липидов и углеводов. Многие ферменты вовлечены в генетические и клеточные процессы.

80. Что такое трансляция?

Трансляция - это синтез полипептидных цепей на рибосомах клетки, направляемый иРНК. При трансляции строятся последовательности аминокислот, соответствующие закодированным в генах последовательностям ДНК и образуются молекулы полипептидов.

В раскрытии механизма трансляции важную роль сыграла предложенная Криком (1958) гипотеза, согласно которой распознавание аминокислот в процессе синтеза белка происходит не прямо путем взаимодействия между ними и соответствующими кодонами в иРНК, а с участием промежуточных молекул – адаптеров. Такими молекулами оказались тРНК. Эти небольшие (4S) молекулы длиной 75-85 нуклеотидов имеют характерную вторичную структуру в форме листа клевера.

Биосинтез белка осуществляется путём трансляции иРНК рибосомами – структурами, локализованными у эукариот в цитоплазме, часто на разветвлённой внутриклеточной мембранной сети, называемой эндоплазматическим ретикулумом. У прокариот рибосомы разбросаны по всей клетке. Рибосомы состоят примерно из 50 белков и 3–5 молекул рРНК, различающихся по молекулярной массе. Размер рибосом обычно обозначают в единицах Сведберга (S), отражающих скорость их

осаждения при центрифугировании. Независимо от происхождения рибосомы состоят из большой и малой субъединиц. У *E. coli* рибосомы имеют коэффициент седиментации 70S, а более крупные рибосомы эукариот – 80S. Поскольку в клетках как про-, так и эукариот число рибосом очень велико, гены кодирующие рРНК, представлены в ДНК во многих копиях. Так, у *E. coli* имеется по 5-10 копий таких генов, локализованных в трех различных районах хромосомы. У эукариот гены, кодирующие синтез рРНК, представлены в сотнях и даже тысячах копий и тандемно повторяются (т.е. расположены непосредственно друг за другом) в районе ядрышкового организатора определенных хромосом либо сгруппированы в виде тандемных повторов в других участках генома. В результате исследований предложена трехмерная модель тРНК. На одном конце молекулы имеется антикодонавая петля и антикодонавый стебель, формирующие шпильку, а на другом конце - 3' акцепторный участок связывания аминокислоты. Считается, что форма этих петель важна для узнавания молекулы тРНК ферментом, присоединяющим аминокислоту.

«Распознавание» кодона антикодоном контролируется рибосомами. Рибосомы движутся вдоль иРНК в направлении 5'-3', считывая кодоны путём присоединения к ним аминокислот-тРНК, несущих соответствующие антикодоны. К каждой иРНК присоединяется одновременно несколько рибосом, располагающихся вдоль её молекулы на расстоянии примерно 90 нуклеотидов друг от друга. Такой трансляционный комплекс называют полирибосомой или полисомой. У бактерий полисомы намного крупнее, чем у эукариот. Это, в частности, связано с тем, что у прокариот иРНК имеют большую длину (особенно в случае полицистронной иРНК). Присоединение рибосом к иРНК происходит до окончания транскрипции. У *E. coli* каждая иРНК транслируется сразу 30 рибосомами в отрезке времени между её транскрипцией и деградацией. У эукариот обычно к одной иРНК присоединяется менее 10 рибосом одновременно.

В среднем у обеих групп организмов полисомы соответствуют величине синтезируемого полипептида.

81. Каковы этапы трансляции?

Процесс трансляции подразделяют на три стадии: инициацию, элонгацию и терминацию. Стадия инициации включает все реакции, осуществляющиеся до формирования пептидной связи между первыми двумя аминокислотами. У *E.coli* от инициации транскрипции гена до появления в клетке его иРНК проходит $\approx 2,5$ мин., а соответствующего белка – еще ≈ 30 с. Инициация синтеза полипептидной цепи происходит в момент формирования комплекса между иРНК, 30S субъединицей рибосомы и формилметионил-тРНК.

Инициация трансляции у эукариот имеет свои особенности, во-первых, за счёт появления на 5' конце зрелой мРНК кэпа (белок-активатор) – эффективность трансляции эукариотической мРНК выше, чем у прокариот. Для инициации трансляции у эукариот не требуется формилметионин, а триплет AUG, кодирующий метионин, используется для формирования трансляционного комплекса.

В трансляции участвуют белки, сходные или гомологичные факторам инициации, элонгации и терминации у прокариот. Однако, на каждой стадии трансляции у эукариот действует большее число более сложных по структуре факторов.

Стадия элонгации включает все реакции от момента образования первой пептидной связи до присоединения к синтезирующемуся полипептиду последней аминокислоты. У прокариот этап элонгации идет очень быстро; как отмечалось, при 37°C в полипептид за 1 с. включается в среднем 15 аминокислот. Следовательно, если исходить из того, что средний размер гена составляет 1000 п.н., синтез кодируемого им белка из 300 аминокислот осуществляется всего за 20 с. При этом в синтезе белка участвует одновременно до 80% всех клеточных рибосом. У эукариот скорость синтеза белка существенно ниже: за 1 с. при 37°C в цепь включаются лишь ≈ 5 аминокислот.

Многokратное повторение стадий элонгации приводит к росту полипептидной цепи. Когда она удлиняется до 30 аминокислотных остатков, то происходит постепенный выход полипептида из большой субъединицы через специальный канал. Роль малой субъединицы заключается в «расшифровке» триплетов иРНК, в то время как большая субъединица связывает аминокислоты в полипептидную цепь.

На стадии терминации трансляции полностью синтезированный полипептид освобождается от концевой тРНК, а рибосомы отходят от иРНК. Имеется три стоп кодона: UAG, UAA, UGA. Эти кодоны не кодируют аминокислот и называются терминирующими или нонсенс-кодонами. Сформировавшийся в ходе трансляции полипептид полностью соответствует (колинеарен) кодирующему его гену. Это означает, что первые три нуклеотида структурной части гена соответствуют кодируемой ими первой аминокислоте в образующемся под контролем данного гена полипептида, вторые три нуклеотида соответствуют второй аминокислоте в том же полипептиде и т.д. Прямые доказательства колинеарности были получены тогда, когда появилась возможность сравнения нуклеотидных последовательностей в отдельных генах с аминокислотными последовательностями в белках.

82. Какие основные методы используются для изучения структуры нуклеиновых кислот?

Различные методы структурного анализа ДНК лежат в основе исследований её функций. Наиболее важными из них являются методы молекулярной гибридизации, метод кинетики реассоциации и электрофорез нуклеиновых кислот.

В основе методов молекулярной гибридизации лежит способность нуклеиновых кислот к обратимой денатурации. Если между молекулами имеется определённая степень гомологии, то при соответствующей температуре одиночные цепи, происходящие от разных молекул, могут объединяться в новую молекулу. Таким образом, между ДНК разных видов, между

ДНК и РНК образуются гибридные молекулы. Гибридизация двух ДНК свидетельствует о сходстве их последовательностей.

Принцип молекулярной гибридизации лежит в основе метода кинетики реассоциации. Уже в первых опытах по кинетике реассоциации ДНК эукариотов обнаруживалось, что некоторые фрагменты ДНК реассоциируют намного быстрее, чем другие. Было установлено, что быстро реассоциирующие фракции ДНК, представлены повторяющимися последовательностями ДНК. Фракция ДНК, представленная однокопийными последовательностями ДНК (уникальные гены) реассоциирует намного медленнее. Повторяющаяся ДНК, представленная множеством копий, характерна для геномов эукариот. При этом некоторые короткие последовательности ДНК повторяются свыше миллион раз, более длинные последовательности повторены несколько раз. Открытие повторяющейся ДНК привело к выводу, что большая часть ДНК у эукариот не относится к генам, кодирующим белки и выполняет другие функции.

С помощью метода электрофореза можно разделить фрагменты ДНК или РНК разной длины. Под действием электрического поля молекулы мигрируют в геле. Молекулы с меньшим зарядом мигрируют к полюсу с противоположным зарядом медленнее, а с большим - быстрее. Чем меньше молекулы, тем быстрее они движутся. После завершения электрофореза разделённые фрагменты идентифицируют с помощью автордиографии, или флуоресцентного красителя, который связывается с ДНК в геле.

МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕКОМБИНАЦИИ У БАКТЕРИЙ

83. Какова роль исследований по генетике микроорганизмов в развитии генетики?

Генетика микроорганизмов зародилась в 1940 г., когда Г.Бидл и Э.Татум поставили классические эксперименты по получению и анализу индуцированных мутаций у гриба *Neurospora crassa*. Эти опыты позволили сформулировать концепцию «один ген – один фермент» и положили начало современной биохимической генетике. Вскоре в круг объектов генетических исследований были включены и другие микроорганизмы – прокариоты (бактерии, синезеленые водоросли), эукариоты (грибы и водоросли) и вирусы, в первую очередь вирусы бактерий – бактериофаги.

Благодаря этим исследованиям на микроорганизмах была установлена роль ДНК как генетического материала, выяснены тонкая структура генов и принципы регуляции их действия, расшифрована общая природа генетического кода, раскрыты многие молекулярные механизмы репликации, рекомбинации, репарации и мутагенеза ДНК.

Исследования по генетике микроорганизмов в значительной мере способствовали возникновению новых отраслей биологии (молекулярной биологии, молекулярной генетики, вирусологии, биотехнологии) и новых аспектов классических биологических наук (изучение эволюции и систематики различных видов путем сравнения структурной организации их генов и генных продуктов, исследование молекулярных механизмов канцерогенеза и старения; изучение возможности межвидового обмена генетическим материалом в природе и т.д.). Важное значение имеет генетика микроорганизмов и для медицины. С ее помощью расшифрованы многие молекулярные механизмы патогенности микробов и их устойчивости к лекарст-

венным препаратам, причины появления атипичных форм патогенных бактерий. Углубленное изучение генетики микроорганизмов позволило использовать их в качестве тест-систем для выявления факторов загрязнения окружающей среды. Наконец, достижения молекулярной генетики микроорганизмов, открытые ею закономерности, ее идеи и методы легли в основу наиболее современного направления биологической науки — генной инженерии.

В настоящее время из огромного числа существующих в природе бактерий генетически изучено сравнительно немного. К наиболее исследованным в этом отношении объектам относятся кишечная палочка (*Escherichia coli*), непатогенный для человека возбудитель мышинного тифа (*Salmonella typhimurium*), различные виды бактерий из рода *Pseudomonas*, вступающие в симбиоз с растениями, бактерии из семейства *Rhizobiaceae*, непатогенный сапрофит сенная палочка (*Bacillus subtilis*), некоторые виды стрептококков и стафилококков, способные к фиксации атмосферного азота, различные фотосинтезирующие азотфиксаторы, включая цианобактерии, и некоторые другие. Генетические исследования проводят и на актиномицетах, из которых многие являются продуцентами широко используемых антибиотиков.

84. Как устроена генетическая система микроорганизмов?

В цитоплазме бактерий, заполняющей полость клетки, ограниченную цитоплазматической мембраной, содержатся мезосомы, рибосомы, плазмиды и нуклеоид. Здесь же присутствуют растворимые белки, например, белки-репрессоры различных индуцируемых оперонов, многие ферменты.

Нуклеоид бактерий и других прокариот представляет собой эквивалент ядра клетки эукариот. Он не окружен мембраной, отделяющей у эукариот ядро от цитоплазмы, а расположен в виде компактной массы в центре клетки, занимая свыше 1/3 ее объема. В состав нуклеоида входят ДНК, РНК и белки. Чис-

ло нуклеоидов в бактериальной клетке может варьировать от одного (в культурах, находящихся в стационарной фазе роста) до двух (в стадии задержки размножения после переноса клеток в свежую среду) и четырех (в культурах с постоянной скоростью роста). Каждый нуклеоид содержит двухцепочечную замкнутую в кольцо молекулу ДНК с $M_r (1-3) \cdot 10^9$. В молекуле ДНК нуклеоида закодирована вся генетическая информация, необходимая для жизнедеятельности клетки, поэтому нуклеоид рассматривают как бактериальную хромосому. Кольцевое строение бактериальной хромосомы было доказано Дж.Кэрнсом (1963) методом радиоавтографии. Гигантская молекула ДНК бактериальной хромосомы поддерживается связанными с ней молекулами РНК и белка в форме компактной структуры, свернутой в отдельные сверхспирализованные петли (домены), число которых колеблется от 12 до 80. Типичная бактерия содержит около 10^{-11} мг ДНК или $2 \cdot 10^7$ нуклеотидов с общей длиной 1100 мкм, что в 1000 раз превышает длину самой бактериальной клетки.

Помимо хромосомной ДНК в состав генома многих прокариот входят также сверхскрученные, ковалентно-замкнутые кольцевые молекулы внехромосомной, или плазмидной ДНК, по величине составляющие в среднем около 1/100 бактериальной хромосомы.

Распределение (сегрегация) ДНК хромосом и плазмид между делящимися клетками происходит без видимой реорганизации внутренней структуры, характерной для митозов у эукариот, и без образования веретена. Данные электронно-микроскопического исследования спорообразующих бацилл показывают, что нуклеоид прикреплен к мезосоме — структуре, сформированной путем впячивания цитоплазматической мембраны в цитоплазму. Подобные прикрепления к участкам мембраны характерны и для плазмид на определенных стадиях клеточного цикла. После окончания репликации ДНК хромосом и плазмид отреплицированные дуплексы разделяются благодаря разрастанию мембраны между участками присоеди-

ния двух молекул ДНК, образовавшихся в процессе репликации. Молекулы ДНК расходятся к полюсам клетки, которая затем разделяется на две дочерние.

85. Как происходит рекомбинация у микроорганизмов?

Содержащаяся в бактериях генетическая информация заключена в хромосоме, состоящей из нескольких тысяч генов, и во внехромосомных ДНК-плазидах. У бактерии отсутствует митоз и мейоз, связанные с клеточным делением и гаметогенезом, как у эукариот. Тем не менее, бактерии имеют три возможности для обмена генетическим материалом. Отличия между ними заключаются в способе, которым ДНК переносится между клетками. При трансформации одна бактерия (реципиент) поглощает ДНК другой бактерии (донор). При трансдукции гены донора переносятся к реципиенту бактериофагом. При конъюгации перенос ДНК донора к реципиенту осуществляется в результате прямого контакта между бактериями.

Независимо от того, как происходит перенос генетического материала у бактерий – трансформацией, трансдукцией или конъюгацией – формирование рекомбинантного потомства связано со стабильной интеграцией экзогеноты (гена или группы генов донора) с эндогенотой (геномом реципиента), обуславливающей возможность наследования этой новой генетической информации в ряду поколений.

Исходная структура для образования рекомбинантной хромосомы – мерозигота, т.е. реципиентная клетка, получившая фрагмент хромосомной ДНК донора.

Процесс формирования рекомбинантов состоит из нескольких этапов: 1) пресинапса, или узнавания гомологичных участков; 2) синапса, или спаривания, переносимого фрагмента ДНК донора с хромосомой реципиента; 3) собственно рекомбинации, или интеграции; 4) сегрегации, или выщепления, различных рекомбинантных клонов в процессе клеточного деления.

86. Что такое трансформация?

Трансформация – это перенос генетического материала от одного организма другому. Посредством генетической рекомбинации часть трансформирующей молекулы ДНК может обмениваться с частью хромосомной ДНК донора. В 1928 г. Ф.Гриффитс в опытах с различными штаммами пневмококков показал, что существует «трансформирующее начало», превращающее одни клетки в другие. В 1944 г. О.Эвери, К.Мак-Леод и М.Мак-карти установили, что именно ДНК, а не белок является наследственным материалом.

Процесс трансформации можно разделить на несколько стадий: 1) обратимое присоединение молекул двухцепочечной ДНК к рецепторным сайтам на поверхности клетки реципиента (на этой стадии ДНК донора чувствительна к разрушению ДНК-азой); 2) необратимое поглощение ДНК донора (с этого времени процессу трансформации нельзя помешать обработкой ДНК-азой); 3) превращение двухцепочечной ДНК донора в одноцепочечные фрагменты под действием клеточных нуклеаз; 4) ковалентное присоединение (интеграция) одноцепочечной ДНК донора к хромосоме реципиента; 5) сегрегация и фенотипическая экспрессия интегрированного гена донора (или генов) в рекомбинантной трансформированной клетке.

Важное условие способности клетки к трансформации – развитие у неё особого физиологического состояния, называемого компетентностью. Внехромосомная ДНК может проникнуть в компетентные клетки, несущие на своей поверхности несколько рецепторов.

Условиями, существенными для присоединения ДНК к компетентным клеткам, являются ее размеры (M_r не менее 3×10^5 ; по этой причине ДНК, разрушенная ДНК-азой, не обладает трансформирующей активностью) и интактность двухцепочечной структуры. Одноцепочечная ДНК может присоединяться к клеткам, но характеризуется очень низкой трансформирующей способностью вследствие своей высокой чувствительности к деградирующему действию клеточных нуклеаз.

Минимальная длина цепочки ДНК, способной интегрировать в реципиентную хромосому, составляет около 500 нуклеотидов. Однако обычно в рекомбинации участвуют ДНК донора длиной около 200 тыс. нуклеотидов или 1/200 всей бактериальной хромосомы.

После поступления фрагмента ДНК в бактериальную клетку одна из нитей двуспиральной молекулы разрушается нуклеазами, а другая участвует в трансформации. Оставшаяся нить ДНК образует синапсис с гомологичным участком хромосомы и рекомбинирует с ним. Замещенный участок бактериальной хромосомы деградирует.

Трансформацию используют в экспериментах для определения порядка генов, расстояний между ними в молекуле ДНК и построения генетических карт.

87. Что такое трансдукция?

Трансдукцией называется перенос ДНК из одной клетки (донора) в другую (реципиент) с помощью бактериофагов. Этот способ генетического обмена был открыт в 1952 г. Н.Зиндером и Дж.Ледербергом в отношении штаммов *Salmonella* и фага P22. С тех пор возможность трансдукции была подтверждена на различных бактериях и фагах. Различают три типа трансдукции: общую (или неспецифическую, генерализованную), ограниченную (или специфическую) и abortивную.

В случае общей трансдукции фрагменты бактериальной ДНК донора могут случайно включиться в созревающую фаговую частицу вместе с фаговой ДНК или даже вместо нее. Это ведет к образованию трансдуцирующих частиц дефектного фага, утратившего часть своего генома. При таком типе трансдукции в головку фага может упаковываться бактериальная ДНК длиной 1/50-1/100 от всей хромосомы, т.е. имеющая $Mg(2,5-5,0) \cdot 10^7$. При ограниченной трансдукции происходит рекомбинация между фаговой и хромосомной ДНК, поэтому фаговые трансдуцирующие частицы обязательно содержат ДНК обоих типов. При abortивной трансдукции трансдуцируемый фагом фрагмент ДНК донора не включается в хромосому клет-

ки-реципиента, а остается в ее цитоплазме и в таком виде способен поддерживаться и проявляться фенотипически. Во время деления этот фрагмент передается только одной из двух дочерних клеток, т.е. наследуется однолинейно. В конечном итоге он утрачивается в потомстве, однако с помощью абортивной трансдукции можно установить, относятся ли мутации, контролирующие потребность в каком-либо веществе, к разным цистронам или к одному и тому же. т.е. провести цис-транс-тест.

88. Что такое конъюгация?

Основу генетического анализа составляет изучение рекомбинации или перераспределения наследственной информации донорного и реципиентного организмов. Необходимая предпосылка рекомбинации у эукариот – слияние двух гаплоидных гамет с образованием диплоидного ядра – зиготы. Дж.Ледерберг и Э.Татум (1946) обнаружили, что у бактерий также существует половой процесс в форме прямого переноса генетического материала от одной бактериальной клетки (донора) к другой (реципиенту) при их непосредственном контакте. Этот процесс назван конъюгацией. Во время конъюгации от двух до 10 и более донорных и реципиентных клеток образуют агрегаты скрещивания. Их формированию способствуют половые ворсинки (пили), находящиеся на наружной поверхности доноров. Втягивание таких ворсинок внутрь донорной клетки после их присоединения к специфичным рецепторам на поверхности реципиента как бы подтягивает его к донору и способствует пристеночному контакту конъюгирующих бактерий. Некоторые типы пилей представляют собой полые цилиндры, служащие каналом для переноса ДНК от донора к реципиенту. Как и в случаях трансформации и трансдукции, генетический материал при конъюгации переносится в одном направлении – от донорных клеток к реципиентным. Способность бактерий быть донорами при конъюгации определяется присутствием в них внехромосомных ДНК – плазмид особого типа, называе-

мых половыми факторами. Половые факторы несут гены, контролирующие образование пилей и способность к переносу самих этих факторов, а также бактериальной хромосомы и (или) других плазмид, не являющихся половыми факторами. Первый половой фактор – плазмиду F (от англ. fertility – плодовитость) обнаружил У.Хейс (1952). Он выявил, что штаммы *E. coli* K12 дифференцированы по половому признаку. Одни, содержащие фактор F, переносят ДНК. Их обозначают как донорные, или мужские. Другие штаммы не несут F-фактор и воспринимают ДНК, передающуюся от донора. Такие штаммы называют реципиентными или женскими.

89. Какие половые типы обнаружены у бактерий?

Конъюгация связана с присутствием в цитоплазме бактериальной клетки F-фактора. Два половых типа, обнаруженные у бактерий, обозначены F^+ клетки (fertility, доноры) и F^- -клетки (реципиенты). Бактерия – реципиент получает от донора часть ДНК, которая встраивается в её хромосому. Установлено, что контакт между клетками происходит в самом начале конъюгации и заканчивается передачей F-фактора, или полового фактора. F-фактор может находиться в мужской клетке в двух альтернативных состояниях: в автономном, когда он реплицируется независимо от хромосомы, и в интегрированном, когда он ковалентно присоединён к хромосомной ДНК (рис. 9).

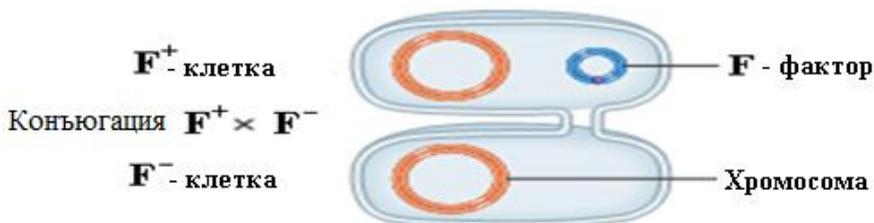


Рис. 9. Конъюгация между F^+ и F^- клетками

Анализ структуры F-фактора показал, что он состоит из кольцевой двуцепочечной ДНК и занимает около 2% от длины бактериальной клетки. Такие самореплицирующиеся молекулы

называются плазмидами или эписомами. Оказалось, что F-фактор, кроме других генов, содержит 19 генов, продукты которых участвуют в переносе генетической информации в клетки реципиента. Некоторые из этих генов кодируют белки пилей-структур, напоминающих трубочки, которые расположены на поверхности F⁺ клеток.

Во время конъюгации перенос F-фактора включает образование цитоплазматического мостика – конъюгационной трубки между клетками (рис. 10).



Рис. 10. Электронная микрофотография конъюгации между F⁺ и F⁻ клетками *E.coli*

Итак, клетки бактерий, содержащие F-фактор, служат донорами генетической информации и передают фактор фертильности клеткам-реципиентам, в которых F-фактор отсутствует.

90. Какие мигрирующие генетические элементы (МГЭ) встречаются у бактерий?

К МГЭ относятся IS-элементы (от англ. insertion – вставочные последовательности) и транспозоны способные к перемещению (транспозиции) в пределах одной молекулы ДНК либо из одной молекулы ДНК в другую. МГЭ опосредуют ре-

комбинацию между негомологичными ДНК, в которых эти элементы находятся, а также обуславливают интеграцию плазмиды с хромосомой. Общая длина IS-элементов в среднем составляет 700-1500 п.н. Они не содержат генов, не связанных собственно с процессом транспозиции, но несут на концах инвертированные повторы длиной 8-40 п.н. Число IS-элементов в геноме различных видов бактерий и даже отдельных бактериальных штаммов колеблется от 0 до 20.

IS-элементы имеют три важных свойства: 1) при перемещениях могут инактивировать гены или нарушить их регуляцию; 2) способны индуцировать все виды хромосомных перестроек – нехватки, дупликации, инверсии, транслокации, слияние и разрывы репликонов; 3) могут приводить к образованию транспозонов.

В отличие от IS-элементов транспозоны, или Tn-элементы, состоят из генов, необходимых для собственно транспозиции, из структурных генов, определяющих функции, не связанные с самим процессом транспозиции, и из концевых прямых либо инвертированных повторов в виде IS-элементов или иных, более коротких последовательностей, необходимых для транспозиции. Входящие в состав транспозонов структурные гены кодируют устойчивость к разным антибиотикам, солям металлов, реже это могут быть гены утилизации некоторых источников углерода, синтеза токсинов и др. Один и тот же транспозон иногда может содержать целый набор генов резистентности. Включившись в состав конъюгативных либо неконъюгативных, однако мобилизуемых плазмид, такие транспозоны быстро распространяются в природе и особенно в больничных условиях, что препятствует эффективному использованию многих антибиотиков в лечебных целях.

Транспозонсодержащие плазмиды переносятся между клетками не только путем конъюгации, но и трансформации *in vivo*, т.е. в организме животных. В этом случае повышается вероятность межвидового перемещения плазмид, причем структурные гены транспозонов обычно способны проявляться в но-

вых хозяевах. Создается основа для включения гомологичных генов в состав плазмид и хромосом различных неродственных бактерий. В этом процессе могут участвовать и трансдуцирующие фаги. Помимо собственных генов МГЭ их функционирование регулируется рядом генов бактерий, присутствующих в плазидах или в хромосоме. Некоторые из этих генов влияют на точное вырезание транспозонов, другие — на индукцию делеций, обусловленную IS и Tn-элементами, третьи — на частоту транспозиции.

Общая особенность всех МГЭ — образование дупликаций из 5-12 коротких нуклеотидных последовательностей в местах их внедрения. Подобные дубликации происходят вследствие удвоения участка ДНК, в который вставляется МГЭ. Размер дубликации специфичен для каждого IS- или Tn-элемента и определяется структурой их концевых инвертированных повторов. В основе таких дубликаций лежат «ступенчатые» разрывы цепей ДНК в сайтах-мишенях. Встраивание внутрь этого перекрывающегося участка МГЭ приводит к формированию одноцепочечных брешей строго определенного размера, которые затем достраиваются репаративной системой. Это ведет к появлению дубликации, внутри которой встроены МГЭ.

91. Что такое бактериофаги? Какова их структура и жизненный цикл?

Бактериофаги, или фаги — это бактериальные вирусы, участвующие в передаче генетической информации путем трансдукции.

Вирусы бактерий - бактериофаги, или фаги могут быть разделены на два класса - вирулентные и умеренные. Среди вирулентных фагов наиболее изучены - семь фагов T-группы (от англ. type – тип), в свою очередь, включающие подгруппы T-четных (T2, T4, T6) и T-нечетных (T1, T3, T5, T7). Фаги T-группы паразитируют на клетках *E.coli*. Независимо от принадлежности к определенной группе жизненный, или литический, цикл вирулентных фагов включает пять стадий: 1)

адсорбцию фага на поверхности бактериальной клетки; 2) проникновение фаговой ДНК (или РНК в случае РНК-содержащих бактериофагов) внутрь клетки; 3) внутриклеточное развитие (репродукция фаговых ДНК или РНК внутри клетки); 4) созревание (сборка зрелых фаговых частиц); 5) лизис клеток. Все эти процессы происходят достаточно быстро. Так, одна частица фага Т4 при заражении клеток *E. coli* уже через 20-25 мин. образует 200-400 частиц фагового потомства.

Структуру и химический состав фагов можно рассмотреть на примере внешне не отличающихся друг от друга фагов Т-четной группы, имеющих сперматозоидную форму. Они состоят из головки гексагональной формы и отходящего от нее хвостового отростка. В головке фага находится молекула ДНК, окруженная белковой оболочкой. Хвостовой отросток обеспечивает прикрепление фаговой частицы к бактерии. Отросток состоит из полого стержня диаметром около 2,5 нм, окруженного полым футляром, или чехлом, способным к сокращению. Один конец стержня прикреплен к головке, другой – к шестиугольной базальной пластинке, от которой отходят короткие зубцы с длинными нитями на концах. Длина всего фага от конца хвостового отростка до вершины головки составляет около 200 нм, ширина головки – около 50-60 нм. Белковая оболочка головки фага, называемая капсидом, а также футляр отростка состоят из упорядоченных полипептидных субъединиц. Сокращение футляра позволяет стержню отростка проникнуть сквозь клеточную оболочку и «впрыснуть» фаговую ДНК в клетку. При этом белковая оболочка фага остается снаружи. Избирательность проникновения в клетку фаговой ДНК была продемонстрирована А.Херши и М.Чейз.

У Т-четных фагов упакованная в фаговой головке ДНК состоит примерно из 200 тыс. п.н., образующих около 100 генов, и имеет длину 34 мкм, что в сотни раз превышает длину самой головки.

ДНК фагов, как и вирусов животных, различается по структуре. Она может быть одноцепочечной: линейной (парвовирус) или кольцевой (фаги φX174); двухцепочечной: линейной (фаг T7), с одноцепочечными разрывами (фаг T5), с замкнутыми концами (вирус оспы) и ковалентно-замкнутой кольцевой сверхспирализованной (паповавирус).

Во многих исследованиях бактериофаги используются в качестве модельных систем молекулярной генетики, анализе рекомбинаций и структуры гена, могут служить основой генетического картирования.

92. Каковы особенности и значение плазмид?

Плазмиды, в частности, F-фактор, представляют собой автономно реплицирующиеся молекулы ДНК, которые находятся в цитоплазме бактериальной клетки. Плазмиды несут уникальные гены, например, гены устойчивости к антибиотикам, а также гены, обеспечивающие перенос ДНК во время конъюгации бактерий. Наиболее часто встречаются плазмиды с генами устойчивости к тетрациклину, стрептомицину, ампициллину, сульфаниламидным препаратам, каналицину и хлорамфениколу (рис. 11). Плазмиды, содержащие F-фактор, определяют фертильность. Кроме того, плазмиды кодируют белки-колицины, очень токсичные для бактерий, не содержащих эти плазмиды.

Во многих случаях носительство плазмид для клеток не обязательно и их утрата не влияет на жизнеспособность бактерий-хозяев. В других случаях, связанных, например, с изменениями внешней среды, их присутствие в клетке – условие выживания не только отдельной бактерии, но и бактериальной популяции в целом.

С помощью физических методов показано, что ДНК F-фактора и других бактериальных плазмид представляет собой двухцепочечную ковалентно-замкнутую кольцевую (КЗК) молекулу, имеющую к тому же сверхскрученную конфигурацию.

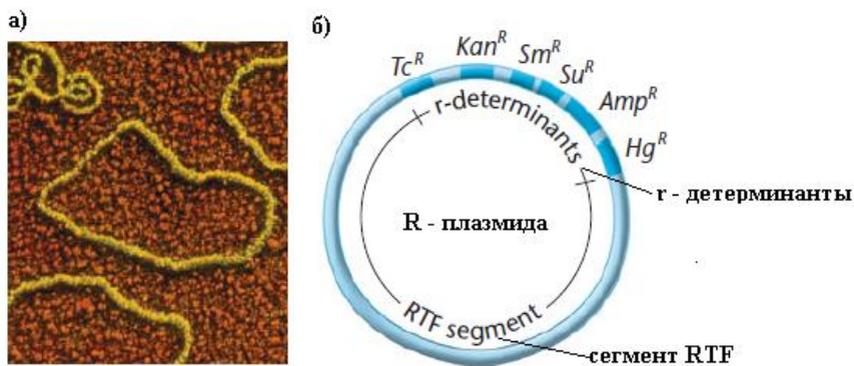


Рис. 11. Электронная микрофотография (а) плазмиды, выделенной из бактерии *E.coli*. (б) R-плазмида, содержащая факторы переноса устойчивости и факторы множественной лекарственной устойчивости (γ-детерминанты) к тетрациклину (Tc), канамицину (Kan), стрептомицину (Su), ампициллину (Amp) и ртути (Hg).

Встречающиеся в природных условиях бактериальные плазмиды значительно варьируют по размерам. Мг наиболее мелкой из известных плазмид в штамме *E. coli* – составляет около $1,5 \cdot 10^6$. Это достаточно для кодирования всего лишь двух белков средней величины, возможно, участвующих в репликации плазмидной ДНК. Мг ДНК плазмиды F $\sim 65 \cdot 10^6$, длина молекулы, содержащей около 100 000 п.н. Примерно такие же величины характеризуют размеры и других плазмид – половых факторов. Известны, однако, и более крупные плазмиды. Так, в штаммах ризобий обнаружены плазмиды с Мг до $600 \cdot 10^6$, т.е. равные по величине почти 1/4 длины всей хромосомы.

Плазмидоподобные структуры обнаружены у некоторых эукариотических микроорганизмов. Примером может служить ДНК дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

Известны плазмидоподобные частицы V1 и V2, являющиеся двухцепочечной РНК (это один из немногих примеров того, что плазмиды могут быть образованы РНК) и называемые факторами-убийцами (англ. killer – убийцы). Клетки дрожжей, несущие обе эти частицы, выделяют токсин, убивающий дру-

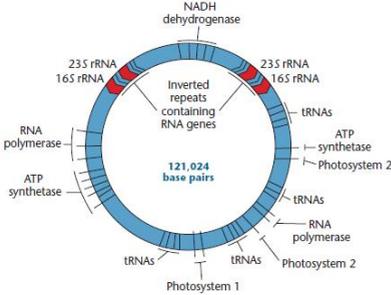
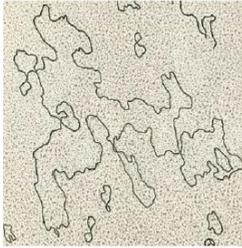
гие клетки, в которых находится только V1, либо отсутствуют обе частицы. Репликация частицы V2 невозможна без частицы VI. В то же время репликация и поддержание (т.е. стабильное существование и наследование) обеих частиц зависят от функционирования по крайней мере десяти ядерных генов.

У дрожжей и других грибов описаны также внеядерные плазмидоподобные элементы, несущие детерминанты устойчивости к антибиотикам и необходимые для функционирования митохондрий.

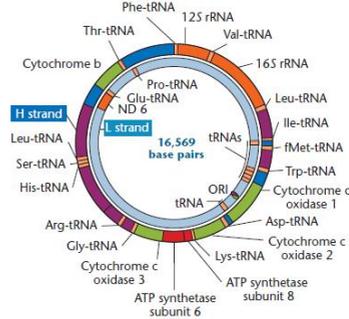
Приведенные примеры показывают, что цитоплазматические детерминанты наследственности, или «плазмагены» эукариотических микроорганизмов, подобно плазмидам бактерий, могут функционально взаимодействовать с ядерным геномом, усиливая генетический потенциал клетки-хозяина.

Глава IX

НЕХРОМОСОМНОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ



Хлоропластная ДНК



Митохондриальная ДНК

93. Какие существуют доказательства цитоплазматической наследственности?

Одновременно с фактами, подтверждающими хромосомную теорию наследственности, с самого начала формирования генетики как науки стали накапливаться факты о наследовании, неподчиняющемся менделевским закономерностям.

О первых фактах пластидной наследственности сообщили в 1908-1909 гг. К. Корренс и Э. Бауэр в результате изучения пёстролистности у растений – ночной красавицы *Mirabilis jalapa* и герани *Pelargonium zonale*. У ночной красавицы есть экземпляры, которые могут иметь чисто зелёные, белые и пестролистные листья. При опылении цветков с пестролистных ветвей

пыльцой от цветков с зелёных, всё потомство получается пестролистным. В реципрокном скрещивании, когда материнская форма имеет зелёные листья, а отцовская – пестролистная, всё потомство становится зелёным. Результат скрещивания полностью противоречит опытам Менделя, в которых реципрокные скрещивания давали одинаковый результат. Таким образом, было установлено, что окраска листьев зависит от типа пластид и наследуется по материнской линии. Это связано с тем, что пластиды передаются цитоплазмой яйцеклеток, т.е. пластиды - органоиды клетки, которые несут генетическую информацию. Данной функцией обладают и митохондрии, что было установлено при изучении дыхательной недостаточности у некоторых грибов и цитоплазматической мужской стерильности у растений.

94. Какие критерии используются для отличия внеядерной наследственности от хромосомной?

В настоящее время используют следующие критерии, позволяющие отличить внеядерную наследственность от хромосомной:

1. Различия в результатах реципрокных скрещиваний. У высших растений и животных реципрокные скрещивания типа ♀A x ♂a и ♀a x ♂A дают одинаковое потомство по исследуемому признаку. За исключением случаев наследования сцепленных с полом маркеров, различия в реципрокных скрещиваниях указывают на то, что один из родительских организмов, как правило, материнский, оказывает большее влияние на проявление данного признака, чем другой.

2. Связь наследования определенных признаков с переносом в клетку цитоплазматической ДНК. У бактерий перенос плазмид с помощью конъюгации, трансформации либо трансдукции сопровождается появлением у реципиентов таких признаков, как донорная способность, устойчивость к антибиотикам, продукция колицинов и многие другие, что доказывает их детерминированность плазмидными генами. Подобно этому, у

эукариот компоненты цитоплазмы, например отдельные клеточные органеллы, можно искусственно вводить в клетки путем микроинъекций, инфекции либо имплантации. Так, выявлена связь определенных признаков с внеядерными генами у нейроспоры (признаки замедления роста и снижения уровня дыхания, обусловленные дефектностью митохондрий), у парамеции (детерминируемая митохондриями устойчивость к лекарственным препаратам), у дрозофилы (детерминируемое присутствием эндосимбионтов соотношение полов) и др.

3. Хромосомные гены располагаются в определенных участках хромосомной ДНК и картируются, обнаруживая сцепленность с другими хромосомными генами. Невозможность выявить подобные сцепления генов может свидетельствовать об их внеядерной локализации.

4. Отсутствие типичного количественного менделевского расщепления признаков в потомстве, зависящего от расхождения гомологичных хромосом в мейозе, указывает на то, что они детерминируются внеядерными генами.

5. Замена ядер, возможная, например, у амебы, доказывает относительное участие ядра и цитоплазмы в проявлении какого-либо признака. Передача признака потомству, не сопровождающаяся переносом ядерных генов, свидетельствует о внеядерной наследственности.

95. Что такое цитоплазматическая мужская стерильность?

Один из ярких примеров внеядерной наследственности, определяемой дефектностью пыльцы, описан у самоопыляющихся и перекрестноопыляющихся растений. Дефектность пыльцы полностью исключает возможность самоопыления, так как растения становятся однодомными (женскими).

М.Роадс (1933) обнаружил, что признак мужской стерильности у кукурузы – перекрестноопыляющегося растения – наследуется по материнской линии, через цитоплазму яйцеклетки. Ядерные гены не ответственны за этот признак. Расте-

ние с мужской стерильностью при опылении пыльцой от нормального растения образует потомство только со стерильной пыльцой. В серии повторных скрещиваний с использованием в качестве материнских родителей растения с мужской стерильностью, а в качестве мужских – линии растений с нормальной пыльцой, но маркированных по генам, входящим в каждую из 10 пар хромосом кукурузы, Роадс сумел заменить все хромосомы исходной линии с мужской стерильностью на хромосомы нормальной по фертильности линии. При этом многие растения, полученные в результате замены хромосомных наборов, сохраняли признак мужской стерильности. Эти опыты послужили важным доказательством того, что мужская стерильность контролируется цитоплазмой. Хотя описанный признак назван цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС), его проявление зависит также от ядерных генов. Такой вывод был сделан при исследовании небольшого количества растений, полученных в потомстве от указанных скрещиваний, имевших лишь частично сниженную или даже нормальную фертильность. Возникновение таких растений связано с тем, что наследование признака ЦМС у кукурузы контролируется специфическими ядерными генами-супрессорами, называемыми также генами-восстановителями. Эти доминантные гены в сочетании с цитоплазмой линий растений с ЦМС - обеспечивают восстановление фертильности растений.

Гены-восстановители не приводят к необратимому повреждению или удалению факторов ЦМС из цитоплазмы, а лишь подавляют их действие, поэтому замещение этих генов путем скрещивания на их аллели-невосстановители вновь приводит к стерильности.

Наряду с генами-восстановителями известны ядерные гены-закрепители, обуславливающие полное проявление цитоплазматических факторов стерильности пыльцы.

Явление ЦМС широко применяется при производстве гибридных семян кукурузы, дающих значительно больший урожай, чем негибридные. Использование растений с ЦМС по-

зволяет обойтись без трудоемкого, экономически невыгодного обрывания метелок, предотвращающего возможность самоопыления растений.

96. Какую структуру имеет геном хлоропластов?

Хлоропласты находятся только в клетках фотосинтезирующих органов растений (листьев, стебля), и их число варьирует от нескольких сотен (некоторые водоросли) до одного (некоторые хламидомонады). В клетке высших растений содержится около 300 хлоропластов. Во время мейоза хлоропласты проникают в цитоплазму яйцеклетки, а в клетках пыльцы большинства видов растений они практически отсутствуют. Помимо мембранных структур, содержащих все необходимые компоненты для транспорта электронов при фотосинтезе, рибосом и РНК, хлоропласты содержат кольцевую ДНК длиной около 40 мкм с $M \approx 10^8$. Имеются данные о полиплоидности хлоропластов, в 5-6 участках которых находят 10—60 копий кольцевых ДНК.

ДНК хлоропластов – двунитчатая, кольцевая, сверхскрученная и не связана с белками. Размеры молекулы ДНК составляют 80-600 тпн. Число копий молекулы на одну клетку варьирует. Например, в листьях свеклы находят 4-8 молекул ДНК на нуклеоид, при этом 4-18 нуклеоидов находятся в одном хлоропласте, а в клетке – примерно 40 хлоропластов. В итоге в каждой клетке может быть до 6000 молекул хл. ДНК. У водоросли хламидомонады один хлоропласт содержит 500-1500 молекул хл. ДНК.

Геном хлоропластов содержит гены для всех рРНК (16S, 23S, 4.5S, 5S) в двух копиях каждый, до 30 генов тРНК и гены для некоторых, и не всех белков, необходимых для генетического аппарата хлоропластов (например, рибосомных белков, субъединиц РНК-полимеразы, факторов трансляции и т.д.) или для фотосинтеза. В некоторых генах, кодирующих белки и тРНК, найдены интроны. Все мРНК кодируемые в геноме хло-

ропластов, транслируются на собственных рибосомах хлоропластов.

97. Какую структуру и функцию имеет митохондриальный геном?

Митохондрии имеются в подавляющем большинстве эукариотических клеток. Происходящие в них процессы аэробного дыхания и соответственно окислительного фосфорилирования (ОФ) приводят к запасанию энергии в форме АТФ. В составе митохондрий обнаружена ДНК, состоящая из ковалентно-замкнутых сверхскрученных колец длиной от 5 мкм у животных до 20-30 мкм у грибов и высших растений.

Митохондриальные гены кодируют в основном две группы признаков. К первой относятся признаки, связанные с работой дыхательных систем, ко второй – с устойчивостью к антибиотикам и другим клеточным ядам. Помимо ДНК митохондрии содержат собственный белоксинтезирующий аппарат, включающий рибосомы, тРНК, аминоацил тРНК-синтетазы, отличающиеся от соответствующего аппарата, детерминированного ядерными генами.

Большинство полипептидов, участвующих в процессе ОФ, а их более 70, кодируется ядерной ДНК. После сборки на 80S рибосомах они транспортируются в митохондрии. Около 10 полипептидов, без участия которых процесс ОФ невозможен, кодируется митохондриальным геномом. Почти все компоненты транспортных РНК (22 типа тРНК), участвующих в синтезе белка *in situ*, являются продуктами митохондрий. Кроме этого, мтДНК кодируют два типа рРНК. В общей сложности 37 митохондриальных генов (13 генов ОФ, 2 гена рРНК и 22 гена тРНК) участвуют в синтезе семи белковых субъединиц комплекса I, одной субъединицы комплекса III, трёх - комплекса IV и двух - комплекса V.

98. Что такое эндосимбионты? Каковы их функции?

Некоторые виды цитоплазматической наследственности связаны с присутствием в цитоплазме эукариот эндосимбионтов – бактерий или вирусов. Эндосимбионтами называют организмы, живущие в клетках другого организма независимо от того, выгодно это последнему или нет. Генетически эндосимбиоз хорошо исследован на примере каппа-частиц инфузории туфельки (*Paramecium aurelia*).

Т.Соннеборн с соавторами (1938) обнаружили, что некоторые особи парамеции выделяют вещество, убивающее других, чувствительных особей парамеций, и что это свойство наследуется как цитоплазматический признак. Оказалось, что парамеции-убийцы (киллеры) несут в цитоплазме каппа-частицы – бактерии вида *Caedobacter taeniospiralis*. Эти бактерии выделяют токсическое вещество парамецин, которое не действует на самих хозяев – парамеций-киллеров, а убивает только чувствительные клетки. Способностью к выработке парамецина обладают не все каппа-частицы, а лишь те, в которых обнаруживаются преломляющие свет спиралевидные белковые тельца, называемые «яркими». Появление «ярких» телец связано с вирусоподобными частицами, присутствующими в каппа-частицах. Эти вирусные частицы содержат ковалентно-замкнутую кольцевую ДНК длиной около 14 мкм.

Генетические исследования показали, что каппа-бактерии наследуются с цитоплазмой, но способны поддерживаться лишь в парамециях, несущих доминантную ядерную аллель *K*, необходимую для репродукции каппа-бактерий. При скрещивании парамеций-убийц (*KK*) с чувствительными особями (*kk*) характер гетерозиготного потомства *Kk* зависит от того, успеют ли конъюгирующие клетки обмениваться цитоплазмой. В случае длительного скрещивания такой обмен происходит и все потомство с генотипом *Kk* и цитоплазмой родителя *KK* имеет фенотип «убийцы». При кратковременной конъюгации после скрещивания клетки расходятся каждая со своей цитоплазмой, поэтому, имея общий генотип *Kk*, они различаются по феноти-

пу. Особи, получившие цитоплазму от родителя *KK*, являются «убийцами». Напротив, особи *Kk*, получившие цитоплазму от родителей *kk*, оказываются чувствительными. При последующей аутогамии образуются гомозиготные клоны, фенотип которых зависит от присутствия гена *K* в ядре и капсидов бактерий в цитоплазме.

У дрозофилы известны линии без самцов. Выяснилось, что эти линии заражены спирохетами, которые проникая в откладываемые яйца, убивают мужские эмбрионы. В результате самки становятся носителями инфекционного начала.

Другой признак дрозофилы, определяемый внеядерным генетическим компонентом - необычно высокая чувствительность некоторых линий мух к CO_2 , используемому для наркоза при генетических исследованиях. Этот признак, наследующийся по материнской линии, обусловлен присутствием в цитоплазме вирусоподобной частицы σ . Чувствительные мухи парализуются и гибнут от концентраций CO_2 , которые для нормальных мух имеют только усыпляющее действие.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА



Мутантные эритроциты у больного серповидноклеточной анемией

99. Какие типы изменчивости существуют?

Изменчивостью называют различия между особями, принадлежащими к одной и той же группе, а также отличия одной особи от других того же вида, которые не могут быть приписаны возрастным, половым различиям и стадии жизненного цикла.

Различают два вида изменчивости: наследственную и не наследственную. Первая имеет отношение к изменениям в наследственном материале, вторая является результатом реагирования организма на условия окружающей среды.

Наследственную изменчивость подразделяют на мутационную и комбинативную. Первопричиной мутационной изменчивости являются мутации. Их можно определить как наследуемые изменения генетического материала. Изменчивость, вызываемая расщеплением и рекомбинацией мутаций и обусловленная тем, что гены существуют в разных аллельных состояниях, называется комбинативной.

Термином «мутации» обозначают внезапные наследуемые изменения генетического материала, которые могут возникнуть без видимых причин (спонтанно), либо быть индуци-

рованы внешними воздействиями на организм. Процесс возникновения мутаций называют мутагенезом.

Ненаследственная изменчивость иначе называется паратипической или модификационной. Модификации не передаются по наследству и исчезают после прекращения действий вызвавшего их фактора.

100. В чем суть мутационной теории? Кто является ее автором?

Мутационная теория зародилась в начале XX в. в работах Г. де Фриза. В соответствии с определением Г. де Фриза мутация представляет собой явление скачкообразного, прерывистого изменения наследственного признака. Основные положения мутационной теории Г. де Фриза сводятся к следующему:

1. Мутация возникает скачкообразно, без переходов.
2. Образовавшиеся новые формы константны.
3. Мутация является качественным изменением.
4. Мутации разнонаправлены (полезные и вредные).
5. Выявляемость мутаций зависит от размеров выборки изучаемых организмов.
6. Одни и те же мутации могут возникать повторно.

101. По какому принципу классифицируются мутации?

Существует несколько принципов классификации мутаций:

I. По характеру изменения генотипа:

1. Генные мутации, или точечные.
2. Изменения структуры хромосом, или хромосомные перестройки.
3. Изменения числа наборов хромосом.

II. По характеру изменения фенотипа:

1. Летальные.
2. Морфологические.
3. Физиологические.
4. Биохимические.

5. Поведенческие.

III. По проявлению в гетерозиготе:

1. Доминантные.

2. Рецессивные.

IV. По условиям возникновения:

1. Спонтанные, т.е. возникающие без видимых причин или усилий со стороны экспериментатора. Обычно спонтанными называют мутации, причина возникновения которых неизвестна.

2. Индуцированные, т.е. возникшие в результате какого-то воздействия.

V. По степени отклонения от нормального фенотипа:

В 1932 г. Г.Мёллер предложил классифицировать мутации на следующие категории: гипоморфные, аморфные, антиморфные, неоморфные и гиперморфные.

VI. По локализации в клетке:

1. Ядерные.

2. Цитоплазматические (мутации внеядерных генов).

VII. По возможности наследования:

1. Генеративные, т.е. индуцированные в половых клетках.

2. Соматические, индуцированные в соматических клетках.

Различают также мутации прямые и обратные.

102. Можно ли классифицировать мутации по их фенотипическому проявлению?

Часто мутации классифицируют по их фенотипическому проявлению, т.е. в зависимости от изменяющегося признака. Тогда рассматривают мутации летальные, морфологические, биохимические, поведенческие и т.д.

По степени отклонения от нормального фенотипа различают гипоморфные, аморфные, антиморфные, неоморфные и гиперморфные мутации.

При гипоморфных мутациях измененные аллели действуют в том же направлении, что и аллель дикого типа, но дают

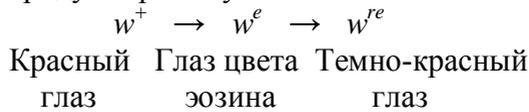
ослабленный эффект. Гипоморфная мутация w^e (*white eozine*) в одной или двух дозах дает мутантный фенотип, в трех — почти нормальный.

Аморфные мутации выглядят как потеря гена. Характерным примером является аморфная мутация w . Мутанты демонстрируют четкий фенотип независимо от дозы мутантного аллеля (при отсутствии нормального) и внешних условий. Фенотип — белые глаза обусловлен полной потерей функции гена, который контролирует транспорт пигмента в клетки глаза.

Антиморфные мутации изменяют фенотип дикого типа на противоположный. Например, у кукурузы ген A (дикий тип) обеспечивает пурпурный цвет растений и семян из-за наличия антоциана. Аллель a^p (антиморф) действует в противоположном направлении из-за формирования бурой окраски и блокирования образования антоцианов.

Неоморфные мутации — фенотип мутантов совершенно отличен от дикого. Например, мутация $Antp$ у дрозофилы приводит к формированию ноги на голове вместо антенны.

Гиперморфные мутации — у этих мутантов количество биохимического продукта резко увеличивается:



103. Каковы причины возникновения спонтанных мутаций?

В любой популяции живых организмов всегда есть особи, несущие мутации. Многие годы до открытия искусственной индукции мутаций селекционеры и исследователи наследственности, включая Менделя и Моргана, использовали мутации этого типа. Их называют спонтанными.

Начиная с 1925 г. С.С.Четвериков и его молодые коллеги Б.Л.Астауров, Н.К.Беляев, С.М.Гершензон, П.Ф.Рокицкий, Д.Д.Ромашов в результате экспериментальной проверки природных популяций дрозофилы нашли в них большое число

различных мутаций. Каждый ген с той или иной частотой спонтанно переходит в мутантное состояние

Причины индукции спонтанных мутаций не совсем ясны. Долгое время полагали, что к числу индуцирующих факторов относится естественный фон ионизирующих излучений. Однако, как показали расчеты, для дрозофилы естественный радиационный фон может быть ответствен только приблизительно за 0,1 % спонтанных мутаций. Хотя по мере увеличения продолжительности жизни организма воздействие естественного фона может накапливаться, у человека от 1/4 до 1/10 спонтанных мутаций может быть отнесено за счет естественного фона радиации.

Второй причиной спонтанных мутаций являются случайные повреждения хромосом и генов в ходе нормальных метаболических процессов, происходящих в клетке. По многочисленным данным, спонтанные мутации возникают во время деления хромосом и репликации ДНК. Считается вероятным, что спонтанные мутации представляют собой чаще всего следствие случайных ошибок в функционировании молекулярных механизмов.

Третьей причиной спонтанных мутаций является перемещение по геному мобильных элементов, которые могут внедриться в любой ген и вызвать в нём мутацию. По расчётам американского генетика М.Грина, около 80% мутаций у дрозофилы, которые были открыты как спонтанные, возникли в результате перемещений мобильных элементов.

104. В чем суть закона гомологических рядов наследственной изменчивости Н.И.Вавилова?

Первым наиболее серьезным исследованием мутаций была работа Н.И.Вавилова по установлению параллелизма в наследственной изменчивости у видов растений, принадлежащих близким таксонам.

На базе обширных исследований морфологии различных рас растений Н.И.Вавилов пришел к выводу, что, несмотря на

резко выраженное разнообразие (полимофизм) многих видов, можно заметить ряд закономерностей в их изменчивости. Если взять для примера семейство злаков и рассмотреть варьирование некоторых признаков, то окажется, что одинаковые отклонения присущи всем видам.

Закон Вавилова гласит: «Виды и роды, генетически близкие, характеризуются сходными рядами наследственной изменчивости с такой правильностью, что, зная ряд форм в пределах одного вида, можно предвидеть нахождение параллельных форм у других видов и родов. Чем ближе генетически расположены в общей системе роды и линнеоны, т. е. виды, тем полнее сходство в рядах их изменчивости». Свой закон Н.И.Вавилов выразил формулой:

$$G_1 (a + b + c \dots)$$

$$G_2 (a + b + c \dots)$$

$$G_3 (a + b + c \dots)$$

где G_1, G_2, G_3 – виды, a, b, c - различные варьирующие признаки.

Для селекционной практики этот закон важен потому, что прогнозирует возможность найти неизвестные формы растений у данного вида, если они уже известны у других видов

Н.И.Вавилов положил закон гомологических рядов в наследственной изменчивости в основу поиска новых форм растений. Под его руководством были организованы многочисленные экспедиции по всему миру. Из разных стран были привезены сотни тысяч образцов семян культурных растений, составивших основу коллекций Всесоюзного института растениеводства (ВИР). Мутантные линии являются важнейшим исходным материалом при создании сортов культурных растений.

105. Чем отличается наследование соматических мутаций от наследования генеративных мутаций?

Мутации могут возникать в любой клетке многоклеточного организма. Те из них, которые возникают в клетках зародышевого пути, называются генеративными. Мутации, возникающие в других клетках, называют соматическими.

Генеративная мутация может возникнуть на любом этапе развития половых клеток. Если это происходит на ранних стадиях, то число мутантных клеток будет пропорционально числу клеточных делений после появления мутации. В результате возникнут многие копии, в совокупности называемые пучком мутаций. Мутации, возникшие на последних этапах развития половых клеток, в спермиях и яйцеклетках, только в этих клетках и представлены. В случае соматической мутации проявление мутантного фенотипа также сильно зависит от стадии, на которой она произошла. Чем раньше мутация возникает, тем больше клеток ее несут.

Соматические и генеративные мутации различаются главным образом возможностью наследования: генеративные всегда передаются по наследству. У соматических мутаций две судьбы:

а) они не играют роли в наследственности, если организм размножается исключительно половым путем и клетки зародышевого пути уже на ранних этапах развития обособляются от соматических;

б) они могут передаваться потомству, если организм может размножаться бесполом путем, например, при вегетативном размножении у картофеля.

Для растений, у которых из соматических клеток впоследствии развивается почка, дающая цветок, соматические мутации имеют огромное значение.

Соматические мутации могут вызывать злокачественные опухоли у человека и животных. Не исключено, что соматические мутации имеют также отношение к процессам старения,

так как с возрастом может происходить накопление физиологических мутаций.

106. Может ли восстанавливаться дикий генотип у мутантных форм?

Обычно мутации, вызывающие изменения от дикого типа к новому, называют прямыми, а от мутантного к дикому – обратными.

Прямые и обратные мутации возникают с разной частотой. Например, аморфные мутации не дают реверсий к норме. Такие мутации, возможно, связаны с серьезными повреждениями или делецией гена. Возникновение обратных мутаций свидетельствует о том, что при прямом мутировании ген не потерян, а произошло лишь его изменение.

Если мутация гена A приводит к его превращению в рецессивный аллель, это прямая мутация. Мутации, происходящие в противоположном направлении, т.е. $a \rightarrow A$ называются обратными мутациями или реверсиями. Удобным объектом для изучения обратных мутаций являются микроорганизмы. Многие мутанты микроорганизмов характеризуются тем, что они утратили способность синтезировать то или иное вещество, необходимое для нормального роста (аминокислоту, витамин, азотистые основания и т.д.). На питательной среде лишенной данного вещества, мутантная культура не растёт. Но иногда появляются отдельные колонии, которые растут без добавки ростового фактора. Эти колонии являются результатом обратной мутации $a \rightarrow A$, в результате которой восстанавливается способность синтезировать вещество необходимое для роста.

Частота истинных обратных мутаций существенно ниже частоты прямых мутаций, поскольку последние могут возникнуть в различных сайтах одного гена. Большинство обратных мутаций (или реверсий) являются супрессорными, а гены, изменение которых приводит к восстановлению прежнего фенотипа генами – супрессорами. В результате супрессорной мутации обратная мутация является не истинной мутацией к исход-

ному состоянию, а следствием прямой мутации в совершенно другом гене, фенотипический эффект которой покрывает эффект первой мутации гена *A*.

107. Какие существуют методы учёта мутаций?

Основной метод изучения мутационного процесса – определение его частоты. Наиболее удобные методы учёта мутаций разработаны для дрозофилы. Для учёта рецессивных летальных мутаций, сцепленных с полом, у дрозофилы широко применяют метод Меллер-5. В этой методике применяется линия-анализатор, у которой обе X-хромосомы самки содержат по две инверсии, не связанные с летальным действием. Кроме того, обе хромосомы самки маркированы тремя генами: SC^8 , *B*, W^a . Самцы этой линии жизнеспособны. При анализе самца дикого типа методом М-5 в F_2 получают по два фенотипических класса самок и самцов. Если же в X-хромосоме самца возникла летальная мутация, то в F_2 будут самцы одного фенотипического класса SC^8 , *B*, W^a , а самцы дикого типа не появятся.

Наиболее объективно можно учитывать частоту возникновения рецессивных летальных мутаций, приводящих в гомозиготном состоянии к смерти несущих их особей по методу *CIB*. Генетическая структура линии *CIB* характеризуется тем, что одна из X-хромосом маркирована доминантным геном *Bar* (*B*) и инверсией, названной *C*. Эта инверсия препятствует кроссинговеру и обладает рецессивным летальным эффектом – *l*. Поэтому линия и названа *CIB*.

Самок этой линии-анализатора скрещивают с самцами из исследуемой выборки. В F_1 отбирают самок *CIB*, гетерозиготных по мутации *Bar*, и скрещивают индивидуально (каждую самку в отдельной пробирке) с самцом дикого типа. Если в проверяемой хромосоме нет мутации, то в потомстве будет два класса самок и один класс самцов (*B*), поскольку самцы *CIB* гибнут из-за наличия летали *l*, т.е. общее расщепление по полу будет 2:1.

Если же в опытной хромосоме есть летальная мутация l , то в F_2 будут только самки, так как самцы обоих классов погибнут – в одном случае из-за наличия летали в X -хромосоме ClB , в другом – из-за наличия летали l_m в опытной X -хромосоме. Определяя отношение числа X -хромосом, в которых возникла леталь, к общему числу изученных X -хромосом, подсчитывают частоту летальных мутаций в определенной группе или выборке.

Удобным объектом для учёта мутаций являются микроорганизмы. Использование микроорганизмов очень удобно из-за того, что все гены у них в единственном числе и мутации проявляются у них уже в первом поколении. Кроме того, каждая клетка на плотной среде может образовать отдельную колонию, представляющую собой клон идентичных клеток. Если получают мутации, дающие селективное преимущество, то мутантов легко обнаружить методом отпечатков, или реплик, предложенным Э.и Дж.Ледербергами.

108. Что такое множественный аллелизм?

Один и тот же ген может мутировать во множество состояний. При этом все мутации по гену имеют очень похожие, хотя и не совсем одинаковые фенотипы. Такой ряд изменённых состояний одного и того же гена, вызывающих появление разных фенотипов, называется серией множественных аллелей, а явление образования таких серий – множественным аллелизмом. Классическим его примером служит наследование окраски у кроликов. Встречаются породы кроликов сплошной чёрной (C), шиншилловой ($C^{ch}C^{ch}$), горностаевой, гималайской (C^hC^h) и белой альбинос (C^aC^a) в скрещивании был установлен порядок их доминирования друг над другом: $C > C^{ch} > C^h > C^a$

У гетерозигот $C^{ch}C^h$ и $C^{ch}C^a$ будет светлая шиншилловая окраска, а у гетерозигот C^hC^a горностаевая. Множественный аллелизм - явление широко распространённое среди разных животных и растений. Серией аллелей контролируется и окраска глаз у дрозофилы. Фенотипы мутантов гена *white* варьируют в очень широких пределах от нормального красного цвета

глаз до полного отсутствия пигмента. Серия в порядке доминирования располагается так: w^+ красные глаза (дикий тип) $> w^{co}$ коралловый $> w^{ch}$ цвет вишни $> w^{bf}$ тёмно-жёлтый $> w^h$ цвет мёда $> w^a$ абрикосовый $> w^p$ пурпурный $> w^e$ эозиновый $> w$ белый.

Члены серии множественных аллелей не только порозному определяют развитие признаков, но и вступают в разные доминантно-рецессивные отношения друг с другом. Множественный аллелизм имеет важное приспособительное значение, так как увеличивает изменчивость организмов и тем самым поставяет материал для отбора.

109. В чём причины возникновения генных мутаций?

Основной причиной возникновения генных мутаций являются изменения отдельных пар нуклеотидов, которые составляют класс точковых или точечных мутаций.

Точковые мутации представляют собой изменения пар нуклеотидов ДНК (РНК). Этот класс мутаций подразделяется на следующие группы:

а) транзиции – заключаются в замене одного пурина на другой или одного пиримидина на другой ($A \rightarrow G$, $G \rightarrow A$, $C \rightarrow T$ и $T \rightarrow C$);

б) трансверсии – пурин заменяется на пиримидин или наоборот ($A \rightarrow T$, $T \rightarrow A$, $A \rightarrow C$, $C \rightarrow A$, $G \rightarrow C$, $C \rightarrow G$, $G \rightarrow T$ и $T \rightarrow G$);

в) вставки лишней пары нуклеотидов;

г) выпадение пары нуклеотидов.

Мутации со сдвигом рамки считывания обусловлены вставками или выпадениями одного или нескольких нуклеотидов. Степень фенотипических изменений, связанных с мутациями сдвига рамки считывания, зависит от функций, выполняемых в организме белком, а также от того в каком месте гена произошла вставка или выпадение нуклеотида. Если вставка или выпадение нуклеотида имели место в участке гена вблизи промотора, с которой начинается транскрипция этого гена, то соответствующий белок полностью или в очень большей степени инактивируется.

110. Все ли повреждения ДНК реализуются в виде мутаций?

Многие повреждения ДНК, которые могли бы реализоваться в виде мутаций, не становятся таковыми, а исправляются особыми репарирующими механизмами клетки. Принцип работы этих механизмов основан на том, что каждая молекула ДНК содержит два полных набора генетической информации, записанной в комплементарных друг другу полинуклеотидных нитях ее двойной спирали: это обеспечивает сохранение неискаженной информации в одной нити, даже если другая повреждена, и дает возможность использовать неповрежденную нить в качестве образца при исправлении возникшего дефекта.

В настоящее время известно несколько механизмов репарации повреждений ДНК. Все они имеют ферментативную природу и исправляют только одонитевые повреждения. Наиболее хорошо изучены три таких механизма: фотореактивация, темновая репарация и пострепликативная репарация.

Явление фотореактивации заключается в устранении видимым светом димеров тимина, особенно часто возникающих в ДНК под влиянием ультрафиолетовых лучей. Это осуществляется особым фотореактивирующим ферментом фотолиазой, молекулы которого не обладают сродством с неповрежденной ДНК, но опознают димеры тимина и связываются с ними сразу после их образования, разъединяя их. Даже если поврежденные молекулы успеют реплицироваться, то это не всегда дает начало мутациям, так как дефекты синтезированных при репликации дочерних молекул могут подвергнуться пострепликативной репарации. Комплекс, состоящий из димера тимина и молекулы фермента, остается стабильным до тех пор, пока не подвергнется действию видимого света. Видимый свет активирует молекулу фермента, она отделяется от димера тимина и одновременно разъединяет его на два отдельных тимина, восстанавливая этим исходную нормальную структуру ДНК.

Более сложен механизм темновой репарации, не требующий света. Этот механизм способен исправлять очень разнооб-

разные повреждения ДНК, возникающие спонтанно или вызванные действием разных физических и химических мутагенов (димеры пиримидинов, наличие неправильных пар оснований, одонитевые разрывы и др.). Темновая репарация протекает в несколько этапов и при участии нескольких ферментов.

Явление репарации ДНК распространено очень широко, от бактерий до высших растений, животных и человека и несомненно имеет важное значение для сохранения стабильности передаваемой из поколения в поколение генетической информации.

111. Какие изменения вызывают миссенс-мутации?

Миссенс-мутация приводит к замене только одной аминокислоты в синтезируемой полипептидной цепи, такие мутации обычно менее глубоко изменяют свойства белка, чем нонсенс-мутации, но многое зависит от того, какая именно произошла замена. Так, замена валина на лейцин, глицина на аланин или тирозина на фенилаланин мало отражается на функциях полипептида, поскольку в каждой из этих пар аминокислоты, химически сходны между собой; это так называемые консервативные замены. Другие замены отдельных аминокислот могут значительно сильнее повреждать полипептид. Например, замены лейцина на аргинин или аспарагиновой кислоты на валин изменяют суммарный заряд полипептидной цепи. Замена цистеина (единственной аминокислоты, содержащей серу) другими аминокислотами часто нарушает третичную или четвертичную структуру белковой молекулы, в значительной мере обуславливаемую дисульфидными связями между цистеинами.

Особенно сильные фенотипические изменения могут вызываться миссенс-мутациями, затрагивающими в генах транспортных РНК участки, кодирующие антикодоны последних. Образующиеся в результате подобных мутаций измененные тРНК включают ошибочную аминокислоту не в одну точку одного какого-нибудь белка, а во множество точек всех белков, синтезируемых при участии этой тРНК.

112. Какие изменения вызывают нонсенс-мутации?

Нонсенс (бессмысленные) - мутации возникают в результате замены азотистых оснований молекул нуклеиновой кислоты – трансверсий и транзиций. В результате нонсенс-мутаций кодон матричной РНК, кодирующий включение в полипептидную цепь определённой аминокислоты, превращается в терминирующий кодон УАГ, УАА, УГА и синтез белка прекращается. Так, например, в результате транзиции А→У кодон ААГ матричной РНК, кодирующий включение лизина в полипептид превратится в УАГ, то синтез белка прекратится.

Нонсенс-мутации обычно сильно повреждают белки и поэтому оказываются летальными, а также могут снижать синтетическую активность всех позже считываемых структурных генов того же оперона.

Нонсенс-мутации могут также оказывать полярный эффект. Обычно матричная РНК густо покрыта рибосомами, защищающими её от действия нуклеаз. Если в результате нонсенс-мутации трансляция гена заканчивается раньше, то протяжённый участок мРНК подвергается разрыву нуклеазами и заключённая в ней генетическая информация не транслируется.

113. Какие структурные изменения происходят в хромосомах?

Инверсии – хромосомные перестройки, связанные с поворотом отдельных участков хромосомы на 180° , были открыты А. Стертевантом в 1926 г.

Инверсии бывают пара- и перичентрическими. В случае парацентрической инверсии происходят два разрыва хромосом, оба по одну сторону от центромеры. Участок между точками разрывов поворачивается на 180° .

При перичентрической инверсии точки разрывов расположены по обе стороны от центромеры. У гомозигот по инверсиям кроссинговер происходит нормально. У особей, гетерозиготных по инверсии, в хромосомах образуется петля. У гетеро-

зигот по парацентрической инверсии происходит «запирание» кроссинговера.

Транслокации - хромосомные перестройки, в результате которых часть хромосомы переносится в другое место той же хромосомы или в другую хромосому, но общее число генов не изменяется. Транслокации были открыты К.Бриджесом в 1923 г. у дрозофилы.

Внутрихромосомные транслокации возникают в результате образования трех разрывов и перенесения хромосомного сегмента в другой район той же хромосомы. Межхромосомные реципрокные транслокации возникают в результате образования двух разрывов и обмена участками негомологичных хромосом.

Делецией называют утрату какого-то участка хромосомы. Делеции были открыты в 1917 г. К.Бриджесом генетическими методами.

Делеции не могут быть очень длинными, поскольку чем они длиннее, тем больше вероятность того, что в районе хромосомы, гомологичном удаленному делецией, находится ген, необходимый для выживания в двух дозах. У человека синдром «кошачьего крика» возникает у гетерозигот по делеции в коротком плече пятой хромосомы. У младенцев-гетерозигот очень высокий мяукающий плач, кроме этого микроцефалия (малый размер головы), значительные нарушения физического и умственного развития. Коэффициент интеллектуальности у детей с этим синдромом колеблется от 20 до 40.

Дупликацией называют удвоение какого-либо участка хромосомы.

Дупликации могут приводить к фенотипическому проявлению. Наиболее известным примером служит мутация *Bar* в X-хромосоме у дрозофилы. Эта мутация проявляет неполное доминирование, уменьшая число глазных фасеток. У самок, гетерозиготных по *Bar*, глаза маленькие и полосковидной формы.

114. Что такое полиплоидия?

Изменение числа хромосом, когда в клетке присутствует более двух гаплоидных наборов, называют полиплоидией. Этот термин был введен Е.Страсбургером в 1910 г.

В свою очередь гаплоидным (n) называют такой набор хромосом, в котором из каждой пары гомологичных хромосом представлена только одна. Он несет в себе часть наследственной информации родителей. Гаплоидный набор хромосом с локализованными в нем генами Г.Винклер (G.Winkler) в 1920 г. предложил называть геномом.

Возможны следующие причины полиплоидии:

1. Неравное расхождение хромосом к полюсам в анафазе.
2. Деление ядра без деления клетки.
3. Удвоение хромосом без их отделения друг от друга.

Организмы, у которых произошло умножение целых гаплоидных наборов, называют собственно полиплоидами или эуплоидами. Полиплоиды, у которых число хромосом не является кратным гаплоидному, называют гетероплоидами или анеуплоидами. Если организм имеет $n=4$ хромосом в гаплоидном наборе, у диплоида $2n=8$, у тетраплоида $4n=16$ хромосомам.

Полиплоидизация может также возникать в части клеток в результате нарушения митоза – это соматическая полиплоидия.

Если удвоение геномов происходит в первом делении зиготы, то такая полиплоидия называется мейотической, все клетки зародыша в этом случае будут полиплоидными.

Г.Винклер в 1916 г. впервые описал полиплоиды томатов и паслена. К настоящему времени установлено, что около 30% всех покрытосеменных растений являются полиплоидами. Широко распространена полиплоидия среди растений, возделываемых человеком. У голосеменных растений она редка, хотя встречается у папоротников и мхов. Возможно, полиплоиды, лучше приспособлены к произрастанию в суровых условиях: среди всех видов цветковых растений в арктических широтах полиплоиды составляют более 70%, на Памире – 86%, на Алтае

– 65%. У животных встречается главным образом соматическая полиплоидия. Группа видов, которые относятся к одному роду и кариотипы которых составляют ряд возрастающего кратного увеличения числа хромосом, называется полиплоидным рядом, например род *Triticum*:

T. monococcum (однозернянка) $2n = 14$

T. durum (твёрдая пшеница) $2n = 28$

T. aestivum (мягкая пшеница) $2n = 42$

Таким образом, основное число хромосом, или наименьшее гаплоидное число в полиплоидном ряду (x), у пшениц составляет 7, *T. monococcum* является диплоидом, *T. Durum* – тетраплоидом, *T. Aestivum* – гексаплоидом.

Полиплоидные ряды известны и у других растений: пшеницы, овса, розы, земляники, шелковицы, люцерны, сахарного тростника, свеклы, хризантемы, щавеля, хлопчатника.

115. Какие существуют формы полиплоидии? В чём разница между автополиплоидией и аллополиплоидией?

Явление кратного увеличения числа хромосом называют полиплоидией. Полиплоиды могут быть классифицированы по характеру изменений в числе хромосом. При увеличении числа хромосом за счёт одного и того же гаплоидного набора получаются автополиплоиды (триплоиды, тетраплоиды, гексаплоиды и т.д.). Автополиплоиды имеют в своём наборе одинаковые геномы. Полиплоидные клетки могут возникать: при эндомитозе и нарушении митоза в соматических клетках, при нарушении мейоза, приводящих к неправильному расхождению хромосом и образованию диплоидных нередуцированных гамет, слияние которых даёт начало полиплоидному организму.

Полиплоиды по сравнению с исходными диплоидными организмами могут иметь большую вегетативную массу, более крупные цветки и семена. Гигантизм чаще встречается у перекрёстноопыляющихся растений. Полиплоидные растения оказываются более устойчивыми к неблагоприятным факторам

внешней среды. Очень широко распространены среди возделываемых человеком растений. Большинство важнейших культурных растений образуют полиплоидный ряд.

Наряду с автополиплоидией существенную роль в образовании новых видов растений принадлежит аллополиплоидии. Аллополиплоиды образуются при скрещивании организмов, принадлежащих к разным видам и содержащие два (или более) набора разных хромосом. При скрещивании диплоидов с геномной структурой AA и BB формируется гибрид AB , который, как правило, бывает стерильным. Удвоение числа хромосом восстанавливает плодовитость гибрида и приводит к возникновению аллотетраплоида ($AABB$).

116. Почему полиплоидия у животных встречается редко?

Среди животных полиплоидны лишь очень немногие виды, при том почти исключительно размножающиеся партеногенетически. К таким полиплоидам относятся, например, рачок-бокоплав артемия, немногочисленные представители нескольких групп насекомых, некоторые черви. Главная причина столь малого распространения полиплоидии у животных состоит, по-видимому, в том, что возникновение полиплоидной мутации должно большей частью вести к нарушению хромосомного механизма определения пола, в особенности, если у данного вида пол особи зависит от соотношения числа X -хромосом и наборов аутосом. Так, у жуков семейства слоников все двуполые виды диплоидны ($2n=22$) и определение пола происходит у них по такому же типу, как у дрозофилы (самки XX , самцы XU). Полиплоидные же виды этого семейства все размножаются партеногенетически; среди них есть триплоидные (33 хромосомы), тетраплоидные (44 хромосомы) и пентаплоидные (55 хромосомы) виды.

В то же время у млекопитающих, как и у других многоклеточных животных, в соматических клетках ряда тканей полиплоидия распространена довольно широко и возникает в ре-

зультате эндомитоза. Эндомитоз – удвоение хромосом без последующего деления ядра и цитоплазмы.

117. Что такое полиплоидный ряд?

Сравнительные цитологические исследования приводят к выводу о том, что полиплоидия сыграла существенную роль в видообразовании у растений, в особенности покрытосеменных. Это видно из того, что многие роды состоят из видов, образующих полиплоидные ряды. Больше всего полиплоиды распространены в суровых условиях: среди всех цветковых растений в арктических широтах полиплоиды составляют 70%, на Памире – 86%, на Алтае – 65%.

Около трети видов растений, произрастающих на нашей планете – полиплоиды. У культурных растений удельный вес полиплоидных видов ещё более высок и достигает 80%. Очень широко распространены полиплоиды среди возделываемых человеком растений. Полиплоидны все или большинство культурных сортов пшеницы, овса, риса, сорго, тимофеевки, сахарного тростника, люцерны, арахиса, белого табака, картофеля, брюквы, хлопчатника, земляники, роз, ириса, тюльпанов, гладиолусов, малины, сливы, яблони, груши, лимона, апельсина, шелковицы и т.д. Так, например, род *Triticum* (пшеница) содержит несколько видов: 14 хромосом имеет пшеница «однозернянка» (*T.monococum*), 28 – твёрдая (*T.durum*), 42 – мягкая (*T.aestivum*). Таким образом, пшеница «однозернянка» является диплоидной ($2n$), пшеница «твёрдая» - тетраплоидной ($4n$), пшеница «мягкая» - гексаплоидной ($6n$). Указанные виды пшениц составляют полиплоидный ряд.

Подобные полиплоидные ряды имеются и у других родов растений. Род паслен характеризуется следующим полиплоидным рядом: 12, 24, 36, 48, 60, 72, 96, 108, 144 хромосомы. У рода роза полиплоидный ряд состоит из видов с 14, 21, 28, 35, 42, 56 хромосомами.

У шелковицы имеются полиплоидные ряды с 28, 42, 56, 70, 84 ... 308 хромосомами. Таким образом, группа родствен-

ных видов, у которых наборы хромосом составляют ряд возрастающего увеличения основного числа хромосом, называется полиплоидным рядом.

118. Как происходит мейоз у автополиплоидов?

Полиплоиды, возникающие на основе увеличения числа наборов хромосом внутри рода, называют автополиплоидами.

В норме, у диплоидов, в профазе мейоза образуются биваленты. У тетраплоидов в мейозе образуются квадриваленты – группы из четырех конъюгирующих хромосом, однако не всегда четверем гомологичным хромосомам удастся найти друг друга и образовать квадривалент. Иногда они образуют группу из трех хромосом (тривалент) и унивалент или два бивалента. Наличие квадривалентов, тривалентов и унивалентов в мейозе у тетраплоидов ведет к нарушениям в распределении хромосом и к образованию гамет с измененным числом хромосом. Кроме правильного расхождения хромосом в мейозе у автотетраплоида ($AAaa$) возможно также расхождение хромосом в соотношении 3:1 и 4:0. При этом возникнут гаметы AAa и a , Aaa и A , а также $AAAA$ и 0. Часть таких гамет нежизнеспособна. У диплоида Aa ($2n$) образуются гаметы A и a в соотношении 1:1. У тетраплоида $AAAA$ ($4n$) расхождение гомологичных хромосом в мейозе возможно в соотношениях 2:2, 3:1, 1:3, 4:0, 0:4.

Даже если расхождение хромосом к полюсам будет регулярным (2:2), автотетраплоид, гетерозиготный по аллелям $AAaa$, образует три типа гамет в соотношении $1AA:4Aa:1aa$, и расщепление в моногибридном скрещивании будет сильно отличаться от такового у диплоида (табл. 3).

Табл. 3. Результаты скрещивания между собой тетраплоидов $AAaa$

Гаметы	1 AA	4 Aa	1 aa
1 AA	1 $AAAA$	4 $AAAAa$	1 $AAaa$
4 Aa	4 $AAAAa$	16 $AAAAa$	4 $AAAAa$
1 aa	1 $AAaa$	4 $AAAAa$	1 $aaaa$

Расщепление по фенотипу в F_2 у тетраплоида будет 35:1, вместо 3:1. Таким образом, у полиплоидов усиливается вероятный характер расщепления и рекомбинации генов. Увеличение дозы генов при полиплоидии значительно усложняет характер наследования признаков, приводит к расширению генотипического спектра гамет и зигот, а значит набора аллелей, генофонда, всей генетической основы полиплоидных популяций.

119. Как экспериментально получить полиплоиды?

Впервые полиплоидные клетки экспериментально получены И.М.Герасимовым (1880) у водоросли спирогиры воздействием низких температур в период деления клеток. В своих опытах Герасимов испытал также действие на делящуюся клетку некоторых химических веществ таких, как хлороформ, эфир и хлоргидрат.

В широких масштабах экспериментальное получение полиплоидов стало возможным после опытов А.Блекси и А.Эйвери по применению колхицина для индуцирования полиплоидии. Колхицин подавляет образование митотического веретена в клетках, приступивших к делению, в результате чего удвоенные хромосомы не расходятся и клетка оказывается тетраплоидной. Если воздействию подвергаются соматические клетки, то не все они становятся полиплоидными и растение приобретает химерное строение. Если же воздействию подвергаются генеративные клетки, возникают нередуцированные гаметы, дающие начало полностью полиплоидным растениям.

К настоящему времени экспериментальным путём выведено большое число полиплоидных растений, принадлежащих к разным таксономическим единицам.

Наряду с автополиплоидией существенная роль в образовании новых видов растений принадлежит аллополиплоидии. Многие межвидовые гибриды бесплодны, однако, если число хромосом удвоить, мейоз нормализуется. В 1927 году в результате межродовых скрещиваний Г.Д.Карпеченко получил фертильные аллополиплоиды.

Г.Д.Карпеченко использовал в скрещиваниях два вида из разных родов – *Brassica oleracea* (Капуста огородная) и *Raphanus sativus* (Редька посевная). У обоих видов диплоидное число хромосом $2n = 18$. Гибрид имел 18 хромосом, был мощным, сильно цвел, но семян не образовывал. Отдельные гаметы были нередуцированными, т.е. имели по 9R и 9B хромосом. Однако в результате удвоения хромосом были получены устойчивые фертильные аллополиплоидные (или амфидиплоидные) растения с $4n=36$, которым автор дал новое видовое название – *Рафанобрассика*.

Другим важным примером создания несуществующих в природе форм является тритикале, полученный путем удвоения хромосомного комплекса у межродового гибрида пшеницы и ржи.

120. Как используется полиплоидия в улучшении растений?

Объективные данные полученные в течение последних десятилетий указывают на успешное соревнование полиплоидных сортов за посевные площади с исходными диплоидами во многих странах мира. В связи с этим достаточно отметить создание и внедрение в производство нового злака тритикале, тетраплоидных сортов ржи, триплоидных гибридов сахарной свеклы, бессемянных триплоидных арбузов, тетраплоидного турнепса, клевера и многих других растений.

В селекции растений довольно широко используют полиплоиды, получаемые под воздействием колхицина. Такие полиплоиды служат исходным материалом для выведения новых сортов ряда видов культурных растений. Этим методом созданы хорошие тетраплоидные сорта клевера, значительно превосходящие диплоидные сорта по урожаю зеленой массы (в некоторых случаях на 40—60%). Тетраплоидный клевер устойчив к нематодам и менее, чем диплоидный, поражается раком клевера, но семенная продуктивность его несколько ниже, так как крупные размеры цветков затрудняют их опыление пчелами. Тетраплоидные сорта ржи по урожайности не уступают ди-

плоидным, иногда даже лучше их; семена тетраплоидной ржи крупнее, чем у диплоидной, и растения имеют более толстый и прочный стебель, что препятствует полеганию. Ценные полиплоидные сорта выведены у тритикале, турнепса, редиса, табака, мяты и некоторых других растений.

Большой экономический эффект дают триплоиды сахарной свеклы, получаемые скрещиванием экспериментально созданных тетраплоидов с диплоидными сортами. Благодаря этим ценным свойствам, триплоидные гибриды сахарной свеклы получили в настоящее время широкое распространение. Хорошими качествами обладают также триплоиды кормовой свеклы и гибриды кормовой свеклы с сахарной. Триплоидные арбузы, получаемые скрещиванием тетраплоидов с диплоидами, характеризуются крупными плодами, почти лишенными семян.

121. Каковы особенности и значение гаплоидии?

Гаплоидия – это уменьшение числа хромосом до одиночного набора, т.е. все хромосомы представлены в единственном числе. Такое уменьшение обычно происходит при редукционном делении. В жизненном цикле большинства организмов гаплоидная фаза непродолжительна. Гаплоидия распространена у спорообразующих грибов, бактерий и одноклеточных водорослей. Крайне редуцирована она у животных: гаплоидны только гаметы.

Однако в результате партеногенеза или андрогенеза могут возникнуть гаплоидные организмы и у растений и животных. Гаплоидные организмы всегда меньше диплоидных, часто с пониженной жизнеспособностью, обычно бесплодные. Из-за отсутствия гомологичных хромосом в мейозе нет конъюгации, расхождение хромосом к полюсам беспорядочное и образующиеся клетки оказываются нежизнеспособными. Вероятность же отхождения всех хромосом к одному полюсу и образования гаплоидной клетки мала. Интересны гаплоиды тем, что их фенотип полностью совпадает с генотипом, так как проявляются все рецессивные гены.

Гаплоиды имеют практическое значение: если у гаплоида удвоить число хромосом, то в течение одного поколения получится организм гомозиготный по всем генам. Создание же гомозигот путём инбридинга – длительный процесс, требующий смены нескольких поколений.

Гаплоиды можно получить, вызывая искусственно партеногенез или андрогенез.

122. Что такое гетероплоидия? Каково её значение?

Гетероплоидия (анеуплодия) - это изменение числа хромосом, связанное с добавлением или утратой отдельных хромосом. Формы, имеющие дополнительные хромосомы, называют полисомиками. Организмы с набором хромосом $2n+1$ называют трисомиками, так как одна хромосома повторена трижды. Организмы $2n-1$ моносомиками, так как одна хромосома представлена в единственном числе. Форма $2n-2$ нуллисомик, так как отсутствует пара гомологичных хромосом.

Основной причиной изменения числа отдельных хромосом является нерасхождение какой-либо пары гомологов во время мейоза. Например, нерасхождение пары хромосом (AA) в мейозе приведёт к образованию гамет $n+A$ и $n-A$. При участии таких гамет в оплодотворении появятся гетероплоидные формы $2n+A$ и $2n-A$. Добавление или утрата одной хромосомы вызывает значительные изменения фенотипа, благодаря которым можно установить значение отдельных хромосом в проявлении определённых свойств и признаков организма. Анеуплоиды встречаются у растений, у животных и у человека. Анеуплоиды обладают низкой жизнеспособностью и плодовитостью. Однако анеуплоидные формы, и в частности моносомики, имеют практическое значение, так как используются в «генной инженерии». В настоящее время путём замещения отдельных хромосом получены формы пшеницы, устойчивые к ржавчине и другим заболеваниям.

У человека известен ряд заболеваний, причиной которых является анеуплоидия. Так, болезнь Дауна – результат трисомии по 21-й хромосоме, синдром Патау – результат трисомии

по 13 хромосоме, синдром Эдвардса - результат трисомии по 18 хромосоме, синдром Клайнфельтера - результат полисомии по половой хромосоме (47-XXY; 48-XXXY и др.), синдром Шерешевского-Тернера – результат моносомии по половой хромосоме (45+XO).

123. Для чего необходимо изучение модификационный изменчивости?

Анализируя изменчивость любого организма, можно прийти к убеждению, что многие различия между особями находятся в большой зависимости от условий окружающей среды. Даже при совершенно тождественном генотипе две особи могут быть фенотипически несхожими, если они в течение своего развития по-разному питались, находились при разной температуре или влажности, болели разными болезнями и т.п. Такие фенотипические различия, вызываемые внешними факторами у одинаковых в наследственном отношении организмов, называются модификациями.

Изучение модификаций очень важно в теоретическом, и в практическом отношении. Сведения о модификациях требуются прежде всего для понимания того, как происходит реализация генетической информации. Фенотип, определяется не только генами, полученными от родителей, но и разнообразными условиями среды, в которой организм развивался и существует. Для выяснения соотносительной роли и характера взаимодействия генотипа и среды в становлении фенотипа особи необходимо исследовать модификации, возникающие под воздействием различных факторов среды. Знание характера модификаций и вызывающих их причин, нужно для понимания закономерностей эволюции, поскольку естественный отбор, представляющий ее движущую силу сохраняет благоприятные для организма изменения и отбрасывает вредные, руководствуясь фенотипом, т.е. оперирует как с мутациями и их комбинациями, так и с модификациями.

Очевидно большое значение модификаций для практики сельского хозяйства и медицины. Важнейшей задачей при этом является создание условий, при которых у хозяйственно ценного организма в наибольшей степени будут развиваться желательные фенотипические признаки и подавляться отрицательные, т.е. возникнут модификации в направлениях, выгодных для человека.

124. От чего зависит характер модификаций?

Характер модификаций зависит от вызывающих их факторов. Модификации представляют однозначные реакции организма на воздействие среды.

Такая определенность, однозначность модификаций прослеживается во всем органическом мире от самых примитивных до наиболее высокоразвитых форм жизни. Это можно подтвердить бесчисленными примерами.

Кишечная палочка усваивает молочный сахар (лактозу) с помощью трех ферментов – галактозидпермеазы, бетагалактозидазы и галактозидтрансацилазы. Если в питательной среде нет лактозы, то эти три фермента в бактериях не вырабатываются.

Всем хорошо известно, насколько значительно различаются растения одинакового сорта, выращенные на удобренной и на тощей почве.

У ряда растений листья, развивающиеся в тени, сильно отличаются от освещаемых солнцем. У стрелолиста формы листьев различаются в зависимости от их месторасположения на побеге — погруженные в воду листья длинные и тонкие, плавающие по поверхности воды листья широкие, надводные листья стреловидные, стоячие. Окраска бабочек сильно варьирует в зависимости от температуры. Особенно заметно это в семействе многоцветниц.

Примером модификации у птиц может быть изменение яйценоскости под влиянием длины светового дня. Молодки позднего выводка – плохие несушки, но их яйценоскость уда-

ется значительно улучшить, искусственно удлиняя световой день до 13-14 часов.

Степень выраженности модификации, как правило, пропорциональна силе и продолжительности действия на организм вызывающего модификацию фактора. Другими словами, чем интенсивнее и длительнее воздействие такого фактора, тем сильнее модифицируется фенотип организма характерным для этого фактора образом.

125. Что такое норма реакции?

Фенотип организма определяется, с одной стороны, генетической информацией, полученной им от родителей, т.е. его генотипом, с другой стороны – теми конкретными условиями среды, в которых эта информация реализуется в ходе развития организма. Относительная роль генотипических факторов и факторов среды в формировании разных признаков организма может быть очень различной. Так, характер расположения листьев на стебле растения (спиральное, супротивное или мутовчатое) и тип их жилкования (параллельное, перистое, пальчатое, дихотомическое) почти нацело обусловлены генотипом и лишь очень незначительно изменяются под влиянием внешних условий. Форма листовой пластинки, степень ее рассеченности, зазубренности краев значительно больше зависит от среды, но у большинства видов все же определяются в основном генотипом растения. За интенсивность зеленой окраски листьев ответственны главным образом внешние факторы – плодородие почвы и особенно освещение; роль наследственности здесь относительно невелика. У человека можно проследить всю гамму переходов от признаков, полностью определяемых генотипом (например, группы крови или цвет радужной оболочки глаз) и такие, на которые факторы среды налагают заметный отпечаток (как, например, рост), а также признакам, очень сильно зависящим от внешних условий (например, вес тела или степень развитости мышц). Но у всех организмов характер фенотипических изменений, вызываемых

влиянием среды, т.е. способность организма отвечать на действие внешних факторов именно такими, а не иными модификациями, или норма реакции организма, всегда бывает врожденной, обусловленной его генотипом.

126. Каковы основные различия между модификациями и мутациями?

Знание различий между мутациями и модификациями важно как в теоретическом, так и в практическом отношении. Для понимания эволюционного процесса нужно иметь в виду, что естественный отбор в равной мере учитывает как мутационные, так и модификационные изменения фенотипа, но наследуются только первые. При селекции домашних животных, культурных растений и полезных микроорганизмов следует принимать во внимание, что желательные изменения, носителей которых оставляют для размножения, могут быть обусловлены как мутациями (тогда эти изменения наследуются), так и модификациями (тогда они не передаются потомкам).

Основные отличия между мутациями и модификациями следующие:

Модификации

1. Определенность (каждый внешний фактор вызывает изменение определенных признаков в определенных направлениях).

2. Степень изменения признака прямо пропорциональна силе или длительности действия внешнего фактора, вызвавшего изменение.

3. Большинство имеют адаптивное значение.

Мутации

1. Неопределенность (один и тот же внешний фактор может вызывать изменения разных признаков в разных направлениях, разные внешние факторы могут вызывать одинаковые изменения).

2. Степень изменения признака не зависит от силы или длительности действия внешнего фактора, вызвавшего изменение.

3. За редкими исключениями не имеют адаптивного значения.

4. Нередко обратимы в течение жизни особи (постепенно исчезают после прекращения действия внешнего фактора вызвавшего изменения).

5. Не наследуются.

4. Константны (не исчезают в течение жизни особи).

5. Наследуются.

127. Какие виды ионизирующих излучений являются мутагенными?

Среди физических мутагенов наибольшее значение имеют ионизирующие излучения. Они делятся на электромагнитные (волновые), к которым принадлежат рентгеновские лучи (длина волны от 0,005 до 2 нм) и более коротковолновые гамма-лучи и космические лучи, и на корпускулярные, такие как бета-частицы (электроны и позитроны), протоны, нейтроны (быстрые, обладающие высокой энергией, и так называемые тепловые, энергия которых гораздо ниже), альфа-частицы (ядра атома гелия) и др. Все виды ионизирующих излучений мутагенны, но для искусственного вызывания мутаций используются почти исключительно рентгеновские и гамма-лучи. Источники их (рентгеновские трубки, радиоактивные элементы) удобны в обращении, а сами эти лучи значительно лучше проникают в ткани организма, чем большинство корпускулярных излучений (за исключением нейтронов).

Изучение мутагенного действия ионизирующих излучений показало, что у всех разнообразных исследованных в этом отношении организмов они вызывают многочисленные генные мутации и перестройки хромосом и что частота индуцированных таким образом мутаций зависит в основном от дозы радиации.

Разные формы живых существ характеризуются очень различной чувствительностью к ионизирующим излучениям — смертельная доза может колебаться от нескольких сотен рентгенов у млекопитающих (600 р для мыши, 700 р для человека) до сотен тысяч и миллионов рентгенов для бактерий и вирусов.

Биологическое действие ионизирующих излучений обязано в первую очередь вызываемым ими изменениям генетического аппарата – хромосом и генов, гораздо более чувствительных к этим излучениям, чем цитоплазма. Эти изменения выражаются в мутациях, а при облучении организма дозами, превосходящими определенный предел, происходит столь сильное нарушение функций генетического аппарата клеток, что наступает лучевая болезнь, которая может привести к смертельному исходу.

128. Какие физические факторы обладают мутагенным действием?

Кроме ионизирующих излучений к сильным физическим мутагенам принадлежат ультрафиолетовые лучи. Они характеризуются значительно большей длиной волны (до 400 нм) и меньшей энергией, чем рентгеновские лучи.

В отличие от рентгеновских лучей мутагенность которых не зависит от длины волны, ультрафиолетовые лучи с разной длиной волны очень разнятся своими мутагенными свойствами. Наиболее мутагенны ультрафиолетовые лучи с длиной волны около 260 нм; мутагенность их резко падает как при меньшей, так и при большей длине волны. Высокая мутагенная эффективность этой части спектра ультрафиолетовых лучей связана с тем, что дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК), составляющая основу хромосом, поглощает ультрафиолетовые лучи именно с длиной волны 260 нм.

Кроме такого прямого действия на ДНК, ультрафиолетовые лучи индуцируют мутации и косвенно, вызывая образование в клетках свободных радикалов и перекисей, обладающих мутагенными свойствами. Такие же мутагенные вещества возникают под влиянием ультрафиолетового света и в жидких, питательных средах, применяемых для культивирования бактерий. У бактерий помещенных в облученную среду, заметно возрастает частота мутаций.

Многие повреждения генетического аппарата, вызываемые ультрафиолетовыми лучами, репарируются подобно тому, как это происходит при действии ионизирующих излучений. При ультрафиолетовом облучении наблюдается также явление фотореактивации, состоящее в том, что более длинноволновые лучи (в диапазоне от 365 до 490 нм, куда относятся наиболее длинноволновые ультрафиолетовые лучи и примыкающие к ним видимые синие лучи) частично подавляют мутагенное действие более коротковолновой части ультрафиолетового света. Это осуществляется с помощью особого фотореактивирующего фермента, исправляющего дефекты, возникающие в ДНК хромосом при поглощении ультрафиолетовых лучей.

Гораздо более слабым физическим мутагеном, чем ионизирующая радиация и ультрафиолетовые лучи, является повышенная температура. У изученных в этом отношении организмов повышение температуры на каждые 10 градусов увеличивает частоту мутаций приблизительно в 3-5 раз. При этом возникают почти исключительно генные мутации. Характер их не отличается от спонтанных. Перестройки хромосом начинают индуцироваться только при приближении температуры к верхнему переносимому организмом пределу. Повышение температуры также усиливает действие других физических и химических мутагенов. Понятно, что все это не относится к теплокровным животным и человеку, у которых температура тела практически постоянна.

129. Каково основное положение теории мишени?

Многочисленные опыты, проведенные с вирусами, бактериями, низшими и высшими растениями, насекомыми и лабораторными млекопитающими позволили сделать вывод, что частота генных мутаций и мелких перестроек хромосом (нехваток, микроделений), вызываемых ионизирующими излучениями, прямо пропорциональна дозе последних. Другими словами, при увеличении дозы вдвое возникает в два раза больше таких мутаций, тройная доза облучения индуцирует мутаций

второе больше и т.д. Такая прямолинейная зависимость описывается уравнением $y = k + ad$, где y - общая частота наблюдаемых мутаций, k - частота спонтанно возникших мутаций, a - коэффициент пропорциональности (т.е. вероятность возникновения мутаций у данного объекта в результате облучения дозой 1 р), d - доза в рентгенах.

То обстоятельство, что частота генных мутаций линейно зависит от дозы излучений, привело к предположению что каждая такая мутация представляет результат единичной ионизации и сопутствующего ей возбуждения атома. Это же относится к мелким перестройкам хромосом – к нехваткам, обзанным одиночным разрывам хромосомы, и к микроделециям. Линейная зависимость частоты возникновения последних от дозы, согласно этому предположению, объясняется тем, что два разрыва, происходящие в хромосоме очень близко друг к другу, вызываются одной и той же причиной, т.е. тоже единичной ионизацией. Если это предположение правильно, то следует ожидать иной зависимости частоты крупных хромосомных перестроек от дозы облучения: такие перестройки происходят в результате двух далеко отстоящих друг от друга разрывов хромосом и поэтому частота этих перестроек должна была бы быть пропорциональной не дозе облучения, а квадрату этой дозы.

Изложенная выше концепция, так называемая теория мишени, согласно которой вызываемые радиацией мутации, обзаны единичным актам ионизации, повреждающим чувствительные структуры («мишени») наследственного аппарата.

Главное положение теории мишени состоит в том, что ионизирующие излучения непосредственно действуют на гены и хромосомы. Несомненно, что такое прямое действие радиации действительно играет основную роль в индукции мутаций. Ионизирующие излучения в большей степени увеличивают частоту перестроек хромосом, чем частоту генных мутаций.

130. Каково косвенное действие ионизирующих излучений на генетический аппарат?

Существуют факты, указывающие на то, что ионизирующие излучения действуют на генетический аппарат не только прямо, но и косвенно. При прохождении их через цитоплазму они вызывают там наряду с ионизацией образование короткоживущих свободных радикалов, которые могут реагировать с химическими компонентами хромосом. В частности, большое значение в этом смысле имеют свободные радикалы водорода (H) и гидроксила (OH), возникающие в результате радиоллиза воды, которой богата всякая клетка. Эти радикалы соединяются в трех возможных сочетаниях, давая либо воду ($H+OH=H_2O$), либо атомарный водород ($H+H=H_2$), либо химически очень активную перекись водорода ($OH+OH=H_2O_2$).

Прямое доказательство существования косвенного генетического действия ионизирующих излучений дали опыты, показавшие, что облучение жидкой питательной среды делает ее мутагенной для помещаемых в нее затем бактерий. Это свойство придают ей свободные радикалы и перекиси, образовавшиеся в результате облучения. На косвенное мутагенное действие ионизирующих излучений указывает также так называемый кислородный эффект, заключающийся в том, что облучение организма, проводимое в атмосфере, богатой кислородом, приводит к возникновению большего числа мутаций, чем проводимое в атмосфере, бедной кислородом.

131. Какие вещества относятся к химическим мутагенам?

Химические мутагены, открытые позже физических, насчитывают множество разнообразных веществ и каждый год список их пополняется новыми.

Самые сильные химические мутагены принадлежат к группе так называемых алкилирующих соединений – высокоактивных веществ, способных переносить алкильные группировки (CH_3 , C_2H_5 и т. д.) в другие молекулы. К числу алки-

лирующих соединений, мутагенное действие которых исследовано лучше других, относятся диметилсульфат, диэтилсульфат, горчичный газ (иприт) и его производные, этиленимин, N-нитрозоалкилмочевина, нитрозометилмочевина, нитрозоэтилмочевина, 4-бисдиазоацетилбутан, этилметансульфонат, диэтилнитрозомочевина. Последние пять из них, а также некоторые другие получили название супермутагенов из-за их особенно высокой мутагенности. Самый сильный из известных супермутагенов, диэтилнитрозомочевина, повышает частоту мутаций у мышей (по сравнению со спонтанной) почти в 90 раз, т.е. в пять раз больше, чем максимально переносимая мышами доза рентгеновских лучей. Многие мутагены, принадлежащие к группе алкилирующих соединений, обладают еще и канцерогенными свойствами, т.е. могут вызывать возникновение злокачественных опухолей.

К химическим мутагенам относятся также аналоги азотистых оснований: 5-бромурацил, 5-бромдезоксипуридин, 2-аминопурин, кофеин и ряд других; акридиновые красители, азотистая кислота, гидроксилламин, перекиси, формальдегид.

Химические мутагены способны индуцировать как генные мутации, так и перестройки хромосом.

132. Каково отличие мутагенного действия нуклеиновых кислот?

Для многих химических мутагенов характерно их prolonged действие, чего не наблюдается при индукции мутаций физическими мутагенами. Под влиянием физических факторов мутации возникают либо сразу же в момент воздействия, либо в течение некоторого, но все же очень короткого времени.

Несколько особняком стоит еще одна группа химических мутагенов, довольно сильно отличающаяся по характеру своего действия от всех других как химических, так и физических мутагенных факторов, это – природные нуклеиновые кислоты, прежде всего ДНК.

ДНК, выделенная из разных источников – из тканей млекопитающих, птиц, рыб, насекомых, растений и из вирусов, введенная в организм дрозофилы вызывает большое число видимых и летальных мутаций.

Мутации, вызываемые ДНК, представлены только генными мутациями и микроделециями, крупные перестройки хромосом полностью отсутствуют. Другое отличие эффекта чужеродных (экзогенных) ДНК от других мутагенов состоит в их высоко избирательном действии на определённые гены и участки хромосом. Ещё одно отличие заключается в очень prolunged мутагенном эффекте. ДНК-мутации индуцируются не только в потомстве подвергшихся воздействию мух, но и в нескольких последующих поколениях потомков, т.е. охватывают период в десятки клеточных поколений.

133. В чем заключается мутагенное действие вирусов?

За последние годы выяснилось, что мутагенными свойствами обладают вирусы. Изучение патологических изменений, происходящих в зараженных вирусами клетках человека и животных, показало, что там гораздо чаще встречаются аберрации хромосом, главным образом хромосомные и хроматидные разрывы, чем в здоровых клетках. Иногда эти повреждения настолько резко выражены, что хромосомы оказываются разорванными на несколько частей (фрагментация) или даже на мелкие кусочки (пульверизация). Многие из хромосомных аберраций в зараженных вирусами клетках напоминают индуцируемые радиацией и другими мутагенами, и это дало повод предположить, что вирусы способны вызывать мутации. Заражение культур клеток человека и хомячка вирусом ОВ40 обезьян и некоторыми другими вирусами вызывает в них не только хромосомные перестройки, но и генные мутации. Особенно яркие доказательства тому, что вирусы в самом деле имеют мутагенные свойства, были получены при инъекции дрозофилам разных неинфекционных для этого насекомого вирусов, т.е. таких, которые не размножаются в организме дрозофилы и не вызы-

вают там патологических явлений. Выяснилось, что все испытывавшиеся вирусы человека, животных и растений индуцируют у дрозофилы мутации, причем их мутагенное действие характеризуется теми же особенностями, которые были отмечены для ДНК. Вероятно, именно молекулы нуклеиновой кислоты, содержащиеся в вирусных частицах, представляют мутагенный элемент вирусов; в пользу этого свидетельствуют и результаты некоторых опытов, показавших, что мутагенными свойствами обладает нуклеиновая кислота вирусных частиц, а не их белковая оболочка. Способность вирусов вызывать мутации была обнаружена также у бактерий и актиномицетов.

134. Какие повреждения нуклеиновых кислот, проявляются в виде мутаций?

Повреждения молекул ДНК (и молекул РНК, представляющих геном РНК-содержащих вирусов), возникающие спонтанно или вызываемые разными мутагенами и могущие проявляться как мутации, относятся к следующим основным типам: разрывы углеводно-фосфатного остова молекулы, вставки, выпадения или химические изменения отдельных нуклеотидов, образование сшивок азотистых оснований в пределах одной нити или между двумя нитями молекулы, возникновение сшивок молекул нуклеиновых кислот с белками. Все эти повреждения молекул геномных нуклеиновых кислот не обязательно реализуются в виде мутаций: они могут репарироваться (исправляться) особыми репарирующими ферментами, восстанавливающими нормальное строение молекулы и тогда мутация не возникает. Разрывы углеводно-фосфатного скелета молекул нуклеиновых кислот (без воссоединения оборванных концов или с их воссоединением в новых сочетаниях) могут приводить к возникновению различных перестроек хромосом – нехваток, делеций, дупликаций, инверсий, транслокаций, транспозиций.

Химические изменения азотистых оснований нуклеиновых кислот или проявляются сразу в виде генных мутаций, или приводят к появлению генных мутаций в ходе последующей репли-

кации поврежденной молекулы нуклеиновой кислоты, вследствие включения в дочернюю молекулу нуклеотида с неверным азотистым основанием. При этом пуриновое основание заменяется другим пуриновым или пиримидиновое – другим пиримидиновым (такие замены называются транзициями) либо пуриновое основание заменяется пиримидиновым или пиримидиновое – пуриновым (такие замены называются трансверсиями).

135. Каково теоретическое и практическое значение работ по искусственному мутагенезу?

Работы по экспериментальному мутагенезу наглядно и на очень большом фактическом материале показали, что мутации не являются однозначной реакцией на вызывающее их воздействие: один и тот же мутаген приводит к возникновению самых разнообразных мутаций, затрагивающих различные признаки организма и изменяющих их в разных направлениях. Такое отсутствие избирательности генетического действия свойственно почти всем изученным мутагенным факторам и соответствует тому, что известно о ненаправленном характере спонтанных мутаций. Из этого вытекает, что сами по себе мутации не имеют приспособительного значения, хотя и служат тем источником наследственной изменчивости, который позволяет естественному отбору перестраивать наследственные признаки организмов.

Разработка способов искусственного вызывания мутаций открыла возможность значительного ускорения селекции путем применения мутагенов. Это дает селекционеру больший исходный материал для отбора, чем при использовании одних только гораздо более редких спонтанных мутаций. Сочетанием обычных селекционных методов с искусственным вызыванием генных и сегментных мутаций ионизирующими излучениями были выведены многие новые высокоурожайные сорта ряда сельскохозяйственных растений, ценные штаммы микроорганизмов – продуцентов антибиотиков. В последние годы, с этой же целью, в селекции все шире и с большим успехом применяются химические мутагены и супермутагены. Используются в селекции растений и

искусственное получение полиплоидных мутаций. Результаты работ по искусственному вызыванию мутаций нашли применение и в такой важной практической области, как борьба с вредными насекомыми, наносящими большой урон сельскому и лесному хозяйству или являющимися переносчиками возбудителей болезней человека и животных. Суть этого метода заключается в выпуске в природу большого числа самцов подлежащего уничтожению вида, подвергнутых до этого сильному действию радиации или химических мутагенов.

136. Какие соединения обладают антимутагенным действием?

Хромосомные aberrации и генные мутации вызывают многочисленные врожденные уродства и наследственные болезни человека. Поэтому насущной задачей является ограждение людей от действия мутагенов, повышающих в большинстве своем частоту вредных мутаций. Очень важно тщательное соблюдение мер защиты людей от радиации в атомной индустрии, при использовании радиоактивных изотопов, рентгеновских лучей и т.п. Необходимо изучение возможного мутагенного действия различных новых лекарственных средств, инсектицидов, гербицидов, химических препаратов, применяемых в промышленности, а также запрещение производства тех из них, которые окажутся мутагенными. Профилактика вирусных инфекций имеет значение не только для борьбы с вызываемыми вирусами болезнями человека, но и для защиты потомства от мутагенного действия вирусов.

Для предотвращения генетического вреда, причиняемого человеку мутагенными факторами, необходимо найти применение вещества, снижающие эффект действия мутагенов. Такие вещества, которых за последние годы обнаружено довольно много, получили название антимутагенов. К их числу относятся разнообразные по своей химической природе соединения, например, цистеамин, хинакрин, некоторые сульфаниламиды, производные пропионовой и галловой кислот и многие другие.

Разные антимутагены в различной степени тормозят действие разных мутагенов и кроме того эффективность их очень различна у разных организмов. Исследование антимутагенов помимо своего практического значения представляет также интерес для понимания молекулярных механизмов мутагенеза.

Глава XI

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ

137. Что такое оперон? Кто предложил модель оперона?

Исследование механизмов регуляции генов, кодирующих утилизацию молочного сахара лактозы у *E. coli*, позволило Ф.Жакобу и Ж.Моно (1961) предложить модель координированного контроля работы структурных генов, известную как модель оперона. Согласно этой модели, транскрипция группы структурных генов, кодирующих полипептиды, тесно связанные между собой функционально, регулируется двумя контролирующими элементами – геном-регулятором и оператором (рис. 12).

В качестве индукторов могут служить различные соединения. Лактоза представляет собой индуктор и одновременно субстрат. Транскрипция *lac*-оперона контролируется двумя элементами: небольшой молекулой - эфффектором, циклическим аденозинмонофосфатом (цАМФ) и белком-активатором CAP (от первых букв англ. catabolite activator protein — белок-активатор катаболизма), называемым также белком-рецептором цАМФ.

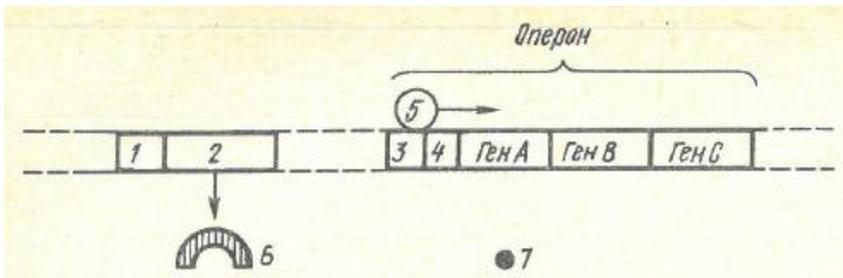


Рис. 12. Основные компоненты оперона: 1 – промотор гена-регулятора, 2 – ген-регулятор, 3 – промотор структурных генов (А, В, С), входящих в оперон, 4 – оператор, 5 – РНК-полимераза (стрелкой показано направление транскрипции), 6 – продукт гена-регулятора, 7 – молекула эфффектора (индуктора, или корепрессора)

В структуре промотора *lac*-оперона выявлено два сайта связывания. Один из них взаимодействует с РНК-полимеразой, другой - с комплексом CAP-цАМФ. Присоединение комплекса CAP-цАМФ к своему сайту на промоторе - условие индукции оперона. Следовательно, этот комплекс позитивно контролирует транскрипцию *lac*-оперона. Вслед за этим участком лежит промотор. Он состоит из нуклеотидных пар, опознаваемых РНК-полимеразой, которая прикрепляется к промотору и продвигается вдоль оперона, транскрибируя его. За промотором находится оператор, состоящий из 21 пары нуклеотидов. Оператор играет важную роль в регуляции работы оперона, так как с ним связывается регуляторный белок. После оператора расположены структурные гены, кодирующие строение ферментов, участвующих в усвоении бактерией лактозы.

Ген *lac Z* кодирует фермент β -галактозидазу, катализирующую гидролиз лактозы до глюкозы и галактозы; ген *lac Y* - галактозидпермеазу, обеспечивающую транспорт различных сахаров включая лактозу, мелибиозу и рафинозу в клетку; ген *lac A* - тиогалактозидтранс ацетилазу, роль которой в утилизации лактозы не ясна. Все три белка обычно присутствуют в клетках *E.coli* в следовых количествах. Однако при выращивании бактерий на среде, в которой единственным источником углерода и энергии служит лактоза, количество указанных ферментов увеличивается в 1000 раз.

Последовательность ДНК, состоящая из тесно сцепленных структурных генов, оператора и промотора и образующая единицу генетической регуляции, называется опероном.

Основная роль регуляции структурных генов *lac* – оперона осуществляется геном – регулятором. Ген – регулятор может локализоваться рядом с опероном или на расстоянии от него.

Если продуктом гена-регулятора является белок-репрессор, его присоединение к оператору блокирует транскрипцию структурных генов, создавая стерические препятствия для присоединения РНК-полимеразы к специфичному участку промотору, необходимому для инициации транскрипции. На-

против, если белком-регулятором служит активный апоиндуктор, его присоединение к оператору создает условия для инициации транскрипции.

В регуляции работы оперонов участвуют также низкомолекулярные вещества - эффекторы, выступающие как индукторы либо корепрессоры структурных генов, входящих в состав оперонов.

138. Что такое индукция и репрессия генов?

Действующие в клетках прокариот и эукариот регуляторные механизмы обеспечивают: 1) возможность включения или выключения экспрессии гена в ответ на изменение внешних условий; 2) программированное каскадное включение экспрессии многих генов.

Первый тип регуляции наиболее полно изучен у бактерий. У *E.coli* ферменты, обеспечивающие утилизацию сахаров в качестве единственных источников углерода и азота, синтезируются лишь в ответ на появление в среде индуктора-субстрата, которым служит соответствующий сахар. До появления субстрата в среде ген, ответственный за синтез фермента, осуществляющего его гидролиз, неактивен, или репрессирован. Под действием индуктора происходит дерепрессия гена: он включается (индуцируется). Такие ферменты называют индуцибельными, поскольку субстрат (например, лактоза) индуцирует синтез ферментов.

Выключение генов (репрессия) также может вызываться факторами внешней среды. Так, большинство генов, кодирующих ферменты синтеза аминокислот у *E.coli* или *S.typhimurium*, функционируют, когда в среде культивирования отсутствуют соответствующие аминокислоты. При выращивании в питательной среде, содержащей достаточное для роста бактерий количество этих же аминокислот, экспрессия кодирующих их генов подавляется. Эти примеры показывают существование двух групп генов (и соответственно ферментов). Одни из них в норме репрессированы и их дерепрессия происходит под влия-

нием индукторов, другие находятся в дерепрессированном состоянии и репрессировываются собственными продуктами. Несмотря на это различие, принципиальные механизмы регуляции обеих групп генов сходны - они действуют на уровне транскрипции.

Следует отметить, что оба типа регуляции осуществляются в отношении лишь тех генов, постоянное функционирование которых нежелательно для клетки, поскольку при этом расходуется энергия, необходимая для ее роста и размножения. Многие же гены детерминируют синтез таких продуктов, которые нужны клетке постоянно, например ДНК- и РНК-полимераз, рибосомальных белков, молекул тРНК и рРНК и др. Подобные гены обычно экспрессируются постоянно, поэтому их называют конститутивными.

Независимо от системы регуляции, возможен негативный и позитивный контроль экспрессии генов. В первом случае экспрессия генов продолжается до тех пор, пока она не прервется регуляторными молекулами. При позитивном контроле экспрессия генов наблюдается только в присутствии регуляторных молекул, стимулирующих транскрипцию.

139. Как осуществляется регуляция работы генов?

В любой клетке различие между ее фенотипом и генотипом определяется механизмами регуляции работы генов, кодирующих структуру полипептидов, белков, рРНК и тРНК. Такие гены называют структурными. Именно регуляцией активности структурных генов объясняется тот факт, что, несмотря на идентичность генотипов клеток многоклеточного организма, они значительно различаются по строению и функции. Переключение синтеза с одних белков на другие лежит в основе всякого развития, будь то репродукция вирусов в зараженных клетках, рост и спорообразование у бактерий, развитие эмбрионов или дифференцировка тканей. На каждом этапе этих процессов синтезируются специфические белки.

Известно несколько типов механизмов, с помощью которых один и тот же набор генов в неодинаковых условиях жиз-

недеятельности организма и на разных стадиях развития детерминирует синтез белков. Регуляция экспрессии (выражения) генов может осуществляться на нескольких уровнях: геном, транскрипционном, трансляционном и функциональном. Первый из них связан с изменением количества или локализации генов, контролирующих данный признак. Второй определяет, какие и сколько иРНК должны синтезироваться в данный момент. Третий обеспечивает отбор иРНК, транслирующихся на рибосомах. Четвертый связан с аллостерической регуляцией активности ферментов. Наконец, контроль действия генов может осуществляться путем посттрансляционной модификации полипептидов, посттранскрипционной модификации иРНК и другими путями.

Транскрипция генов в течение жизни отдельной клетки или целого организма не постоянна, поэтому необходима система регуляции генной экспрессии. В ходе эволюции возникли высокоспецифичные механизмы регуляции генов и поддержания эффективной работы генов.

140. Как происходит регуляция генов у вирусов и прокариот?

Несмотря на то, что процессы развития у вирусов и бактерий значительно проще, чем у эукариотов, у них существует генетически обусловленная программа, согласно которой происходит переключение транскрипции одних структурных генов на другие. Лучше всего каскадная регуляция работы разных оперонов изучена у фагов. Сначала происходит синтез иРНК на «предранных» генах, затем на ранних, и, наконец, на «поздних», в соответствии с тем, какие ферменты и другие белки требуются на разных этапах репликации вирусов, а затем при сборке вирионов и освобождении их из заражённой клетки.

Кроме каскадной регуляции для осуществления большинства биохимических процессов необходима согласованная регуляция работы многих оперонов. Пути биосинтеза и деградации различных метаболитов состоят из множества этапов, кон-

тролируемых многочисленными генами. Например, для активации транскрипции кишечной палочки необходимо присоединение к оперону белка-активатора CAP, т.е. белка, активизирующего катаболические гены. CAP – белок сам предварительно должен быть активизирован, присутствующим в клетке циклическим аденозинмонофосфатом (цАМФ). цАМФ представляет побочный продукт цепи синтеза пуринов и образуется особым ферментом из аденозинтрифосфатазы (АТФ). Таким образом, для обеспечения клетки активным CAP-белком требуется функционирование ряда генов, участвующих в синтезе цАМФ. CAP-белок регулирует работу многих катаболических оперонов, для которых он служит активатором транскрипции.

141. Каковы пути регуляции экспрессии эукариотических генов?

Хотя имеется некоторое сходство механизмов регуляции генной экспрессии у эукариот и прокариот, у первых система регуляции значительно сложнее. В основе функций клеток и клеточной дифференцировки у многоклеточных эукариот лежит дифференциальная регуляция экспрессии генов, т.е. происходит активация одних генов и репрессия других.

Основными факторами, определяющими более сложную по сравнению с прокариотами регуляцию экспрессии генов у эукариот, являются следующие:

1. Важнейшая особенность функционально-генетической организации эукариот – отсутствие в них оперонов, подобных оперонам бактерий. У эукариот гены, кодирующие ферменты, катализирующие последовательные этапы биосинтеза какого-либо метаболита, находятся в разных участках одной хромосомы или даже в разных хромосомах.
2. Эукариотические клетки содержат гораздо больше ДНК, чем прокариотические. При этом ДНК в комплексе с гистонами формирует хроматин, который не транскрибируется в конденсированном виде и транскрибируется

в деконденсированном, обеспечивая регуляцию экспрессии генов. Компактизация ДНК в структуре хроматина полностью блокирует синтез РНК.

3. У эукариот транскрипция отделена от трансляции как во времени, так и в пространстве. Сначала происходит транскрипция в ядре, а затем трансляция иРНК в цитоплазме.
4. Перед транспортом в цитоплазму транскрипты эукариотических генов созревают и укорачиваются (процессинг про-иРНК).
5. Период полураспада эукариотической иРНК значительно длиннее, чем прокариотической. После завершения транскрипции прокариотической иРНК остаются минуты и трансляция прекращается.
6. Большинство эукариот – многоклеточные организмы с дифференцированными клетками. В этих клетках транскрипция происходит с перекрывающихся генов, и поэтому транслируются разные белки, хотя каждая клетка содержит полный набор генов.

142. Как осуществляется групповая регуляция генов у эукариотов?

У эукариотов существует сложный путь регуляции активности генов, отсутствующий у более простых форм – это одновременное групповое подавление активности генов во всём ядре, в целой хромосоме или в большом её участке. Такая групповая репрессия работы генов осуществляется в значительной мере гистонами. В ядрах дифференцированных клеток большинство генов находится в репрессивном состоянии, число же активно работающих структурных генов различно в различных органах и тканях и на разных стадиях развития. У высших эукариотов клетка содержит чаще всего от 10 тыс. до 20 тыс. разных мРНК, но большинство из них представлена в малом количестве, обычно порядка 10 копий на клетку. Напро-

тив, остальные 10% типов иРНК – бывают там в большом количестве, от тысячи до 150 тыс. молекул каждого типа.

Все структурные гены эукариотов можно условно разделить на три типа. Во-первых, гены, функционирующие во всех клетках организма (гены, кодирующие ферменты энергетического обмена, а также гены, ответственные за синтез важнейших макромолекул и образование общих для всех клеток структур). Во-вторых, гены, функционирующие только в тканях одного типа (определяющие синтез миозина в мышцах, коллагена – во всех опорных тканях и т.п.). В третьих, гены, нужные для выполнения более узких функций (синтеза гемоглобина в эритроцитах, гормонов в эндокринных железах, белка хрусталика, фиброина шелка, кератина волос и т.д.). У эукариотов мРНК почти всегда содержит только один структурный ген, у прокариот их несколько. У эукариотов структурные гены, ответственные за разные звенья той или иной цепи биохимических реакций, как правило, разбросаны по геному.

У эукариотов широко распространена согласованная регуляция генов, принадлежащих к разным оперонам, пространственно разобщённых в хромосоме или даже находящихся в разных хромосомах. Наиболее яркий пример групповой регуляции активности генов – это полное прекращение транскрипции всех генов, происходящее в сперматогенезе у животных. Групповое выключение генов, находящихся в одной хромосоме, происходит в онтогенезе самок млекопитающих. У них гены обеих X-хромосом активны на ранних эмбриональных стадиях, до определения пола. С определённой стадии развития гомогаметных особей в их соматических клетках одна из двух X-хромосом целиком гетерохроматизируется и гены перестают транскрибироваться. Вследствие этого у гомогаметного пола фенотипически проявляется только один набор лежащих в X-хромосоме генов, т.е. в этом отношении положение уравнивается с гетерогаметным полом.

Другим способом эта же цель достигается у дрозофилы. Здесь активность X-хромосомных генов у самцов вдвое выше,

чем у самок. Явление это получило название компенсации доз генов.

143. Какие примеры свидетельствуют о многообразии способов реализации генетической информации?

Генная активность может регулироваться в процессе развития организма. Известно, например, что у человека каждая молекула гемоглобина состоит из двух полипептидов типа α и двух типа β . Полипептид типа α состоит из двух цепей - ζ и α . Обе цепи кодируются дублированными генами (ζ_1 , ζ_2 и α_1 , α_2). Гены ζ активируются в раннем эмбриогенезе, гены α - преимущественно у плодов и у взрослых организмов. Полипептиды типа β представлены субъединицами ϵ , γ , δ , β . Кодирующие их гены расположены в 11-й хромосоме, причем также в порядке их экспрессии. Ген ϵ экспрессируется у эмбрионов, γ - у плодов, δ и β - у взрослых особей. Однако ген δ экспрессируется плохо, поэтому у взрослых гемоглобин состоит из четырех цепей $\alpha_2\beta_2$.

Модификации ДНК, главным образом метилирование цитозина, также влияют на действие генов. Например, активные гены гемоглобина менее метилированы, чем неактивные.

Примеры регуляции на генном уровне - различные случаи программированных количественных изменений ДНК.

Примером регуляции, обусловленной транспозицией служит феномен переключения типов спаривания у дрожжей.

Регуляция, связанная со сплайсингом ДНК, изучена на примере генов, кодирующих синтез антител. Сплайсинг обеспечивает сшивание консервативных (т.е. постоянно присутствующих) районов этих генов с различными варьирующими. Подобный механизм лежит в основе разнообразных комбинаций последовательностей, в результате чего появляется большое число типов антител, поскольку любая консервативная область может быть присоединена к любой варьирующей.

Регуляция на уровне процессинга РНК обеспечивает возможность образования зрелой, функционально активной иРНК.

Экспрессия генов на уровне посттрансляционной модификации полипептидов регулируется путем расщепления различных белков-предшественников на их конечные функционально активные продукты.

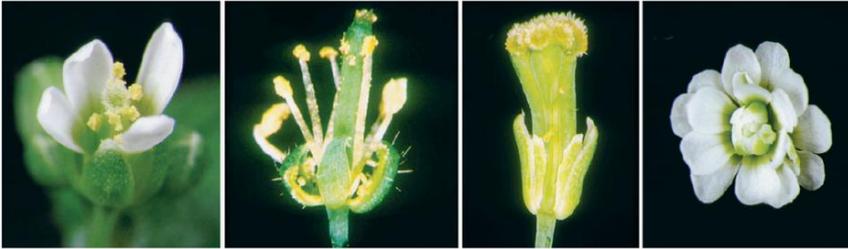
Рассмотренные примеры свидетельствуют о многообразии способов реализации генетической информации путем регуляции активности самих генов либо их продуктов.

144. Какие регуляторные элементы контролируют транскрипцию?

Основными типами регуляторных элементов эукариот являются промоторы и энхансеры. Они локализуются внутри генов, вблизи от них или на некотором расстоянии. Регуляторные элементы взаимодействуют с разнообразными белками – факторами транскрипции, которые служат модуляторами активности промоторов и энхансеров. Промоторы содержат нуклеотидные последовательности, узнающие РНК-полимеразу, или сайты связывания РНК-полимеразы. В промоторах инициируется транскрипция, и они располагаются вплотную к генам, экспрессию которых регулируют. Элементами промотора являются ТАТА-боксы и СААТ-боксы, локализованные вблизи от сайта инициации транскрипции.

На транскрипцию большинства эукариотических генов влияют цис-действующие элементы, называемые энхансерами. Энхансеры значительно повышают эффективность транскрипции. Положение энхансеров не фиксировано, они могут быть локализованы в 3' и 5' положении от гена или внутри гена. В отличие от энхансеров (усилителей) существуют зоны ДНК, ответственные за репрессию активности генов – сайленсеры. В геноме существуют особые структуры, называемые инсуляторами (от англ. *insulate* - изолировать, отделять от окружения). Инсуляторы разграничивают соседние гены, блокируя взаимодействия между энхансерами и неподходящими промоторами.

ГЕНЕТИКА ОНТОГЕНЕЗА



145. Что является генетической основой развития?

Генетической основой развития является дифференциальная экспрессия генов. Она меняется во времени в одной и той же ткани и различается в разных тканях на одной и той же стадии развития. Дифференциальная экспрессия генов необходима для достижения взрослой стадии и поддержания структур взрослого организма. Такие процессы, как детерминация, дифференцировка и межклеточные взаимодействия, регулируют эмбриональную программу генной экспрессии.

Развитие у многоклеточных организмов осуществляется сложной системой процессов роста и дифференцировки. Характер и последовательность этих процессов различны у представителей разных систематических групп, но всюду определяются врожденным и строго запрограммированным в геноме порядком включения и выключения активности генов. А так как разнообразные факторы среды могут в известной степени изменять течение этих обусловленных генами процессов, то фенотип организма всегда представляет результат взаимодействия генотипа и окружающей среды.

У прокариотов и одноклеточных эукариотов путь от гена до признака относительно очень короток, все наследственные признаки непосредственно определяются содержащимися в клетке генами, активность которых регулируется протекающими

ми в ней же процессами. В отличие от этого, у огромного большинства многоклеточных организмов, в том числе у всех высших растений, животных и человека, путь от гена до признака гораздо длиннее и сложнее. Их морфологические и биохимические признаки, как правило, обусловлены деятельностью ряда поколений множества взаимодействующих между собой клеток, различающихся находящимися в активном состоянии генами и поэтому обладающих разными свойствами.

У многоклеточных растений и животных оплодотворённая яйцеклетка начинает цикл развития, который приводит к формированию взрослых особей данного вида, производящих яйцеклетки и сперматозоиды. Тысячи, миллионы и даже миллиарды клеток организуются в сплоченную и скоординированную единицу, которая представляет собой целый организм.

146. Каковы общие закономерности изменения активности генов в онтогенезе?

Молекулярно-генетические процессы, определяющие течение начальных этапов индивидуального развития, изучены главным образом у животных и оказались в основном сходными у разных исследованных в этом отношении представителей как беспозвоночных (насекомые, иглокожие), так и позвоночных (земноводные, млекопитающие).

В течение онтогенеза в будущей яйцеклетке происходит усиленный синтез рРНК, рибосом и тех иРНК, которые после оплодотворения понадобятся для начального периода развития. Кроме того, запасы иРНК в яйце пополняются молекулами иРНК, проникающими в него из клеток яичника. Запасенные в яйце, но не используемые в нем продукты транскрипции сохраняются в его цитоплазме - в рибосомах и в информосомах (т.е. в комплексах молекул иРНК с белками). После оплодотворения, при котором спермий вносит в яйцо отцовский геном, начинается дробление, на первых порах регулируемое исключительно информацией, содержащейся в яйце. Реплицируется ДНК, идёт активный синтез белка за счет полученного из яйца

запаса рибосом и иРНК, но не происходит синтез новых молекул РНК, так что ни материнский, ни отцовский геном в этом периоде не транскрибируются.

В качестве типичных примеров показано, как изменяется активность генов в раннем эмбриогенезе лягушки и мыши. В эмбриогенезе лягушки синтез иРНК, прекратившийся в яйце, возобновляется только после десяти делений дробления, т.е. в середине стадии бластулы, когда зародыш состоит уже приблизительно из 1000 клеток; тРНК начинают синтезироваться в конце стадии бластулы, а рРНК и новые рибосомы впервые образуются только на стадии гастрюлы. В эмбриогенезе мыши синтез иРНК, тРНК и рРНК начинается раньше, на стадии 2-4 бластомеров, но и тут первые стадии развития зародыша протекают по плану сначала исключительно, а затем преимущественно информации, полученной от матери через цитоплазму яйца. Такой разрыв во времени между транскрипцией и трансляцией генетической информации не имеет места у прокариотов и вирусов, но характерен для эукариотов и встречается у них не только в эмбриональном развитии, но и на более поздних этапах онтогенеза.

На протяжении первых стадий эмбриогенеза, вплоть до поздней бластулы, реализуется главным образом та часть генетической информации, которая касается общих метаболических процессов, присущих всем делящимся клеткам. Затем происходит постепенная дерепрессия тканеспецифичных генов, т.е. начинается дифференцировка клеток зародыша. У животных на стадии гастрюлы и позже обособляются так называемые стволовые клетки, разные популяции которых дают начало различным тканям и органам. Дальнейшее развитие и у животных, и у растений происходит путем каскадной активации и репрессии генов в разных взаимозависимых цепях онтогенетических процессов. Большую роль при этом играет генетически запрограммированное усиление размножения одних клеточных клонов и отмирание других, что конечно тоже связано с регуляцией активности их генов.

147. Определяет ли каждый ген только один признак организма?

Генетические исследования показали, что почти всегда можно обнаружить влияние гена на разные признаки и стало очевидным что такое плейотропное проявление характерно для огромного большинства организмов.

У человека плейотропное проявление генов обнаруживается при изучении синдромов (комплексов патологических изменений фенотипа), характерных для многих генных мутаций. Так, у лиц, страдающих арахнодактилией, вызываемой доминантной мутацией, очень удлинены пальцы рук и ног и в то же время наблюдаются вывихи хрусталика глаза и врожденные пороки сердца. Редкое наследственное заболевание галактоземия ведет к слабоумию, циррозу печени и слепоте; это сочетание симптомов обязано рецессивной мутации гена, кодирующего галактозо-1-фосфатуридилтрансферазу – один из ферментов, необходимых для усвоения клетками молочного сахара. Известно большое число подобных наследственных болезней человека, при которых мутация отдельного гена приводят к многообразному изменению фенотипа.

У крыс описано плейотропное проявление мутантного гена, обладающего рецессивным летальным действием на ранних постнатальных стадиях. На первый взгляд, большинство этих изменений - увеличение содержания гемоглобина в крови, неправильный прикус, сердечная декомпенсация, деформация ребер и невозможность сосания не имеют ничего общего друг с другом. Однако на самом деле все эти изменения представляют следствия одной и той же причины – произошедшая мутация нарушает нормальное развитие хрящей.

Среди сотен изученных генных мутаций дрозофилы у подавляющего большинства обнаружена та или иная степень плейотропности. Некоторые мутации изменяют фенотип мухи очень разносторонне.

Явление плейотропии очень широко распространено и в мире растений. У многих низших и высших растений известны

генные мутации, затрагивающие синтез хлорофилла, но не в такой степени, чтобы сделать невозможным фотосинтез. Такие мутации наряду с ослаблением зеленой окраски листьев и стеблей, вызывают изменения множества других морфологических и физиологических признаков – высоты растения, числа и размера листьев и цветков, продолжительности развития, продукции семян или спор, стойкости по отношению к неблагоприятным внешним условиям и т.п.

148. Может ли множество генов влиять на один признак?

Каждый ген влияет, как правило, на разные признаки организма. В то же время имеется огромное количество фактов, указывающих на то, что любой морфологический, физиологический или биохимический признак определяется взаимодействием многих генов. Образование красного глазного пигмента дрозофилы контролируется несколькими генами. Описаны мутации свыше 50 разных генов, влияющих на окраску глаз этого насекомого, и установлено, что нормальный темно-красный цвет глаз диких дрозофил (обусловлен наличием в глазах красного и бурого пигментов) определяется взаимодействием по меньшей мере всех этих генов. У кукурузы и ряда других растений известно множество различных генов, влияющих на синтез хлорофилла. Еще от большего числа генов зависят такие сложные интегральные признаки, как жизнеспособность и плодовитость. Это установлено для кишечной палочки, нейроспоры, кукурузы, дрозофилы, мыши и многих других организмов и несомненно является общим правилом.

Таким образом, участие большого числа взаимодействующих генов в определении любого фенотипического признака представляет универсальную закономерность, хотя степень влияния разных генов на данный признак может быть очень различной. Обычно мутации одних генов сильно изменяют признак, мутации других генов затрагивают его несколько меньше, мутации третьих сказываются на нем, совсем слабо.

Сведения о взаимодействии генов, находящихся в разных клетках, существенно пополнились за последние годы благодаря исследованиям, выполненным на аллофенных мышах. Аллофенными называют химерные организмы, развивающиеся из сочетания бластомеров двух или более генотипически разнородных зародышей. Рождающиеся мышата представляют собой мозаиков, каждый из которых происходит от четырех или более родителей. К настоящему времени разработаны приемы, позволяющие добиться слияния культивируемых в искусственных средах не только клеток различных млекопитающих (мышь и крыса, мышь и человек и др.), но и клеток столь отдаленных видов, как человек и курица, человек и комар и даже человек и морковь, человек и табак, курица и дрожжи и т.п.

149. Что такое генный баланс?

Определение соотношения числа разных хромосом в клетках организма, показало зависимость признака от общего баланса генов, содержащихся в этих хромосомах.

Взаимодействие многих генов в формировании различных фенотипических признаков может быть обнаружено и без идентификации конкретных генов, влияющих на тот или иной признак. Это достигается изучением зависимости признака от соотношения числа разных хромосом в клетках организма, т.е. от общего баланса генов, содержащихся в этих хромосомах.

Хорошей иллюстрацией генного баланса может служить влияние соотношения половых хромосом и аутосом на половые признаки большинства раздельнополых организмов.

Установлено, что половые признаки дрозофилы определяются соотношением числа X-хромосом и наборов аутосом. X-хромосома направляет развитие организма в сторону самки, а аутосомы – в сторону самца. При соотношении $X/A=1,5$ получаются «сверхсамки», имеющие женский фенотип, но бесплодные и со слегка измененной структурой глаз и крыльев. Равенство числа X-хромосом и наборов аутосом, т.е. соотно-

шение $X/A=1$, определяет нормальный женский фенотип и у диплоидных, и у полиплоидных мух. Уменьшение числа X-хромосом относительно числа наборов аутосом сдвигает фенотип в мужскую сторону. При соотношении $X/A=0,67$ получаются бесплодные интерсексы, по своим половым признакам занимающие промежуточное положение между самками, и самцами. Соотношение $X/A=0,5$ дает нормальных самцов, а соотношение $X/A=0,33$ «сверхсамцов», фенотипически сходных с нормальными самцами, но бесплодных.

У млекопитающих пол определяется в основном соотношением числа X- и Y-хромосом.

У человека X-хромосома направляет развитие организма в женскую сторону, а Y-хромосома – в мужскую. Соотношение $X/Y=1$ определяет нормальный мужской фенотип, число $2X$ соответствует нормальному женскому фенотипу. Соотношение $2X/2Y=1$, $3X/2Y=1.5$, $2X/1Y=2$, $3X/1Y=3$ встречается у мужчин, с различной степенью развития синдрома Клайнфельтера.

150. Что такое дифференцировка и детерминация?

Индивидуальное развитие начинается с оплодотворённой яйцеклетки. Организм новорождённого ребёнка содержит около 10^{14} клеток, тело взрослого человека состоит из 10^{15} - 10^{16} клеток. В результате онтогенеза формируются органы и ткани. В ходе дифференцировки образуются структуры, готовые к выполнению тканеспецифических функций. Дифференцированное состояние в норме стабильно: клетки нервной ткани не превращаются в печеночные или эпителиальные клетки кишечника и наоборот. В этом случае можно утверждать, что клетки детерминированы, т.е. могут развиваться только в каком-либо определённом направлении. Детерминация начинается в раннем эмбриогенезе и постепенно сужает число возможных превращений клеток до одного какого-либо дифференцированного состояния.

Специфические особенности дифференцированных клеток, возникающие в ходе онтогенеза, стабилизируются и на-

следуются последующими клеточными поколениями. Это четко доказано, в частности, исследованиями, проведенными на клетках, культивируемых вне организма. Так, культивируемые в искусственной питательной среде хрящевые клетки куриного эмбриона сохраняют в течение десятков клеточных поколений характерные для них свойства вырабатывать внеклеточную капсулу, синтезировать хондриотинсульфат и образовывать клоны определенной морфологии. Соединительнотканнные клетки на протяжении многих пассажей в культуре проявляют способность вырабатывать коллаген. Культивируемые вне организма клетки сетчатки глаза так же длительно сохраняют способность производить пигмент. Подобных примеров известно очень много.

Передаваемые ряду клеточных поколений различия разных типов дифференцированных клеток не могут быть объяснены изменениями их генотипа. К настоящему времени доказано, что дифференциация клеток в большинстве случаев полностью обратима. Факты показывают, что дифференцированная клетка содержит полный комплект генов, свойственных данному организму.

151. Кем были получены экспериментальные данные, объясняющие механизмы дифференцировки?

Экспериментальные данные, объясняющие механизмы дифференциации, были получены Дж. Гердоном в начале 60-х годов на *Xenopus laevis*. Неоплодотворённые яйцеклетки облучали дозой ультрафиолета, которая инактивировала ядра, но практически не повреждала цитоплазму. С помощью микрохирургической техники в такие энуклеированные яйцеклетки пересаживались ядра из дифференцированных клеток – эпителия кишечника головастика. В некоторых случаях удалось получить полностью нормальных плодовитых взрослых особей: из опытов Гердона можно сделать два вывода: во-первых, в процессе дифференцировки не происходит необратимых повреждений генома; во-вторых, перенесённые ядра тканевой клетки в

неоплодотворённое яйцо приводит к полному возврату дифференцированного состояния. Эти и многие другие аналогичные факты не оставляют сомнения в том, что каждая клетка организма в генетическом смысле тотипотентна, т.е. несёт всю полноту его генетической информации.

Опыты Дж.Гердона показали, что нормальная дифференцировка клеток у животных не сопровождается утратой или необратимой инактивацией генов. Пользуясь схемой опыта, которую разработали Дж.Гердон и его сотрудники, группа учёных из Шотландии провели трансплантацию ядер из дифференцированных клеток в яйцеклетки овец и получили нормально сформированного животного. Тот факт, что овечка выросла из яйцеклетки взрослого животного, доказывает отсутствие необратимых модификаций генетического материала в ходе нормального развития.

В исследованиях растений проблема тотипотентности не возникала, так как давно известно, что кусочки листа, стебля, корня дают новые растения с цветами и семенами. Целые растения вырастают и из отдельных клеток, входящих в состав каллуса. Многочисленные опыты показали, что у высших растений из соматических клеток растений также можно получить полноценные фертильные растения.

152. Почему происходит избирательное размножение и гибель клеток?

Важную роль в онтогенезе большинства эукариотов играет генетически запрограммированное размножение одних типов клеток и гибель других.

Запрограммированная гибель некоторых типов дифференцированных клеток представляет важную черту нормального онтогенеза высших организмов и происходит как на протяжении эмбрионального развития, так и в постэмбриональный период. Разделение пальцев конечностей у эмбрионов позвоночных вызвано гибелью клеток, соединяющих зачатки пальцев. Образование просветов многих внутренних органов про-

исходит тоже вследствие гибели клеток. Гибель некоторых типов дифференцированных клеток в постэмбриональном периоде необходима для правильного развития и нормальной жизнедеятельности организма. При превращении головастика в лягушку клетки хвоста и жабер погибают и резорбируются. Выше уже упоминалось о разрушении личиночных тканей и органов во время метаморфозы насекомых. Всем известны отмирание семядолей проростков растений, увядание и опадение отцветших цветков. При образовании эритроцитов у млекопитающих клетка теряет ядро, поэтому эритроциты обречены на скорую гибель и количество их должно непрерывно пополняться. Многие секреторные клетки погибают после выделения ими секрета. Во всех этих и множестве других примеров предусмотренная наследственной программой гибель клеток наступает на определенной стадии их дифференциации. Так, врожденное уродство – сросстопалость, встречающаяся у человека, определяется доминантным мутантным геном, в присутствии которого клетки эмбриона, соединяющие зачатки пальцев и в норме погибающие, выживают, вследствие чего пальцы остаются сращенными.

153. Что такое апоптоз?

Большинство, если не все клетки животных обладают способностью к саморазрушению в результате активирования внутренних генетических программ самоубийства в тех случаях, когда данные клетки более не требуются организму или если они серьезно повреждены. Исполнение этой программы смерти часто связано с характерными морфологическими и биохимическими изменениями, и эта форма клеточной смерти называется апоптозом (термин происходит от греческого слова, описывающего листопад).

В ходе апоптоза ядро и цитоплазма конденсируются и умирающая клетка часто фрагментируется на апоптозные тела, окруженные мембранами, которые затем подвергаются фа-

гоцитозу и перевариваются макрофагами или соседними клетками (рис. 13).

Апоптоз следует отличать от обычной некротической гибели клеток. Последняя, как правило, вызывается острым повреждением клетки, которое характеризуется быстрым ее набуханием и лизисом. Апоптоз часто сопровождается активацией нуклеаз, расщепляющих хромосомную ДНК сначала на большие (50-300 тпн), а потом на все более мелкие фрагменты.

Как сейчас широко признается, апоптоз играет важную роль в формировании организма и регуляции числа клеток в организме, как защитный механизм для удаления ненужных или потенциально опасных клеток, таких как самоактивирующиеся лимфоциты, клетки, инфицированные вирусами, или опухолевые клетки.

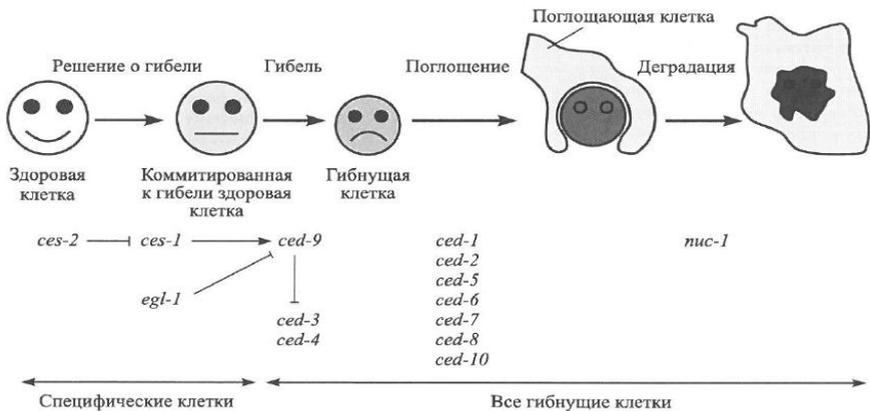


Рис. 13. Генетический путь программированной клеточной гибели у *Caenorhabditis elegans*: → - позитивная регуляция, ⊥ - негативная регуляция. Было выделено 14 генов, которые на различных стадиях контролируют этот процесс.

Апоптоз контролируется многими сигналами. Один из них был найден у дрозофилы. В результате генетического анализа был обнаружен ген *reaper* (*rpr*) (в переводе с англ. — «жнец» или «косец»), который способен аккумулировать внешние и внутренние сигналы. Делеции, удаляющие ген *rpr*,

подавляют апоптоз в ответ на любой стимул, известный до сих пор. У эмбрионов дрозофилы мРНК гена *rpr* специфически выявляется в клетках, обреченных на гибель. Начало экспрессии гена на 1-2 ч. опережает появление первых морфологических признаков апоптоза. Этот ген быстро индуцируется в ответ на облучение рентгеновскими лучами. Кроме того, искусственная активация гена *rpr* приводит к гибели клеток, которые обычно не подвержены апоптозу. Ген *rpr* кодирует небольшой полипептид из 65 аминокислот, который не имеет существенного сходства с другими известными белками.

154. Что такое пенетрантность и экспрессивность генов?

Формирование фенотипа в ходе развития организма в большой мере зависит от того, насколько полно проявляются его гены и каково их выражение. Способность гена проявляться в фенотипе называют пенетрантностью. Мерилом пенетрантности служит доля особей, гетерозиготных или гомозиготных по определенному доминантному гену, или особей, гомозиготных по определенному рецессивному гену, у которых этот ген фенотипически проявился. Например, 100%-ная пенетрантность рецессивного гена *a* означает, что все особи *aa* имеют фенотипические особенности, отличающие их от особей *AA* и *Aa*; если же этой фенотипической особенностью обладает только половина особей *aa*, другая половина их фенотипически подобна особям *AA* и *Aa*, то говорят, что ген *a* характеризуется 50%-ной пенетрантностью.

Степень выражения влияния гена на фенотип называется экспрессивностью.

И пенетрантность, и экспрессивность гена могут зависеть от условий среды, в которых развивается организм, а также влияния других присутствующих в организме генов. Есть гены, которым присуща полная, т.е. 100%-ная пенетрантность в любых условиях, позволяющих организму выжить, и при любом наборе других генов в его геноме. Так, у человека доминантный ген темной окраски радужной оболочки глаз и его рецес-

сивный аллель, обуславливающий ее светлую окраску, всегда проявляются у всех лиц в полном соответствии с тем, в каком сочетании находятся у них эти аллели. Это же справедливо для пары аллельных генов, определяющих у человека группы крови АВ, А, В и 0. Такой неизменно полной пенетрантностью характеризуются многие гены у всех генетически изученных организмов, но наряду с этими генами известно и множество неполнопенетрантных. В отношении экспрессивности тоже имеются существенные различия между генами. Есть гены, экспрессивность которых остается постоянной или почти постоянной при разных условиях окружающей среды и в разных генотипах, у других же она варьирует под влиянием этих факторов. Так, из двух упомянутых пар генов человека аллели, определяющие группы крови, характеризуются весьма константной экспрессивностью.

155. Какую роль играет генотип в развитии особенностей поведения?

Несомненно, что наследственность, играет существенную роль в формировании поведения животных и человека, но изучение этой роли весьма затрудняется тем, что поведение в очень большой степени зависит от условий среды, в которой развивается и живет организм, причем удельный вес влияния среды в становлении особенностей поведения в общем тем больше, чем совершеннее строение нервной системы и чем сложнее и разнообразнее формы поведения. Кроме того, проведенные исследования показывают, что наследственные различия часто определяются многими генами, что создает дополнительные трудности для генетического анализа. Особенно это касается сложных интегративных форм поведения.

Работы по генетике поведения, начавшиеся еще в первые годы прошлого столетия и развернувшиеся более широко главным образом за последние 10-15 лет, охватывают обширный круг организмов от относительных примитивных - инфузорий, колероваток, нематод – и до млекопитающих, включая

человека, но большинство исследований в этой области выполнено на немногих хорошо изученных в генетическом отношении и быстро размножающихся лабораторных животных (дрозофила, мышь, крыса), которых к тому же можно содержать в строго контролируемых условиях, и для которых разработаны тесты, позволявшие достаточно точно количественно охарактеризовать различные поведенческие реакции.

В последнее время большие успехи достигнуты в области исследований генетики поведения дрозофилы. Открыты гены, влияющие на эффективность обучения, детально изучено довольно сложное брачное поведение мух.

Циркадные ритмы описаны почти у всех эукариот, включая высшие растения, грибы, насекомых и млекопитающих. У человека многие жизненно важные процессы имеют циркадную ритмику: физическая и умственная активность, сердечный пульс, пищеварение, выделение адреналина. Наиболее сложной и недоступной для генетического анализа является сфера психологии человека, поведенческие и личностные характеристики, психические функции такие как мотивация поступков, приверженность привычкам, расположенность к определённой сфере деятельности или психическим болезням, способность к обучению, ум, внимание, темперамент, фантазия, память и т.д.

Глава XIII

ГЕНЕТИКА ПОПУЛЯЦИЙ

156. Что такое популяция?

Одним из важных направлений современной генетики, имеющей большое значение для эволюционного учения, является исследование генетических процессов, протекающих в природных популяциях организмов.

Любой вид живых существ распространен по занимаемому им ареалу не сплошь, а в той или иной мере обособленными друг от друга совокупностями особей – популяциями. Это объясняется прежде всего тем, что условия жизни в разных местах ареала неоднородны и особи данного вида концентрируются преимущественно в наиболее благоприятных для них участках ареала. Таким образом, популяции – это реально существующие ячейки, из которых состоит вид, и именно в них осуществляются начальные этапы эволюционного процесса, ведущие в дальнейшем к возникновению новых видов. Однако не всякая изолированная группа особей представляет популяцию: в пределах популяции особи часто тоже распространены неравномерно, образуя относительно немногочисленные группы, сохраняющиеся лишь в течение короткого времени (на протяжении одного-двух поколений), поэтому такие группы не обладают собственной эволюционной судьбой, отличной от судьбы остальной части популяции, из которой они временно выделились и с которой быстро снова смешиваются. Наиболее четкое определение популяции можно дать для видов, размножающихся половым путем при перекрестном оплодотворении. У них популяция – это совокупность особей данного вида, в течение длительного времени (большого числа поколений) населяющая определенное пространство, состоящая из особей, могущих свободно скрещиваться друг с другом, и отделенная от таких же соседних совокупностей одной из форм изоляции (пространственной, сезонной, физиологической, генетической).

Популяция является элементарной единицей эволюционного процесса. При исследовании популяционной генетики данной популяции подсчитываются частоты встречаемости в ней различных аллелей и генотипов и прослеживаются изменения этих показателей при смене поколений. При изучении процесса эволюции важное значение имеет представление о генофонде. Генофондом называется совокупность генотипов всех особей популяции. Для диплоидных организмов генофонд популяции, насчитывающем N особей, состоит из $2N$ гаплоидных геномов. Доля гамет, несущих определённый аллель в генофонде, отражает частоту встречаемости данного аллеля в популяции.

Основной генетической характеристикой популяции является наследственная гетерогенность, внутреннее генетическое единство и динамическое равновесие отдельных генотипов.

157. О чем гласит закон Харди-Вайнберга?

Любая популяция представляет смесь особей, не вполне генотипически одинаковых. Многие гены существуют там в виде различных аллелей и разные особи отличаются друг от друга по этим аллелям. Для понимания генетических процессов, протекающих в популяции, необходимо знать, какие закономерности управляют распределением генов между особями, изменяется ли это распределение из поколения в поколение и если изменяется, то каким образом. Некоторые аспекты этой проблемы были теоретически проанализированы еще в 1908 г. одновременно двумя учеными – Г. Харди в Англии и В. Вайнбергом в Германии. Важный итог их работ известен в генетике, как формула Харди – Вайнберга.

Рассмотрим распределение двух аллелей A и a аутосомного гена в популяции перекрестнооплодотворяющихся организмов. Допустим, что численность этой популяции бесконечна велика, популяция полностью изолирована от других популяций этого вида и в ней происходит чисто случайное образо-

вание родительских пар, не зависящих от их генотипов и фенотипов (свободное скрещивание или панмиксия).

Допустим, что число доминантной и рецессивной аллелей будет одинаковым и равным 0,5. Построив решётку Пеннета убедимся, что в F_1 соотношение генотипов будет $0,25AA:0,5Aa:0,25aa$.

♀ \ ♂	♂	
		$0,5A$
$0,5A$	$0,5A$	$0,25AA$
$0,5a$	$0,5a$	$0,25Aa$
		$0,5a$
		$0,25Aa$
		$0,25aa$

Ясно, что в следующем поколении частота образования гамет с доминантной и рецессивной аллелями тоже будет равновероятна, т.е. $0,5A$ и $0,5a$. В таком случае, если свободное скрещивание сохранится, относительная частота разных генотипов не изменится, и такая же картина генетической структуры популяции будет сохраняться и в последующем. Аналогичные закономерности будут наблюдаться и в тех случаях, когда исходные частоты аллелей неодинаковы. Формула Харди-Вайнберга, отражающая частоту генов в популяциях, имеет следующий вид:

$$(p+q)^2=1 \text{ или } p^2+2pq+q^2=1,$$

где p^2 – частота гомозиготного потомства по аллели A ; $2pq$ – частота гетерозигот Aa ; q^2 – частота гомозиготного потомства по аллели a . Аллели A и a присутствуют в популяции с частотами p и q , сумма которых равна 1, т.е. формулу Харди-Вайнберга можно записать и так:

$$p^2AA+2pqAa+q^2aa=1$$

Согласно формуле Харди-Вайнберга в идеальной популяции, т.е. в той на которую не оказывают действия мутации, миграции, дрейф генов, естественной отбор сохраняется равновесие, частота аллелей из поколения в поколение не меняются.

158. Какие факторы оказывают действие на генетическую изменчивость популяции?

Согласно формуле Харди-Вайнберга, в идеальной популяции, находящейся в равновесии, доли разных генотипов должны неограниченно долго оставаться постоянными. Однако в реальных популяциях эти доли могут изменяться из поколения в поколение вследствие следующих причин: нарушения панмиксии (отсутствия или ограничения свободы скрещиваний), малочисленности популяции, частичного перемешивания разных популяций, возникновения мутаций, наличия отбора.

В таких популяциях не будет сохраняться равновесие их генетического состава, требуемое формулой Харди-Вайнберга, а напротив распределение частот генотипов будет изменяться за счет увеличения доли гомозигот (AA и aa) и уменьшения доли гетерозигот.

Важнейшим источником генетической изменчивости являются мутации. Мутации не только представляют основу разнообразия генов в популяциях, но и существенно влияют на генетическое строение популяций. Отсутствие или ограничение панмиксии может сильно отражаться на генетическом строении популяций. Крайним случаем является полное отсутствие панмиксии, наблюдаемое в популяциях строго самооплодотворяющихся организмов, например растений, размножающихся только самоопылением.

Изменения генетического строения популяции могут вызываться и чисто случайными, статистическими причинами. В реальной популяции численность родителей, дающих следующее поколение, всегда не бесконечно велика, как принималось для идеальной популяции, а ограничена, и поэтому распределение частот генотипов среди них может в силу случайного характера выборки оказаться несколько иным, чем во всей популяции в целом. Изменения такого рода тем значительнее, чем меньше эффективная численность популяции, т.е. число особей, фактически участвующих в размножении. Этот процесс изменения частот генов, в малочисленных популяциях, обязан-

ный случайному сочетанию пар при размножении, получил название дрейфа генов. Роль дрейфа генов в изменении генетического строения популяции быстро падает с ростом её эффективной численности.

Реальные популяции в пределах вида сравнительно редко бывают полностью изолированными; большей частью происходит некоторое передвижение особей из одной популяции в другую (миграции). Изменения частот генов, связанные с миграцией особей из популяции в популяцию, называют «перетеканием генов». Изменения эти тем значительнее, чем большую долю составляют иммигранты в популяции, в которую они вливались, и чем сильнее различаются частоты генов в основной популяции и среди иммигрантов.

Единственной силой, направляющей эволюцию органического мира, является естественный отбор. Это направляющее действие отбора проявляется и на начальных этапах эволюционных изменений, протекающих в популяциях и ведущих к внутривидовой дифференциации и образованию новых видов. Поэтому очень важно знать, как влияет отбор на генетическое строение популяций.

159. Можно ли использовать закон Харди-Вайнберга для подсчёта нескольких аллелей?

Нередко в одном генетическом локусе можно обнаружить несколько аллелей. Один из таких примеров группа крови АВО у людей. Локус I (изоагглютинин) имеет три аллели (I^O , I^A , I^B). Обозначим частоты аллелей А, В, О как p , q и r соответственно, тогда частоты генотипов определяется следующим образом:

$$(p+q+r)^2=p^2+q^2+r^2+2pq+2pr+2qr=1$$

Равновесие частоты генотипов для локуса с тремя аллелями представлены в табл. 4.

Табл. 4. Равновесие Харди-Вайнберга для трёх аллелей

Частоты гамет у самок	Частоты гамет у самцов		
	p (A_1)	q (A_2)	r (A_3)
p (A_1)	p^2 (A_1, A_1)	pq (A_1, A_2)	pr (A_1, A_3)
q (A_2)	pq (A_1, A_2)	q^2 (A_2, A_2)	qr (A_2, A_3)
r (A_3)	pr (A_1, A_3)	qr (A_2, A_3)	r^2 (A_3, A_3)

В итоге: $A=p^2+2pr$, $B=q^2+2qr$, $AB=2pq$, $O=r^2$, т.е. $p^2+q^2+r^2+2pq+2pr+2qr=1$.

160. Можно ли рассчитывать частоты гетерозигот по закону Харди-Вайнберга?

Одно из применений закона Харди-Вайнберга – оценка частоты гетерозигот в популяции.

Муковисцидоз, аутосомный рецессивный признак, встречается с частотой около $1/2500=0,0004$. Таким образом, частота рецессивного аллеля составляет:

$$q = \sqrt{q^2} = \sqrt{0,0004} = 0,02$$

Частота доминантного аллеля равна:

$$p=1-q=1-0,02=0,98$$

По уравнению Харди-Вайнберга частота гетерозигот определяется как $2pq$:

$$2pq=2 \times 0,98 \times 0,02=0,04=4\% \text{ или } 1/25$$

В итоге гетерозиготы по гену муковисцидоза встречаются в популяции сравнительно часто (4%), несмотря на то, что рецессивные гомозиготы встречаются очень редко (0,02%).

Частота альбиносов (генотип aa) равна 0,0001, а частота гетерозигот 0,02. Частота рецессивного аллеля у гетерозигот составляет половину частоты гетерозигот, т.е. 0,01.

Следовательно, в гетерозиготном состоянии находится примерно в 100 раз больше рецессивных аллелей, чем в гомозиготном. Поскольку гетерозиготы неотличимы от гомозигот по доминантному аллелю, то отбор по рецессивному аллелю может быть крайне неэффективным.

161. Наследуются ли признаки, сцепленные с полом в соответствии с законом Харди-Вайнберга?

Для генов, сцепленных с полом, равновесные частоты генотипов у самок (т.е. гомогаметного пола) совпадают с равновесными частотами аутосомных генов. Частота генотипов гемизиготных самцов (т.е. гетерогаметного пола) совпадает с частотами аллелей: p для A и q для a . Самка с генотипом AA получает одну гамету A от отца, вторую A от матери, т.е. самки с генотипом AA будут появляться в потомстве с частотой p^2 . Самцы всегда получают свою единственную X-хромосому от матери (p). Из этого следует, что фенотипы, определяемые рецессивными генами, будут у самок q^2 , у самцов – q . Отношение этих двух величин составляет $q/q^2=1/q$. Частота рецессивного сцепленного с полом аллеля, вызывающего дальтонизм у людей, составляет 0,08%. Следовательно, этот дефект встречается у мужчин $1/0,08=12,5$ раз чаще, чем у женщин. Частота рецессивного гена, определяющего наиболее распространённую форму гемофилии, равна 0,0001. В соответствии с законом Харди-Вайнберга следует, что гемофилия встречается у мужчин в $1/0,0001=10000$ раз чаще, чем у женщин (у мужчин с частотой 1 на 10000, у женщин 1 на 100 млн.).

162. Что такое естественный отбор?

Дифференциальное воспроизведение различных генотипов, обусловленное их различной приспособленностью, обозначается термином естественный отбор. Естественный отбор – главный фактор, смещающий частоты аллелей в больших популяциях, и одна из важнейших сил эволюционных преобразований. Исчерпывающие доказательства того, что эволюция происходит путём естественного отбора, были представлены в работе «Происхождение видов путём естественного отбора или сохранение благоприятствуемых пород в борьбе за жизнь», опубликованной Ч. Дарвином в 1859 году. Дарвин высказал предположение, что у животных и растений носители наследственных изменений, которые можно рассматривать как при-

способительные к условиям среды, обладают большими шансами выжить и оставить потомство, чем организмы, обладающие менее полезными особенностями.

Отбор означает дифференциальную вероятность оставления потомства разными особями или группами особей. Вероятность дать потомство детерминируется многими свойствами организма — его жизнеспособностью, быстротой достижения репродуктивного возраста, продолжительностью репродуктивного периода, способностью к скрещиванию, плодовитостью и т.д. Совокупность этих свойств называется приспособленностью особи к условиям среды, в которой они обитают. Как и другие фенотипические характеристики организма, приспособленность в значительной мере определяется генотипом, т.е. генотипически различным особям обычно присуща разная степень приспособленности. Действие отбора на генетическое строение популяции состоит в том, что некоторые группы особей, генотипически отличающиеся от других, частично или полностью устраняются от размножения и на генетическое строение популяции оказывает влияние только оставшаяся ее часть.

Ход изменения генетического строения популяции различен в зависимости от того, доминантны или рецессивны элиминируемые отбором гены. Когда отбор ведет к устранению от размножения особей, несущих снижающий приспособленность доминантный ген, то частота этого гена падает относительно быстро, так как он всегда фенотипически проявляется и поэтому в каждом поколении находится под контролем отбора. В популяции, где присутствует такой вредный доминантный ген и его рецессивный аллель, отбор в течение немногих поколений резко снижает долю гомозиготных доминантов и повышает долю гомозиготных рецессивов, доля же гетерозигот снижается постепенно и полная их элиминация происходит значительно позже, чем гомозиготных доминантов. Гораздо медленнее изменяется генетическое строение популяции, когда отбор ведет к устранению от размножения гомозигот по рецессивному ге-

ну, делающему их менее приспособленными к окружающим условиям. В этом случае под контроль отбора попадают только особи, гомозиготные по рецессивному гену, а в гетерозиготах этот ген ускользает от действия отбора.

163. Какова роль мутаций в изменении генетической структуры популяций?

Во всякой популяции постоянно возникают мутации различных генов. Хотя спонтанные мутации каждого гена происходят с небольшой частотой, но суммарная роль их в генетике популяций очень велика. Мутационный процесс не только представляет основу разнообразия генов в популяциях, но может существенно влиять на генетическое строение популяции, т.е. на соотношение в ней частот разных генов.

Изучение большого числа природных популяций разных видов подтвердило вывод С.С.Четверикова о насыщенности всех популяций разнообразными мутациями. Практически нет двух популяций, имеющих одинаковые частоты встречаемости и спектры мутаций.

По изучению генетического состава природных мутаций проведено много работ на разных группах растений, беспозвоночных и позвоночных животных. Во всех случаях популяции отличались друг от друга комбинациями генных, хромосомных или геномных мутаций.

Особенности разных типов мутаций, высокая и постоянная частота их возникновения в природе, затрагивание любых, в том числе и биологически важных признаков, насыщенность природных популяций мутациями свидетельствуют о том, что мутации играют важную роль в эволюционном процессе. Мутации являются поставщиками генетической изменчивости.

Большинство возникающих в популяции мутаций обречено в силу статистических причин на быстрое исчезновение, но некоторые из них могут сохраняться в течение ряда поколений. Это создает возможность для повышения в популяции частоты тех или иных мутантных генов либо потому, что они

будут подхвачены отбором, либо вследствие их случайного дрейфа при колебаниях численности популяции. Кроме того, исчезновению мутантных генов из популяции противостоит действие мутационного процесса, благодаря которому эти же гены появляются там вновь и вновь.

164. Что такое дрейф генов?

Дрейфом генов называется изменение частот аллелей в ряду поколений, вызываемое случайными процессами, например, малочисленностью популяций. Дрейф генов – случайный процесс, он относится к особому классу явлений, называемых ошибкой выборки. Величина ошибки выборки находится в обратной зависимости от величины выборки: чем меньше величина выборки, тем больше ошибка.

Предельный случай дрейфа генов представляет собой процесс возникновения новой популяции, состоящей из малого числа особей. Такой процесс был назван Э.Майром «эффектом основателя». Популяции многих видов, обитающих на океанических островах, хотя и насчитывают в настоящее время миллионы особей, происходят от одной или нескольких особей, когда-то попавших туда в результате случайного расселения. Аналогичная ситуация встречается в озёрах, изолированных лесах и других экологических изолятах. В малой популяции некоторые аллели, редко встречающиеся в большой популяции, могут отсутствовать или быть сверхпредставленными. В результате, даже тогда, когда эта малая популяция начнёт численно увеличиваться, она будет иметь другой генетический состав, другой генофонд по сравнению с родительской популяцией. При резком уменьшении численности популяции, в силу случайных причин могут сохраняться носители редких клонов. Они будут исходной формой при последующем возрастании численности популяции, что приведёт к их широкому распространению, по существу не обусловленной реальной селективной ценностью.

165. Какое значение имеет генетическая гетерогенность природных популяций?

Со времени первых работ по генетике природных популяций, проведенных Четвериковым и его сотрудниками в 1920-х годах, многими исследователями накоплен весьма значительный материал о генетическом строении природных популяций ряда организмов.

Многочисленными работами было установлено, что все обследованные природные популяции характеризуются большим генотипическим разнообразием составляющих их особей. Эта генетическая гетерогенность популяций выявляется при изучении наследования встречающихся там фенотипических изменений, генетическим анализом фенотипически нормальных особей на присутствие в них скрытых рецессивных мутаций и цитологическими исследованиями, дающими возможность обнаружить хромосомные перестройки. Работы эти показали, что генетическое строение природных популяций разных организмов обладает некоторыми общими для них типичными чертами.

Самая разительная из этих черт – наличие в природных популяциях множества рецессивных мутаций, скрыто присутствующих в гетерозиготных фенотипически нормальных особях. Насыщенность популяций рецессивными мутациями объясняется крайней редкостью их фенотипического проявления, вследствие чего они ускользают от действия естественного отбора и некоторое время после возникновения сохраняются там независимо от того, как изменяются признаки организма этими мутациями в гомозиготном состоянии.

В природных популяциях распространены также доминантные мутации. В отличие от рецессивных мутаций, доминантные мутации проявляются как в гомозиготном, так и гетерозиготном состоянии. Доминантные и полудоминантные мутации проявляются сразу после своего возникновения и поэтому немедленно попадают под действие естественного отбора.

Гетерозиготное состояние мутаций в популяции приводит к тому, что даже при резко сниженных показателях жизнеспособности и плодовитости рецессивных гомозигот мутантные аллели могут устойчиво сохраняться длительное время. При этом у гетерозигот может наблюдаться более высокая жизнеспособность, чем у доминантных гомозигот. Следствием этого будет существование в популяции нескольких генетически различных форм, что создаёт сбалансированный полиморфизм, т.е. устойчивое воспроизведение нескольких фенотипических классов особей, обусловленное преимуществом гетерозигот.

Метод электрофореза позволил получить количественные оценки степени генетической изменчивости в природных популяциях. Результаты электрофоретического исследования 69 видов растений и 125 видов животных показали, что средняя гетерозиготность для позвоночных животных составляет 6,0%, для беспозвоночных -13,4%, для растений – 12,4%.

166. В чем сущность и значение генетического полиморфизма?

Генетический полиморфизм, обусловленный тем, что естественный отбор попеременно действует в пользу то одного, то другого аллеля и представляет частое явление в природных популяциях разных организмов.

Природные популяции разных видов дрозофил характеризуются присутствием в них многих особей, гетерозиготных по инверсиям хромосом. Некоторые из инверсий широко и с большой частотой распространены во многих популяциях. Лабораторными опытами установлено, что гетерозиготы по разным инверсиям различаются по своей приспособленности к повышенной и пониженной температуре и влажности.

Генетический полиморфизм нередок и в природных популяциях растений. В популяциях некоторых видов растений наблюдается генетически обусловленная гетеростилия. Так, в природных популяциях обыкновенного первоцвета всегда имеются особи трех типов: с коротким пестиком и длинными

тычинками, с длинным пестиком и короткими тычинками и с пестиками и тычинками одинаковой длины.

Примером полиморфизма, вызываемого отбором в пользу гетерозигот, могут служить некоторые африканские популяции человека, в которых широко распространена серповидноклеточная анемия. Эта болезнь обязана мутации, возникшей в гене, кодирующем β -цепь гемоглобина, в результате чего глутаминовая кислота оказалась замененной в этой цепи валином. Гомозиготы по этому мутантному гену страдают тяжелым малокровием, что приводит к их гибели в детском возрасте. Доля гетерозигот по этому гену достигает в некоторых африканских племенах 30-40%. Причина этого выяснилась, когда было установлено, что высокая частота гена серповидноклеточной анемии наблюдается у племен, обитающих в районах, где широко распространена и вызывает большую смертность тропическая малярия. Оказалось, что гетерозиготы по гену серповидноклеточной анемии менее подвержены заражению тропической малярией, чем не содержащие этого гена нормальные гомозиготы.

Существование в популяции нескольких генетически различных форм создает сбалансированный полиморфизм, т.е. устойчивое воспроизведение нескольких фенотипических классов особей, обусловленное преимуществом гетерозигот. При естественном отборе возникает и другая форма полиморфизма – адаптационный полиморфизм. В этом случае две или несколько генетически различных форм внутри популяции подвергаются отбору в разных экологических условиях.

167. Что такое инбридинг?

Скрещивание между собой родственных особей называется инбридингом. Инбридинг приводит к появлению особей, гомозиготных по рецессивным аллелям, которые ранее были скрыты в гетерозиготном состоянии. Многие рецессивные аллели в гомозиготном состоянии вредны, поэтому одно из последствий инбридинга – увеличение вероятности того, что потомок окажется гомозиготным по вредному рецессивному ал-

лелю. Средняя приспособленность в инбредных популяциях обычно понижена. Степень снижения приспособленности, вызванная инбридингом, называется инбредной депрессией.

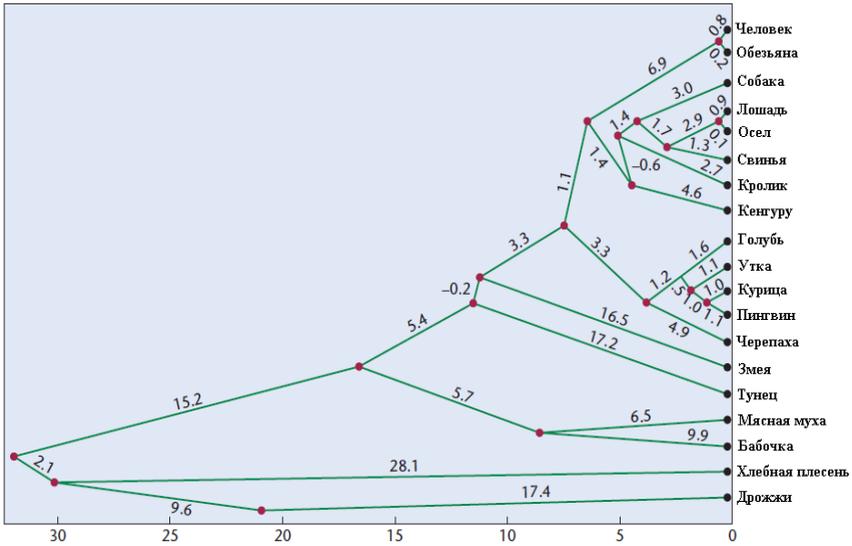
У человека инбридинг увеличивает риск спонтанных абортс и неонатальной смертности, а также риск врождённых аномалий и генетических болезней с рецессивным проявлением. Известная степень инбридинга встречается довольно часто в изолятах. Типичные примеры – жители островов и отдельных долин. В этих изолятах наследственные дефекты или болезни более распространены, чем в основной популяции. Так, например, в департаменте Изер (Франция), совершенно изолированной от других деревень, начало рождаться много шестипалых (6-ой палец на руках и ногах, в течение 35-40 лет такими стали почти все жители).

Обширные исследования глухонемоты, проведённые, в прошлом, в различных провинциях США среди белых и негров, находящихся в то время в рабстве, показали, что у негров эта болезнь встречается в 91 раз чаще.

У человека супружеские отношения между родителями и детьми или братьями и сестрами называются кровосмешением. В большинстве человеческих культур существует запрет на такие браки, хотя в династии египетских фараонов они встречались часто. Частота гомозигот по рецессивному летальному аллелю в потомстве от браков между двоюродными братьями и сестрами в 20 раз выше, чем при случайном скрещивании. В целом частота новорождённых с различными дефектами от брака между двоюродными сибсами в 2 раза выше, чем от неродственных браков.

Однако, угнетающее действие инбридинга проявляется не всегда. Многие растения, размножающиеся преимущественно самоопылением, такие как пшеница, овёс, рис, горох, табак, томаты и др. не проявляют признаков депрессии.

ГЕНЕТИКА И ЭВОЛЮЦИЯ



Реконструкция филогении путем сравнения гомологичных аминокислотных последовательностей цитохрома С.

168. Какие формы естественного отбора являются главными?

Различают следующие формы естественного отбора: движущий, стабилизирующий и дизруптивный.

Движущий естественный отбор смещает в определенном направлении среднее значение какого-либо признака или, точнее, наследственную норму реакции, определяющую это среднее значение. Эта форма отбора наблюдается при стойком изменении условий среды обитания популяции или вида в целом (например, при изменении климата или доступных источников питания, появлении новых хищников, паразитов или конкурентов и т.п.), вследствие чего популяция или вид могут сохра-

ниться только если отбором будут закреплены те из возникающих мутаций или сочетаний генов, которые обеспечивают приспособленность к новым условиям. Движущий отбор может усиливать, ослаблять или видоизменять признаки организма. Это – главная форма отбора, творческий фактор эволюции, ответственный за преобразование организмов в течение их исторического развития.

Стабилизирующий отбор поддерживает в популяции и во всём виде ранее сложившуюся наследственную норму реакции, определяющую значение признаков, лучше всего соответствующее господствующим и относительно постоянным окружающим условиям. В отличие от движущего отбора, стабилизирующий отбор представляет собой консервативный фактор, устраняющий от размножения особей, чьи признаки отклоняются в ту или иную сторону от установившегося среднего типа.

Третья форма естественного отбора – дизруптивный отбор – встречается там, где на территории занимаемой популяцией или видом, условия среды образуют пространственную или сезонную мозаику, вследствие чего в разных местах этой территории или в разные сезоны адаптивную ценность имеют различные значения признака. Дизруптивный отбор расчленяет популяцию или вид на две или несколько сосуществующих групп, наследственно различающихся по данному признаку, т.е. ведет к установлению диморфизма или полиморфизма. Действует дизруптивный отбор либо как сочетание стабилизирующего и движущего отборов, либо как сочетание разнонаправленных движущих отборов.

169. Можно ли генетическими методами доказать роль естественного отбора?

Очевидно, что первичные формы жизни существовали в виде нуклеопротеидов (ибо только сочетание нуклеиновой кислоты и белка обеспечивает элементарные свойства живого – обмен веществ, репродукцию, наследственность и изменчивость). Можно спланировать опыты с нуклеиновой кисло-

той и белком, которые пролили бы свет на факторы, двигавшие эволюцию в древние времена. Некоторые такие опыты уже проведены молекулярными генетиками и дали важные результаты. Среди них особенно интересны опыты с одним РНК-содержащим вирусом бактерий - фагом «кубета», поражающим кишечную палочку. В пробирку, содержащую раствор всех четырех нуклеозидтрифосфатов, из которых строится РНК (АТФ, ГТФ, ЦТФ и УТФ), и фаговую репликазу, вносили небольшое количество выделенной из фага очищенной РНК, служившей матрицей. В порядке, определяемом этой матрицей, репликаза собирала из нуклеозидтрифосфатов молекулы фаговой РНК. Часть вновь образованных молекул РНК вносили в качестве матриц во вторую пробирку, содержащую те же нуклеозидтрифосфаты и репликазу, где синтезировалась новая порция фаговой РНК «второго поколения». Эту процедуру повторяли снова и снова (всего было сделано 75 таких пассажей), причем при каждом пассаже небольшую долю образовавшихся молекул РНК брали для засева следующей пробирки, а большую часть подвергали подробному изучению.

Оказалось, что в ходе опыта фаговая РНК значительно изменилась. Исходная РНК была способна заражать бактерии и вызывать их гибель: эта способность исчезла уже после четырех пассажей в бесклеточной системе. Молекулярный вес РНК постепенно падал, и конечный продукт, полученный в 75-м пассаже, был лишен примерно 87% первоначального содержания генома – из 3600 нуклеотидов исходной фаговой РНК в нем сохранилось только 550. Зато к этому времени более чем в 2,5 раза возросла скорость репликации РНК (в последующих же опытах скорость репликации еще увеличилась при сокращении длины молекулы РНК всего до 180 нуклеотидов).

Эти и подобные генетические методы позволяют заключить, что дарвиновский принцип эволюции посредством естественного отбора приложим и к самым начальным этапам развития органического мира, когда жизнь на Земле была пред-

ставлена только первичными, доклеточными формами, состоящими из белка и нуклеиновой кислоты.

Важное значение имеют ранние работы по реконструкции филогении В.Фитча и Е.Маргулис, проанализировавших аминокислотные последовательности цитохрома С у разных организмов. Цитохром С - это белок, принимающий участие в процессах клеточного дыхания; он обнаружен в митохондриях растений и животных. Аминокислотные последовательности его в ходе эволюции менялись очень медленно. Например, аминокислотные последовательности у человека и шимпанзе идентичны, а у человека и макаки – резус отличаются всего на одну аминокислотную замену. Как показывает изучение ископаемых остатков, ведущих к человеку и макакам эволюционные линии разошлись 20 миллионов лет назад. Данные полученные по количеству аминокислотных замен хорошо совпадают с представлением о степени родства указанных видов. Например, человеческий цитохром С отличается от цитохрома С собаки по 13 заменам аминокислот, бабочек по - 36 заменам и дрожжей – по 56 заменам. На основе изучения нуклеотидных последовательностей у тех же организмов построено филогенетическое древо, изображающее минимальные замены нуклеотидных замен. В целом, филогенетические отношения построены на основе различий в аминокислотной и нуклеотидной последовательностях 20 видов и хорошо согласуются с палеонтологическими и другими источниками.

170. Что является доказательством реальности эволюции?

Единство плана строения и основных физиологических и биохимических процессов у различных по внешнему виду и образу жизни организмов, наблюдаемое в пределах всех систематических групп микробов, растений и животных, рационально объяснимо только допущением происхождения представителей каждой такой группы от общего родоначальника, от ко-

тогого они унаследовали общий для них план своей организации.

Развитие цитологии в конце XIX и начале XX веков показало, что клетки, из которых состоят все организмы, устроены в основном одинаково, что значительно расширило приложимость принципа общности происхождения и позволило утверждать родство всех живых существ.

В 1859 году в своей книге «Происхождение видов» Ч.Дарвин представил свидетельства в пользу того, что все виды произошли от единого общего предка путём постепенных изменений и дивергенции: «...у всех живых существ много общего в их химическом составе, в строении их ядер, в структуре их клеток, в законах их роста и размножения. Поэтому я делаю вывод о том что, вероятно, все живые организмы, которые когда-либо существовали на Земле, произошли от какой-то предковой формы».

С тех пор биологам удалось установить, что существует одно эволюционное древо жизни, и это подтверждает точку зрения Дарвина. Для понимания хода эволюции необходимо понять механизмы, которые отвечают за превращение одного вида в другой или разделение одного вида на два или более.

Кроме сравнительных морфологических, физиологических и биохимических исследований, подтверждающих это положение, значительный материал по этому вопросу накоплен генетикой. Важное значение имеют результаты, полученные Н.И.Вавиловым и его сотрудниками при изучении наследственной изменчивости систематических групп растений. Итогом этих работ был сформулированный Вавиловым закон гомологичных рядов наследственной изменчивости.

У всех живых организмов носителем генетической информации является ДНК. Четыре нуклеотида А, Г, Ц, Т и их различные сочетания создают всё многообразие живых существ. Для молекул-носителей генетического материала характерны четыре основных свойства – репликация, хранение информации, экспрессия этой информации и изменчивость.

Репликация генетического материала в клеточном цикле — это фундаментальное свойство всех живых организмов. Благодаря структуре молекул ДНК, возможно хранение и экспрессия генетической информации в клетках с передачей ее следующим поколениям. Генетический материал служит источником изменчивости организмов, обусловленной мутациями.

171. Каково значение генных мутаций в эволюции?

Сравнительно-генетические исследования с полной определенностью показывают, что самые многочисленные, разнообразные и важные наследственные изменения, лежащие в основе эволюционных преобразований организмов, обязаны генным мутациям.

Работами по генетике природных популяций обнаружено, что они насыщены огромным количеством скрытых в гетерозиготах рецессивных генных мутаций. Это обстоятельство позволило предположить, что такие мутации играют очень большую роль в эволюции, что именно они обуславливают эволюционную пластичность вида, поставляя основной материал для естественного отбора. Однако ряд фактов противоречит подобной высокой оценке эволюционного значения рецессивных мутаций. Предполагается, что эволюция осуществляется преимущественно за счет доминантных и полудоминантных генных мутаций.

Чтобы рецессивная мутация могла послужить для эволюционной трансформации диплоидного вида, необходимо чтобы произошло скрещивание между гетерозиготными по ней особями и нужно, чтобы проявляемые этими гомозиготами мутантные изменения давали им какие-нибудь преимущества перед немутантными особями.

Вероятность распространения рецессивных мутаций в больших популяциях очень мала, так как в силу случайных причин они утрачиваются раньше, чем перейдут в гомозиготное состояние и их может подхватить и закрепить естественный отбор.

Наконец, можно привести еще один довод, говорящий о малой вероятности приспособительного значения признаков, обусловливаемых рецессивными мутантными генами. Довод этот основан на теории эволюции доминантности, на чём следует кратко остановиться. Предполагается, что любая генная мутация, впервые возникшая в истории данного вида, сначала проявляется в гетерозиготе, обнаруживая неполное доминирование (промежуточное наследование).

Подтверждением того, что прогрессивная эволюция может осуществляться в отсутствие запаса скрытых рецессивных мутаций в природных популяциях, могут служить результаты изучения популяций организмов, которые быстро эволюционировали и в популяциях которых накопление рецессивов было невозможно в силу их генетических особенностей.

В отличие от рецессивных мутаций, доминантные и полудоминантные мутации фенотипически проявляются сразу после своего возникновения и поэтому немедленно попадают под действие естественного отбора. Если такая мутация вредна для организма, то она тотчас же элиминируется. Если она оказывается полезной, отбор будет стремиться распространить ее на всю популяцию. Так, например, произошло с доминантной мутацией, определяющей темную окраску бабочки березовой пяденицы. Эта мутация, возникшая в Англии в середине прошлого столетия, стала затем быстро распространяться в заочпеченных и загрязненных промышленных районах, вытесняя белую форму, менее приспособленную к окружающей среде.

172. Какова роль геномных мутаций в эволюции растений?

Полиплоидия несомненно сыграла существенную роль в видообразовании у растений, в особенности покрытосеменных. Это видно из того, что многие роды состоят из видов, образующих полиплоидные ряды, т.е. различающихся кратностью повторения у них определённого основного исходного гаплоидного набора хромосом.

Очень широко распространена полиплоидия среди возделываемых человеком растений: полиплоидны все или большинство культурных сортов пшеницы, овса, риса, сорго, тимOFFеевки, сахарного тростника, люцерны, арахиса, белого клевера, табака, картофеля, брюквы, хлопчатника, земляники, роз, ириса, тюльпанов, гладиолусов, малины, сливы, яблони, груши, лимона, апельсина и т. д.

У голосеменных растений полиплоидия редка, встречается у папоротников и мхов. Среди животных полиплоидны очень немногие виды, притом почти исключительно размножающиеся партеногенетически. К таким полиплоидам относятся, например, рачок-бокоплав артемия, немногочисленные представители нескольких групп насекомых, некоторые черви. Главная причина столь малого распространения полиплоидии у животных состоит, по-видимому, в том, что возникновение полиплоидной мутации приводит, в основном, к нарушению хромосомного механизма определения пола. Полиплоиды нередко лучше диплоидов приспособляются к произрастанию в суровых северных и высокогорных климатических условиях: среди всех видов цветковых растений полиплоиды составляют в Арктике свыше 70%, на Памире – 86%, на Алтае – 65%. Полиплоидны очень многие из возделываемых человеком видов и сортов растений.

Существенная роль в образовании новых видов растений принадлежит аллоплоидии. Многие межвидовые гибриды растений бесплодны ввиду нарушения конъюгации хромосом при мейозе.

Возможность восстановления плодовитости межвидового гибрида в результате удвоения числа хромосом была впервые доказана Карпеченко в опытах по межродовому скрещиванию редьки с капустой.

Аллополиплоидную природу имеют ряд ценных культурных растений. В частности, аллополиплоидия сыграла важную роль в происхождении двух видов пшеницы – твердой пшеницы (*Triticum durum*) и мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*).

Одним из родоначальников этих пшениц была пшеница-однозернянка (*Triticum monococcum*), ($2n=14$).

Твердая пшеница (*Triticum durum*, $2n=28$) – аллотетраплоид, образовалась в результате удвоения числа хромосом у гибрида пшеницы однозернянки с диким злаком из рода эгилопс (*Aegilops speltoides*, $2n=14$).

Мягкая пшеница (*Triticum aestivum*, $2n=42$) – аллогексаплоид, возникла путем удвоения хромосом у гибрида от скрещивания аллотетраплоидной пшеницы с другим видом эгилопса (*Aegilops squarrosa*, $2n=14$).

173. Какую роль сыграли хромосомные перестройки в эволюции?

Из хромосомных перестроек наиболее важную роль в эволюции сыграли дупликации. По-видимому, дупликации представляют один из основных способов увеличения числа и разнообразия генов в ходе эволюционного развития организмов. Гены, оказавшиеся повторенными в результате дупликации, постепенно дивергируют превращаясь в неаллельные гены, различным образом влияющие на признаки организма.

Нехватки и делеции значительно сильнее изменяют фенотип организма, чем дупликации сравнимой длины, а в гомозиготном состоянии они большей частью летальны, поэтому они играли в эволюции небольшую роль.

Инверсии и транслокации способствуют репродуктивной изоляции мутантов от немутантных форм и могут быть причиной их эволюционной дивергенции. Транслокации распространены в природе довольно широко. Гомозиготные по транслокациям расы известны у гороха, дурмана и других растений. Сравнительно-генетические и цитогенетические исследования показывают, что и у растений, и у животных видообразование нередко происходило при участии транслокаций.

174. Существуют ли молекулярные часы эволюции?

На данный вопрос можно ответить, если удастся установить, что различия в числе молекулярных изменений, проис-

шедших за равные промежутки эволюции, превышают изменчивость, обусловленную случайными причинами. Молекулярные часы – это аминокислотные или нуклеотидные последовательности, в которых происходят замены в течение длительного времени с постоянной скоростью. У.Фитч с соавторами построили график зависимости числа нуклеотидных замен от времени, разделяющего выделение разных штаммов гриппа. Все точки на графике оказались на одной кривой, что свидетельствует о том, что нуклеотидные замены в гене геммаглютинаина вируса гриппа происходят с постоянной скоростью. Таким образом, ген геммаглютинаина служит молекулярными часами.

Для оценки постоянства скорости молекулярной эволюции Ч.Ленгли и У.Фитчем использовались аминокислотные последовательности 7 белков 17 видов млекопитающих. Филогения строилась исключительно на основе данных о белках. На основе проведённого исследования был построен график, на котором откладывалось число нуклеотидных замен, накопившихся за время эволюции некоторых видов от общего предка. Рассчитывалась скорость появления 0,41 замены нуклеотидов за один миллион лет. Большинство точек располагалось рядом с прямой. Полученные результаты соответствуют гипотезе о постоянстве скорости молекулярной эволюции и показывают, что генетические данные можно использовать в качестве эволюционных часов.

175. Как происходили количественные изменения ДНК в процессе эволюции?

В процессе эволюции и прокариоты, и эукариоты претерпевали изменения в размере и форме, их организация усложнялась, а их геномы динамично изменялись. Эти изменения происходили в результате ряда генетических механизмов мутаций, рекомбинаций, транспозиций, переноса генов, а также делеций и дупликаций генов.

Постепенное увеличение количества ДНК в клетке происходило в процессе эволюции всех организмов, начиная с бактерий и кончая растениями и животными. Более сложным организмам, по-видимому, требуется большее количество ДНК по сравнению с прокариотами. Однако, в некоторых случаях эта закономерность нарушается. Так, у некоторых саламандр, древнейших рыб и цветковых растений содержится в 10 раз больше ДНК, чем у более сложных по организации млекопитающих или птиц. Все организмы по количественному содержанию ДНК на клетку можно разделить на четыре больших класса. Наименьшее содержание ДНК обнаружено у некоторых вирусов (около 1200 пар нуклеотидов на одну вирусную частицу). В бактериальных клетках содержится в среднем по $4 \cdot 10^6$ пары нуклеотидов, у грибов $4 \cdot 10^7$ пары нуклеотидов на клетку. У большинства животных и растений на одну клетку приходится в среднем $2 \cdot 10^9$ пары нуклеотидов. Количество ДНК в клетках растений и животных превышает количество ДНК в клетках бактерий более, чем в 1000 раз.

Наиболее распространенными способами, посредством которых осуществляются эволюционные изменения количества ДНК в клетке являются полиплоидия и дупликация.

176. Какое минимальное количество генов необходимо для того, чтобы организм был жизнеспособным?

Размеры генома бактерий сильно варьируют. *E.coli* имеет большой геном – 4,6 мегабаз, с числом генов 4398. Малый размер генома имеется у *Mycoplasma genitalium* – 0,58 мегабаз, с числом генов 503 и *Mycoplasma pneumoniae* – 0,82 мегабаз, с числом генов 710. *M.genitalium* и *M.pneumoniae* являются членами одной группы бактерий, потерявших клеточные стенки, они часто вызывают генитальные и респираторные заболевания у представителей разных видов, включая насекомых и человека. Очевидно, любая клетка должна содержать гены, кодирующие продукты, необходимые для репликации и репарации ДНК, для транскрипции и трансляции, транспорта белков и

общих клеточных процессов. Возникает вопрос, какое минимальное количество генов необходимо для того, чтобы организм был жизнеспособным? На основании сравнительного анализа двух бактерий – *M.genitalium* и *M.pneumoniae* можно предположить, какое минимальное число генов необходимо для независимого существования самореплицирующегося организма. Результаты анализа бактерий с малым геномом указывают на то, что число необходимых для жизнедеятельности генов должно быть не менее 250-350.

Интересно сравнить число генов, необходимых для процессов биосинтеза. Например, *E.coli* имеет 131 ген для метаболизма аминокислот, *H.influenzae* - 68, *M.genitalium* – только 1. По-видимому, у *H.influenzae* в каждую функциональную единицу входит намного больше генов. Большая часть генов входит в категорию генов, необходимых для биосинтеза. Размер генома *H.influenzae* - 1,83 мегабаз, число генов 1791, т.е. почти в 4 раза больше, чем у *M.genitalium*. *H.influenzae* более сложная бактерия и имеет 68 генов, необходимых для биосинтеза аминокислот, в то время, как микоплазмы - только один такой ген. Обладая такой низкой способностью к биосинтезу, микоплазмы должны использовать ряд метаболитических продуктов клетки хозяина.

177. Какое значение имеет определение первичной структуры белков в изучении филогении видов?

Прямой метод изучения истории живых существ по их ископаемым остаткам, несмотря на свою ценность, имеет весьма ограниченное применение в силу крайней неполноты палеонтологической летописи, изобилующей пробелами, большинство из которых обречено оставаться незаполненными.

Молекулярная генетика открывает возможности заполнить по крайней мере часть этих пробелов, дополнить выводы, получаемые классическими методами, новыми важными сведениями, к тому же гораздо более точными.

Из всех фенотипических признаков белки наиболее адекватно отражают свою генетическую основу. Первичная струк-

тура белковой молекулы коллинеарна первичной структуре кодирующего этот белок гена. Установив первичную структуру белка, можно достаточно корректно определить структуру ответственного за этот белок гена.

Анализируя различия первичной структуры одного и того же белка у разных организмов, удастся выяснить, как эволюционировал ген, кодирующий этот белок, что проливает свет на происхождение тех форм, белок которых изучается.

Прекрасным свидетельством ценности этого метода служат работы, посвященные сравнению первичной структуры гемоглобинов разных позвоночных. Было показано, что у разных животных степень различия аминокислотных карт полипептидных цепей, входящих в состав молекулы гемоглобина, хорошо соответствует степени отдаленности этих животных в зоологической системе.

Как и гемоглобины всех позвоночных, гемоглобин человека ведет свое происхождение от некоего пробелка, служившего общим предком гемоглобину и миоглобину. В результате дубликации гена, кодирующего этот пробелок, возникло два гена, один из которых, эволюционируя, дал ген, кодирующий современный миоглобин, а другой был предком генов, кодирующих все четыре цепи (альфа, бета, гамма и дельта) гемоглобина человека. Затем (это произошло, по-видимому, когда позвоночные вышли на сушу и стали дышать легкими) прагемоглобиновый ген, в свою очередь, дублицировался; один из образовавшихся при этом генов превратился в ходе дальнейшей эволюции в ген, кодирующий альфа-цепь гемоглобина, другой же был родоначальником генов, кодирующих бета-, гамма-, дельта-цепи. Еще позже (очевидно, при появлении сумчатых) путем новой дубликации выделился ген, кодирующий гамма-цепь; и наконец, опять-таки в результате дубликации (произошедшей при обособлении антропоидных приматов), образовались два гена, давшие затем гены, кодирующие бета- и дельта-цепи гемоглобина человека.

Таким образом, сравнение аминокислотных карт показывает, что эволюция гемоглобина имела дивергентный характер, т.е. происходила в полном соответствии с дарвиновскими представлениями о путях эволюции.

Сходные в принципе филогенетические схемы построены сейчас таким же способом и для ряда других белков, например для лактатдегидрогеназы, инсулина, цитохрома С, а также для некоторых транспортных РНК.

178. Как определяется нуклеотидная последовательность генов?

Нуклеотидная последовательность ДНК любого организма – результат его эволюционной истории. В настоящем существуют два основных подхода для определения нуклеотидных последовательностей генов, составляющих геном. Первым разработанным методом был метод «клон за клоном». Сначала создаются геномные библиотеки, покрывающие всю геномную ДНК организма (геномные клоны). Используя генетические маркеры и, анализируя области перекрывания последовательностей, клоны из геномных библиотек фрагментов собираются вместе, чтобы определить физические и генетические карты всех генов. Нуклеотидные последовательности определяются «клон за клоном», до тех пор пока весь геном будет расшифрован.

При использовании метода дробовика или «шот-ган» (Shotqan) клоны из геномных библиотек отбираются случайно. В отобранных клонках определяют ДНК-последовательности фрагментов, пока все клоны библиотеки не будут проанализированы. Подсчёты ДНК-последовательностей проводят по компьютерной программе.

Во избежание ошибок в нуклеотидной последовательности подсчёты проводят многократно.

179. Можно ли оценить генетические различия по гибридизации ДНК?

Виды – это репродуктивно изолированные единицы, эволюционирующие независимо друг от друга. В силу такой неза-

висимой эволюции виды с течением времени, должны расходиться между собой в генетическом отношении. Существуют методы, позволяющие оценить накопившиеся в процессе эволюции генетические изменения: гибридизация ДНК, электрофорез, иммунологический анализ.

Метод, позволяющий оценить степень общего сходства ДНК у различных организмов – это гибридизация ДНК. «Расплавленная» (т.е. нагреванием разделённая на две комплементарные нити) ДНК, меченная радиоактивными изотопами, после фракционирования может взаимодействовать с ДНК другого вида. Гомологичные последовательности при этом гибридизуются с образованием двухцепочечных комплексов (дуплексов). Количество прореагировавшей таким образом ДНК позволяет оценить долю гомозиготных участков в молекулах ДНК сравниваемых видов.

Уменьшение процента образующихся гибридов гетерологичных ДНК по сравнению с наблюдаемым у гомологичных ДНК дает приближенное представление о том, насколько разнятся по содержащейся в них генетической информации молекулы изучаемых видов.

180. Что отличает геномы архей от истинных бактерий?

Археи (первоначально - архебактерии) – один из трёх больших подразделений живых организмов. Другие два это эубактерии (истинные бактерии) и эукарии (содержащие истинное ядро, ограниченное мембраной). Археи, как и все прокариоты, не имеют ядра.

Археи – типичные экстремофилы, живущие при очень высокой температуре, высоких концентрациях солей, высоком давлении и экстремальной рН. Геном археи *Methanococcus jannaschii* был расшифрован в 1996 году. Кольцевая двуцепочечная молекула размером 1,7Мв содержит 1738 генов, кодирующих белки. Температурный оптимум для роста 85°C, но археи могут выживать при 94°C. Геном имеет три хромосомы. Большинство генов (58%) не похожи ни на какие другие из-

вестные гены. Организация генов имеет сходство с эубактериями – они плотно упакованы, имеют опероны и не имеют интронов.

Однако отличительной чертой генома архей является сходство с эукариотами. У архей присутствуют гистоны, что указывает на то, что их хромосомная ДНК организована в хроматин. В генах тРНК архей обнаруживают интроны, также как в генах эукариот.

181. Что является характерной особенностью генома эубактерий?

В настоящем завершена расшифровка нуклеотидных последовательностей нескольких десятков геномов прокариотов и эукариотов. Для двух типов прокариотов - эубактерий и архей более чем 50 геномных проектов уже завершены и более 200 проектов находятся в стадии завершения. В свете новых данных большинство геномов простейших имеют малые размеры, однако, эта величина широко варьирует от больших геномов бактерий (30 мегабаз у *Bacillus megaterium*) до маленьких геномов эукариот (12,1 мегабаз у дрожжей).

Большинство исследованных геномов прокариот организованы в кольцевые молекулы ДНК, однако, у ряда бактерий ДНК представлены в виде линейных молекул. Кроме того, при расшифровке генома *Vibrio cholerae* – возбудителя холеры, обнаружили наличие двух циклических хромосом.

Отличительной чертой бактерий является высокая плотность генов, в среднем около одного гена на тысячу пар оснований, что обуславливает высокое содержание ДНК, кодирующей белки (85-90%). Типично, что менее 1% бактериальной ДНК является некодирующей. Для бактериальных геномов также характерны опероны, т.е. полицистронные транскрипционные единицы.

182. Какие общие черты характеризуют геном эукариотов?

В ядерных геномах эукариотов обычно имеется несколько линейных ДНК, каждая из которых представляет собой инди-

видуальную хромосому. Эукариоты имеют и второй геном – митохондриальный, представляющий собой кольцевую молекулу ДНК. Растения имеют хлоропластный геном, также представленный кольцевой молекулой ДНК. Основные черты геномов у разных видов эукариотов сходны, но размеры геномов и число хромосом сильно варьирует.

По сравнению с прокариотами эукариоты имеют относительно низкую плотность генов. Причём более сложные эукариоты имеют менее компактные геномы, и меньший уровень плотности генов. Можно выделить несколько основных различий между эукариотами. Если сравнить участок дрожжевой хромосомы 3, с участком хромосомы 7 человека, то можно выявить несколько различий:

Плотность генов: участок длиной 50 т.п.н. на хромосоме 3 дрожжей содержит более 20 генов, в то время как на участке такой же длины хромосомы 7 человека находится 6 генов.

Интроны. Гены кодирующие полипептиды у бактерий не содержат интроны, в то время как почти все гены эукариот их содержат. Некоторые гены у человека содержат более 100 интронов. По данным проекта «Геном человека», только 1% ДНК генома приходится на экзоны и 24% на интроны, при этом размер гена (экзоны + интроны) составляет около 28 т.п.н.

Повторы. Другой причиной, обуславливающей большой размер геномов у эукариот, служит наличие повторов ДНК. У отдельных растений, например, у кукурузы, ДНК-повторы являются доминантной чертой генома. Геном кукурузы имеет размер около 5000 мегабаз и более 80% суммарной ДНК представлены ДНК-повторами, что обуславливает очень низкую плотность генов в геноме этого растения.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ



Гибрид пшеницы и ржи – тритикале (Triticale), полученный в результате межродового скрещивания

183. Какие системы отбора применяют в селекционной работе?

Отбор представляет собой важнейший элемент всякой селекционной работы.

Чтобы отбор был результативным, необходима информация о наследственном потенциале отбираемых особей. Такая информация с разной степенью полноты может быть получена тремя способами: изучением фенотипа особей, составляющих популяцию, в которой ведется отбор, анализом их родословных и исследованием оставляемого ими потомства.

Оценка фенотипа лежит в основе массового отбора. Массовый отбор стихийно применялся человечеством с незапамятных времен, затем сознательно использовался при выведении многих высокопродуктивных сортов культурных растений и пород домашних животных, не утратил своего значения и сейчас, так как он наиболее прост и доступен и в то же время нередко дает хорошие результаты. Но этот тип отбора имеет и существенные недостатки, обусловленные тем, что по фенотипу нельзя однозначно судить о генотипе отбираемых

особей, а ведь только от их генотипа зависит эффективность отбора. Кроме того, в фенотипе не проявляются рецессивные гены, находящиеся в гетерозиготном состоянии, но могущие выявиться в потомстве. Поэтому массовый отбор, как правило, действует очень медленно, а иногда оказывается и вовсе безрезультатным.

Значительно совершеннее массового отбора индивидуальный отбор, использующий более полные сведения о генотипе отбираемых особей, чем могут дать наблюдения их фенотипа. При индивидуальном отборе популяцию делят на линии или семьи и проводят отбор отдельно в каждой из них, контролируя и учитывая всякое скрещивание. Критериями отбора, вдобавок к данным о фенотипе, служат сведения, доставляемые родословными, изучение которых позволяет судить о значении признаков у предков отбираемых особей, а также у их сибсов и полусибсов и других родичей. Кроме того, в некоторых случаях очень ценную информацию о генотипе этих особей удастся получить, анализируя их потомство; этот способ оценки с большим успехом применяется в селекции животных.

Применение принудительного самоопыления у растений (инцухта) и близкородственного скрещивания у животных (инбридинга) повышает концентрацию определенных генов и увеличивает частоту гомозигот по ценным генам.

184. Что такое инбредная депрессия?

Инбридинг это скрещивание между родственными особями. В зависимости от степеней родства скрещиваемых особей инбридинг может быть в разной мере тесным. Самый тесный из возможных видов инбридинга – самооплодотворение, широко распространенное среди растений, но встречаемое лишь у относительно немногих видов животных.

Инбридинг ведёт к гомозиготизации и, как следствие этого, к понижению жизнеспособности, плодовитости, урожайности, уменьшению продолжительности жизни, появлению у жи-

вотных и человека различных генетических дефектов, различных врождённых уродств. Совокупность этих отрицательных признаков называется инбредной депрессией. Причина же заключается в переходе в гомозиготное состояние мутантных генов, влияющих на указанные признаки.

Мерой генетических последствий инбридинга служит коэффициент инбридинга (F). Если в каждом поколении используется один и тот же тип инбредного скрещивания, то коэффициент инбридинга с каждым поколением увеличивается. В результате инбридинга частота гомозигот в популяции возрастает за счёт гетерозигот. В частности, самоопыление у растений приводит почти к полной гомозиготизации уже в 10-ом поколении. Коэффициент инбридинга отражает избыток в популяции особей, гомозиготных по какому-либо локусу; он отражает также увеличение доли гомозиготных локусов в генотипах отдельных особей. Например, коэффициент инбридинга в потомстве от самоопыления равен $1/2$, у сибсов (братья и сёстры) $1/4$, двоюродных братьев и сестёр $1/16$, у троюродных братьев и сестёр $1/64$ т.д.

185. Как используется инбридинг в практических целях?

При инбридинге скрещивание между родственными особями происходит чаще, чем можно было ожидать на основе случайности. Генетическим следствием инбридинга является повышение с каждым поколением гомозиготности потомков.

Другим важным генетическим следствием инбридинга, является разложение популяции на ряд генотипически различных линий. Такие линии тем многочисленнее, чем больше число генов, по которым гетерозиготна исходная популяция. В самом деле, при гетерозиготности ее по одному гену (Aa) возможно возникновение двух разных полностью гомозиготных линий (AA и aa), в случае гетерозиготности по двум генам ($AaBb$) их может быть четыре ($AABB$, $AAbb$, $aaBB$ и $aabb$), когда же исходная популяция гетерозиготна по n -генам, то результатом инбридинга может быть выделение $2n$ различных гомози-

готных линий. Вот почему инбридинг особей, взятых из панмиктической популяции, часто ведет к образованию большого числа генотипически различных линий, поскольку такие популяции обычно гетерозиготны по многим генам.

Угнетающее действие инбридинга проявляется не всегда. Многие растения постоянно и без всяких признаков депрессии размножаются исключительно или преимущественно самоопылением, например, пшеница, овес, рис, горох, табак, томаты, ряд других возделываемых и множество диких видов растений. У лабораторных животных (мыши, крысы), у которых инбридинг большей частью приводит к вредным последствиям, в отдельных случаях даже очень длительный (50-70 поколений) тесный инбридинг не приводит к сколько-нибудь заметным отрицательным результатам.

Инбридинг часто применяется в растениеводстве и животноводстве. Селекционеры стремятся вывести сорта растений и породы животных, отличающихся максимальными показателями хозяйственно полезных признаков. При этом в качестве родителей в каждом поколении используют «наилучшие формы», т.е. производят искусственный отбор. Селекционеры пытаются также получить как можно более однородные сорта и породы. Для этого применяют систематический инбридинг, повышающий гомозиготность.

186. Что такое гетерозис, каковы причины его возникновения?

Явление гетерозиса (повышенной мощности гибридов первого поколения по сравнению с родительскими формами) известно давно. Впервые его описал еще в XVIII веке Кельрейтер на основании результатов своих опытов с растительными гибридами. Большое внимание уделял гетерозису Дарвин, собравший и подробно обсудивший множество примеров гетерозиса в своем труде о перекрестном опылении и самоопылении у растений. Первые важные генетические исследования гетерозиса были проведены в начале текущего столетия амери-

канскими генетиками Дж.Шеллом (ему принадлежит и сам термин гетерозис), Истом и Джонсом. В настоящем, многими генетиками в разных странах изучается гетерозис и разрабатываются способы его использования в растениеводстве и животноводстве. Выяснение природы гетерозиса пролило свет и на причины противоположного ему явления инбредной депрессии.

В итоге всех многочисленных исследований в современной генетике сложилось представление, что гетерозис вызывается тремя основными причинами. Одной из основных причин является погашение у гетерозигот вредного действия рецессивных генов.

Теория доминирования объясняет возникновение гетерозиса аддитивным действием благоприятных доминантных генов, присутствующих в разном наборе у родителей и соединяющихся в потомках, полученных скрещиванием этих родителей.

Согласно теории сверхдоминирования гетерозис во многих случаях зависит частично, а иногда даже и целиком, от более полного или более благоприятного выражения некоторых генов в гетерозиготах, чем в гомозиготах.

Кроме этих трех основных причин гетерозиса известную роль в возникновении гетерозиса играют и некоторые другие факторы, такие, как эпистатическое взаимодействие родительских генов в гибриде, взаимоотношение гибридного ядра с цитоплазмой, происходящей только от матери (в частности, с ее митохондриями и пластидами), а у млекопитающих также иммунологические взаимоотношения матери и ее плода.

187. Как используется гетерозис в практике?

Получение гетерозисных гибридов прочно вошло в современную сельскохозяйственную практику. Особенно широко используется гетерозис при возделывании кукурузы, сорго, сахарной и кормовой свеклы, томатов и некоторых других овощей, а также при разведении свиней, кур и тутового шелко-

пряда. В ряде стран основные посевы кукурузы ведутся гетерозисными гибридными семенами и все промышленные выкормки тутового шелкопряда производятся из гетерозисной гибридной грены.

Гетерозис как метод получения высоких урожаев был впервые с большим успехом испытан на кукурузе. Повышение урожайности, полученное у гибридной кукурузы, было очень значительным. В настоящее время производство кукурузы практически целиком основано на гибридных семенах, для получения которых в течение нескольких лет создаются инбредные линии. Затем из этих линий получают межлинейные гибриды первого поколения. Растения линий, дающих наилучшие комбинации, размножают для производства гибридных семян. Двойные межлинейные гибриды получают путём скрещивания простых гибридов, проявляющих гетерозис.

При двойной межлинейной гибридизации образуются высокопродуктивные гибридные растения.

Закрепить гетерозис удастся там, где возможно вегетативное размножение гибридов – клубнями, луковицами, черенками. Так сохраняется положительный эффект гетерозиса, например, у картофеля, некоторых древесных и кустарниковых растений. В естественных условиях закрепление гетерозиса могло происходить при возникновении полиморфизма по инверсиям, например в природных популяциях дрозофил, или при установлении константной гетерозиготности по транслокациям, как это имело место у энотеры. Другой путь естественного закрепления гетерозиса – это переход к апогамии или другим формам бесполого размножения, что происходило в процессе эволюции многих видов растений.

Характерной чертой гетерозиса является его постепенное затухание в ряду поколений. По данным В. Шелла урожайность зёрен гетерозисных гибридов в F_2 в среднем снижается на 35%, в F_3 на 50% по сравнению с F_1 .

188. В чём трудности отдалённой гибридизации? Почему отдалённые гибриды бесплодны?

Отдалённая гибридизация – это скрещивание форм, относящихся к разным видам и родам. Такие скрещивания проводят с целью совмещения у гибридов полезных для человека признаков и свойств в тех случаях, когда внутривидовая гибридизация оказывается неэффективной.

Однако в работе по получению отдалённых гибридов возникает ряд трудностей, связанных с нескрещиваемостью разных видов и бесплодием гибридов.

Основными факторами, препятствующими отдалённой гибридизации, являются презиготические и постзиготические изолирующие репродуктивные механизмы (РИМ). К презиготическим РИМ относятся: экологическая изоляция (разобщение ареалов), временная изоляция (несовместимость циклов размножения), поведенческая изоляция (отсутствие полового рефлекса), механическая изоляция (различия в половых органах), гаметическая изоляция (препятствия к оплодотворению).

Постзиготическая РИМ, снижающая жизнеспособность и плодовитость гибридов, это нежизнеспособность гибридов, стерильность гибридов, неполноценность гибридов (пониженная жизнеспособность).

Одной из главных причин бесплодия у отдалённых гибридов являются нарушения мейоза, связанные с разным числом хромосом различных видов, что затрудняет конъюгацию у гибрида из-за беспорядочного распределения хромосом и образования несбалансированных нежизнеспособных гамет. Методом преодоления бесплодия гибридов может быть перевод их на полиплоидный уровень.

189. Как вычисляется коэффициент наследуемости?

Изменчивость всякого количественного признака в любой группе особей обусловлена совместным действием генетических факторов и разнообразных факторов окружающей среды (совокупность которых объединяют под общим понятием пара-

типических). Коэффициент наследуемости представляет величину, показывающую, какова доля генетической компоненты в фенотипической изменчивости изучаемого количественного признака в рассматриваемой группе особей. Фенотипическая изменчивость признака характеризуется средним квадратическим отклонением или квадратом этого отклонения — дисперсией (σ^2). Общая фенотипическая дисперсия (σ_p^2) складывается из дисперсии, зависящей от генетического разнообразия особей (σ_G^2), и дисперсии, обусловленной паратипическими влияниями (σ_E^2). Отсюда следует, что доля генетической компоненты в общей изменчивости признака может быть выражена отношением

$$\frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \sigma_E^2} = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_p^2}$$

Отсюда коэффициент наследуемости будет равен:

$$H^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_p^2}$$

Значения H^2 , близкие к 1, говорят о том, что вклад факторов среды в фенотипическую изменчивость признака в популяции очень мал. Если эта величина приближается к 0, то наблюдаемая изменчивость признака, в основном, обусловлена факторами среды.

В селекционной практике вычисление коэффициента наследуемости имеет значение, главным образом, для прогнозирования эффективности отбора по тому или иному признаку: чем выше этот коэффициент в изучаемой группе особей, тем больше шансов, что отбор приведет у потомков к сдвигу признака в желаемую сторону. Например, у кур яйценоскость характеризуется низким, а вес яиц высоким коэффициентом наследуемости. В данном случае отбор по яйценоскости будет безрезультатным и весьма успешным по весу яиц.

190. Как наследуются количественные признаки?

Такие признаки как, например, особенности окраски, формы, наличие или отсутствие определенного фермента и т.п. обычно называют качественными.

К количественным признакам принадлежат вес и размеры тела, плодовитость, урожайность, продуктивность, скороспелость, содержание белков и жиров, число одинаковых частей, например, зерен в колосе, лепестков цветка, кровяных клеток в определенном объеме и т.п.

Большинство хозяйственно-ценных признаков возделываемых растений и домашних животных относится к категории количественных, поэтому знание того, как наследуются количественные признаки, очень важно для селекционной работы.

Количественные признаки, как правило, изменчивее качественных. Это зависит от двух причин. Во-первых, наследственные различия особей по тому или иному количественному признаку обусловлены обычно взаимодействием нескольких пар полимерных генов. Во-вторых, количественные признаки большей частью сильнее зависят от внешних факторов, чем качественные.

При скрещивании особей, различающихся по количественному признаку, в F_1 , как правило, не наблюдается доминирования признака одного из родителей, а в F_2 нет четкого расщепления на число фенотипически различных классов, находящихся между собою в определенных и характерных численных отношениях.

В 1910 году шведский генетик Нильсон-Эле выдвинул предположение, согласно которому особенности наследования количественных признаков зависят от действия полимерных генов.

Скрещивая краснозерную мягкую пшеницу с белозерной, Нильсон-Эле установил, что окраска зерен в F_1 , всегда промежуточна между родительскими формами и однородна. Расщеп-

ление в F_2 различно в зависимости от того, какой краснозерный родитель участвовал в скрещивании.

При скрещивания растений с темно – красными и белыми семенами, расщепление в F_2 соответствовало моногибридному расщеплению 3:1. Одна часть растений имела красные семена, две части промежуточные по окраске (светло-красные) и одна часть – белые семена. Однако когда скрещивались другие линии пшеницы с белыми и красными семенами, в F_2 обнаруживались пять типов окраски семян различной степени интенсивности – от темно-красных до совершенно бесцветных. В целом растений с окрашенными семенами было 15/16, тогда как с белыми – 1/16. Во втором случае, расщепление по фенотипическим классам будет: 1:4:6:4:1

191. Каково практическое значение отдаленной гибридизации?

Одной из разновидностей неродственного скрещивания, используемой в селекции, является отдаленная гибридизация, т.е. скрещивание представителей разных видов или родов. В селекции растений, где отдаленная гибридизация применяется гораздо шире, чем в селекции животных, главная цель состоит не столько в получении гетерозисных гибридов, сколько в совмещении у растений путем скрещивания ценных в хозяйственном отношении наследственных признаков.

Отдаленной гибридизацией получены многие новые формы плодовых растений, большинство из которых можно размножать вегетативно, повторяя, таким образом, особенности гибрида в неограниченном числе копий. Ряд ценных сортов сельскохозяйственных растений создан из плодовых межвидовых гибридов более сложным путем – выделением из расщепляющегося потомства экземпляров с желаемыми сочетаниями признаков и скрещиванием их друг с другом или с одним из родительских видов, а иногда и с представителем третьего вида. Так, на основе гибридизации пшеницы (твердой и мягкой) с рожью создан ряд форм, объединяемых под названием тритикале (от латинских родовых названий пшеницы – *Triticum* и

ржи – *Secale*), обладающих хорошей урожайностью, зимостойкостью и иммунитетом к ряду болезней пшеницы.

Отдаленной гибридизацией получены ценные сорта сахарного тростника с высокой сахаристостью. Многие иммунные к ряду болезней сорта картофеля, выведены путем скрещивания картофеля с дикими южноамериканскими видами. Методом отдаленной гибридизации созданы улучшенные сорта пшеницы, подсолнечника.

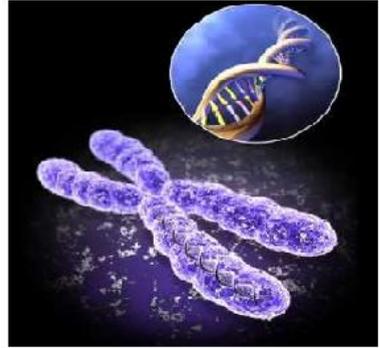
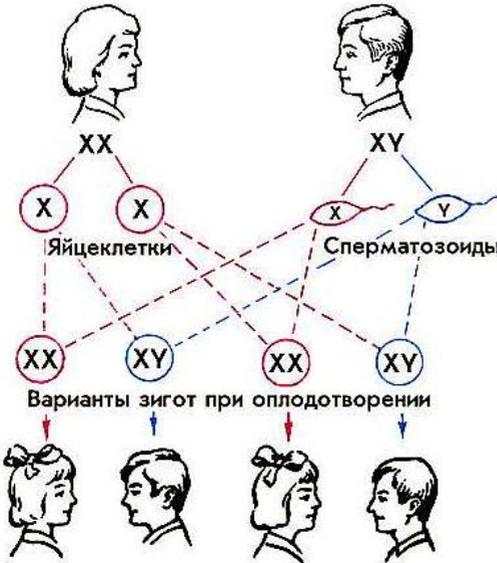
В животноводстве отдаленная гибридизация используется главным образом для получения гетерозисных гибридов. К ним относятся, например, издавна известные своей выносливостью и работоспособностью мулы – бесплодные гибриды лошади и осла, – отличающиеся крупным ростом и силой, гибриды одногорбого и двугорбого верблюдов. Скороспелостью и хорошими мясными качествами характеризуются гибриды крупного рогатого скота с яками. Ценными в хозяйственном отношении качествами обладают гибриды карпа и карася.

Скрещиванием тонкорунных мериносов с диким горным бараном архаром создана порода архаромериносов, приспособленная к резко континентальному климату Средней Азии. Гибридизацией обычного крупного рогатого скота с зебу в Техасе (США) и на Ямайке выведены породы, хорошо переносящие жару и мало привлекающие клещей.

В настоящее время для создания отдаленных гибридов используется метод генетики соматических клеток.

Глава XVI

ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА



192. В чем биосоциальная сущность человека?

Несомненно, человек, как и все прочие организмы, испытывает влияние мутационного процесса – мутационное давление. Такие факторы, как миграция, или поток генов, избирательность спаривания, дрейф генов в изолированных популяциях, сохраняют свое значение и для человека. При этом действие одних факторов, например, миграции, усиливается, действие других ослабляется, например, все меньше становится изолированных популяций с их близкородственными браками и повышенным коэффициентом инбридинга и т.д. В то же время главный фактор эволюции – естественный отбор – не играет той роли в человеческом обществе, какую он играет в популяциях всех прочих организмов.

Однако это не означает, что человек совсем закончил свою эволюцию. Эволюция человека перешла преимуществен-

но в сферу социальную. Собственно социальная сфера эволюции – это культура. Многие исследователи наряду с генетической наследственностью предлагают рассматривать сигнальную наследственность (М.Е.Лобашев), социальную наследственность (Н.П.Дубинин), преемственность (С.И.Давиденков), просто культуру (О.Солбриг и Д.Солбриг) и другие понятия. Все они означают различные формы передачи опыта между поколениями.

Сигнальная наследственность представляет собой передачу навыков адаптивного поведения от родителей потомкам, а также в пределах одного поколения и даже от потомков родителям. Несомненно, что сигнальная наследственность появилась уже у животных и формировалась на основе различных способов коммуникаций. Сюда можно отнести явление импринтинга (запечатления) поведенческих реакций, формирующихся на ранних стадиях постнатального развития позвоночных, различные способы обучения и подражания.

Зачатки социального поведения и явления сигнальной наследственности имеются уже у животных, но наивысшего расцвета сигнальная наследственность достигла в человеческом обществе в форме культуры. Социальная эволюция человека сложилась на фундаменте биологической эволюции. В то же время биосоциальная сущность человека накладывает отпечаток на проявление биологических, в том числе генетических закономерностей, которым подчиняется его индивидуальное и эволюционное развитие.

193. В чем трудности изучения человека как объекта генетики?

Частная генетика человека сформировалась с учетом следующих особенностей, создающих трудности при изучении его наследственности и изменчивости:

- 1) Невозможности направленных скрещиваний для генетического анализа;

- 2) Невозможности экспериментального получения мутаций;
- 3) Позднего полового созревания;
- 4) Малочисленности потомства;
- 5) Невозможности обеспечения одинаковых и строго контролируемых условий для развития потомков от разных браков;
- 6) Недостаточной точности регистрации наследственных признаков в небольших родословных;
- 7) Сравнительно большого числа ($2n=46$) трудно различающихся хромосом.

В последние годы развитие новых методов в генетике и применение их к человеку позволили устранить многие, но далеко не все трудности работы с человеком как с генетическим объектом.

194. Какое значение имеет применение генеалогического метода?

Традиционные и новейшие методы, используемые в генетике человека, отражают его особенности как генетического объекта. Существует система обозначений, используемых в генетике человека (рис. 14).

Генеалогический метод позволяет преодолеть сложности, возникающие в связи с невозможностью скрещивания и малочисленностью потомства. Если есть родословные, то можно, используя суммарные данные по нескольким семьям, определить тип наследования (доминантный, рецессивный, сцепленный с полом, аутомсомный) признака, а также его моногенность или полигенность (рис. 15). Так, доминантный признак «*габсбургская губа*» (толстая выпяченная нижняя губа) прослеживается в династии Габсбургов, начиная с XV в. Аналогичное наследование легко выявляется для признака *брахидактилия*, или *короткопалость*, вследствие недоразвития (срастания) конечных фаланг. По доминантному типу наследуется такой дефект,

как *ахондроплизия* – карликовость, связанная с резким укорочением конечностей, и др.

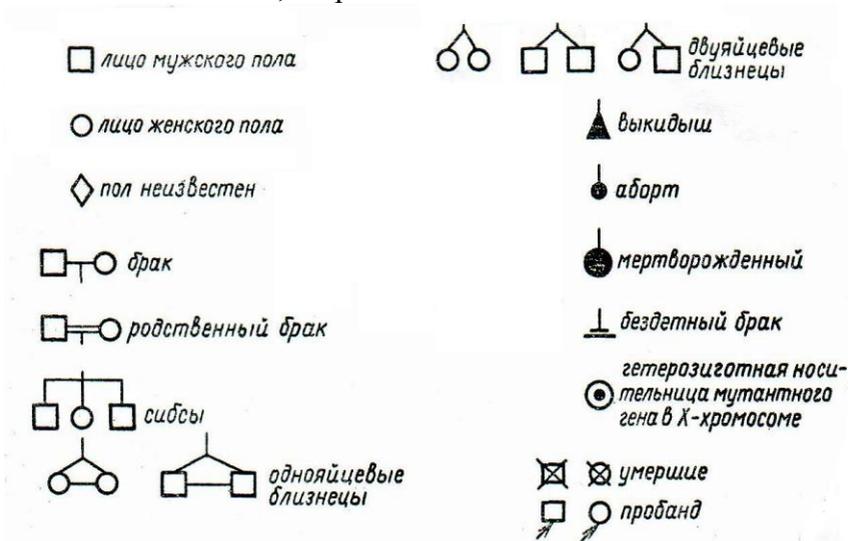


Рис. 14. Система обозначений, используемых при составлении генеалогий

Использование генеалогического метода позволило установить характер наследования *гемофилии А* – несвертываемости крови. Этот признак является следствием дефекта или отсутствия в организме *фактора VIII* в крови.

Гемофилия А наследуется как рецессивная аллель в X-хромосоме, т.е. обнаруживает сцепление с полом. Известно, что носительницей (гетерозиготной) гемофилии А была английская королева Виктория. Один из ее сыновей был гемофиликом и две дочери оказались гетерозиготными носительницами этой болезни. В дальнейшем благодаря бракам между представителями царствующих фамилий Европы эта рецессивная, сцепленная с полом аллель распространилась среди правителей Германии, России и Испании. Признак обнаруживает типичное кресс-кросс наследование. Мужчины поражаются чаще, поскольку имеют всего одну X-хромосому. Известны редкие случаи гемофилии у женщин. Лечение больных основано на вве-

дении им больших количеств антигемофильного глобулина, получаемого из донорской крови.

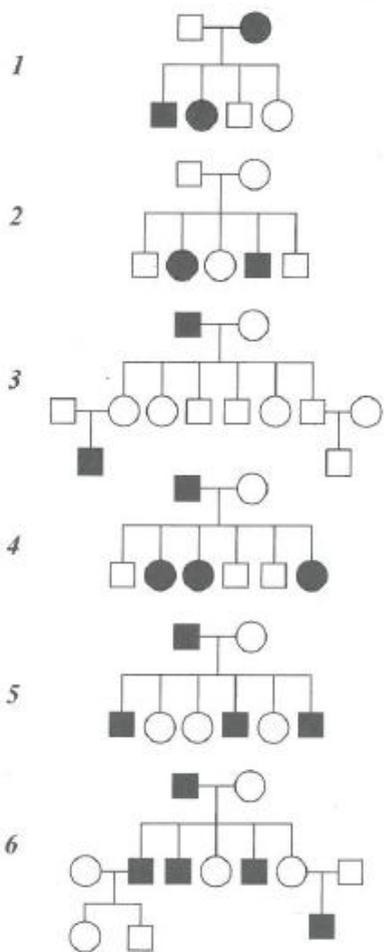


Рис. 15. Родословные, демонстрирующие различные типы наследования признаков у человека: 1 – аутосомно-доминантный; 2 – аутосомно-рецессивный; 3 – сцепленный с полом, рецессивный; 4 – сцепленный с полом, доминантный; 5 – голандрический; 6 – зависимый от пола (аутосомный)

195. С какой целью используется близнецовый метод?

Близнецы у человека появляются приблизительно в 1% всех рождений. Около 1/4 из них—однойяцевые близнецы (ОБ), развивающиеся из разъединившихся бластомеров одной единственной оплодотворенной яйцеклетки и имеющие поэто-

му совершенно тождественные генотипы; понятно, что оба близнеца такой пары всегда бывают одного пола. В отличие от этого, встречающиеся втрое чаще разнородные близнецы (РБ) образуются из двух разных яйцеклеток, случайно одновременно созревших у матери: по сути дела, это обычные сибсы, только развившиеся совместно. Как и у сибсов, у пары разнородных близнецов общими для них обоим оказывается в среднем только половина генов. Разнородные близнецы могут быть как одинакового, так и разного пола.

Основателем близнецового метода в генетике человека был Ф.Гальтон (XIX в.), который обратил внимание на то, что есть близнецы похожие и различающиеся и предложил сравнивать их между собой для выяснения влияния наследственности и «питания», т.е. влияния среды на появление признаков. Несмотря на то, что Ф.Гальтон в то время не мог точно указать, какие близнецы являются ОБ, а какие РБ, он впервые применил подход, широко используемый в генетике человека в настоящее время.

Изучение близнецов помогает приблизительно оценивать относительные значения генотипа и среды в становлении различных признаков человека (табл. 5).

Для медицинской генетики исследование близнецов важно потому, что позволяют судить о роли генотипа в устойчивости человека к разным заболеваниям и о зависимости проявления и выражения различных наследственных болезней от факторов среды. Если изучаемый признак проявляется у обоих близнецов пары, это называется конкордантностью, если же только у одного из них, то дисконкордантностью. Изучение степени конкордантности ряда патологических состояний человека и сравнения, некоторых нормальных признаков, по которым популяции человека полиморфны позволяет составить представление о соотносительной роли наследственности и среды в становлении некоторых из этих признаков. Так в определении групп крови, формы бровей, цвета глаз и волос наследственность явно играет преобладающую роль (табл. 5).

Табл. 5. Конкордантность некоторых признаков человека у однояйцевых и разнаяйцевых близнецов

Признаки	Конкордантность, %	
	у однояйцевых близнецов	у разнаяйцевых близнецов
<u>Нормальные признаки</u>		
Группы крови системы АВО	100	64
Форма бровей	100	51
Цвет глаз	99,5	28
Цвет волос	97	23
Папиллярные линии кистей рук	92	40
<u>Патологическое состояние</u>		
Косолапость	23	2
Грыжа спинного мозга	77	33
Синдром Дауна	89	7
Рахит	88	22
Паралитический полиомиелит	36	6
Корь	95	87
Скарлатина	84	47
Дифтерит	50	38
Рак	16	14
Эпилепсия	67	3
Слабоумие	91	53
Шизофрения	80	13
Маниакально-депрессивный психоз	77	19

Относительные значение наследственности и среды в становлении изучаемого признака можно выразить следующим образом:

$$\frac{H}{C} = \frac{(100 - b) - (100 - a)}{100 - a}$$

где Н – значение наследственности, С – значение среды, а – % конкордантности у однояйцевых близнецов, b – % конкордантности у разнойцевых близнецов одинакового пола.

196. Какую информацию дает цитогенетический метод?

Основой цитогенетического метода является изучение морфологии отдельных хромосом человека (рис. 16).



Рис. 16. Кариотип человека

У человека на идиограмме среди 46 хромосом различают три типа хромосом в зависимости от положения в хромосоме центромер: метацентрические, субметацентрические, акроцентрические (табл. 6).

Разработка методов дифференциальной окраски упростила проблему идентификации всех хромосом человека. В результате оказалось возможным идентифицировать каждую хромосому. Благодаря культивированию клеток человека *in vitro* можно получать достаточно большой материал для описания цитологических особенностей исследуемого индивидуума. Для

этого обычно используют кратковременную культуру лейкоцитов периферической крови.

Табл. 6. Классификация хромосом человека

Группа хромосом	Номер по кариотипу	Характеристика хромосом
A (I)	1, 2, 3	1,3- метацентрические, 2 – крупная субметацентрическая
B (II)	4, 5	крупные субметацентрические
C (III)	6-12 и X	средние субметацентрические
D (IV)	13-15	средние акроцентрические
E (V)	16-18	мелкие субметацентрические
F (VI)	19-20	самые мелкие метацентрические
G (VII)	21-22 и Y	самые мелкие акроцентрические

Цитологический контроль применяют при диагностике ряда наследственных заболеваний, которые связаны с явлениями анеуплоидии и различными хромосомными aberrациями. Наряду с изучением митотических хромосом полезную информацию получают и при наблюдении интерфазных клеток. В частности, мужчин и женщин различают по наличию в интерфазном ядре так называемого *тельца Барра*, или *полового хроматина*.

Цитологический метод приобрел большое значение в связи с возможностями, которые открыла *гибридизация соматических клеток*. Получение гибридов между соматическими клетками различных видов, например, человека и мыши позволяет в значительной степени преодолеть проблемы, связанные с невозможностью скрещиваний, и картировать многие гены, контролирующие метаболизм клетки.

Объединение генеалогического метода с цитогенетическим, а также с новейшими методами генной инженерии значительно ускорило процедуру картирования генов у человека.

197. Что такое тельце Барра, или половой хроматин?

В 1949 г. М.Барр и Ч.Бертрам, изучая нейроны кошки, обратили внимание на то, что в интерфазном ядре клетки содержится интенсивно окрашиваемое тельце, причем оно присутствует только в ядрах клеток самок. Оно было найдено у ряда позвоночных и у человека и получило название полового хроматина или тельца Барра. Между числом телец полового хроматина и числом X-хромосом в ядре имеется прямая связь. Половой хроматин в интерфазных ядрах обусловлен спирализацией одной из X-хромосом, инактивация которой является механизмом, выравнивающим баланс генов половых хромосом в клетках самцов и самок (т.е. это один из механизмов дозовой компенсации генов). По наличию лишнего или отсутствию тельца Барра можно диагностировать некоторые виды наследственных болезней. Клетки, не содержащие полового хроматина, обнаруживаются у индивидуумов, имеющих набор хромосом 45, XO (синдром Шерешевского-Тернера), 46, XY (нормальные мужчины); 47, XYY. Тельце Барра обнаруживается при хромосомном наборе 46, XX (нормальные женщины); 47, XXU и 48, XXYY (синдром Клайнфельтера). Количество телец Барра в клетке равно $N-1$, где N – число X – хромосом в клетке.

198. Какую информацию дает популяционно-статистический метод?

Популяционный метод, дает информацию о степени гетерозиготности и полиморфизма человеческих популяций, выявляет различия частот аллелей между разными популяциями. Так, хорошо изучено распространение аллелей системы групп крови ABO. Различную концентрацию конкретных аллелей ABO связывают с известными данными о чувствительности разных генотипов к инфекционным болезням. Это помогает

понять направление эволюции и отбора, действовавшего в разных регионах, в истории человечества.

Предполагается, что снижение концентрации аллели I^0 в ряде популяций было связано с распространением чумы, так как возбудитель чумы *Pasteurella pestis* обладает свойством антигена O. Снижение концентрации аллели I^A связывают с эпидемиями оспы, предпочтительно элиминировавшими носителей антигена A.

Популяционный метод позволяет определить адаптивную ценность конкретных генотипов. Многие признаки и соответственно обуславливающие их гены адаптивно нейтральны и проявляются как естественный полиморфизм человеческих популяций (например, многие морфологические признаки: цвет глаз, волос, форма ушей и т.д.). Другие признаки возникли как адаптивные по отношению к определенным условиям существования; например, темная пигментация кожи негров предохраняет от действия солнечной радиации. Известны примеры условно адаптивных аллелей. К их числу относится такая генетическая аномалия, как *серповидноклеточная анемия*. Рecessивная аллель, вызывающая в гомозиготном состоянии это наследственное заболевание, выражается в замене всего одного аминокислотного остатка в β -цепи молекулы *гемоглобина* (глутаминовая кислота \rightarrow валин). Больные серповидноклеточной анемией погибают в раннем возрасте. Эта болезнь распространена в популяциях тропической Африки и Азии. Сравнительно высокая частота летальной аллели в указанных районах озадачивала исследователей, пока А. Аллисон не обнаружил, что гетерозиготы по серповидноклеточной анемии гораздо устойчивее к малярии, чем гомозиготы по нормальной аллели. Таким образом, в естественных условиях распространения малярии в местных популяциях отбор шел в сторону поддержания в гетерозиготе аллели, очевидно, вредной в гомозиготном состоянии.

199. Что изучает иммуногенетика? Как осуществляется синтез антител?

Примером особенно сложного взаимодействия генов в процессах дифференцировки клеток может служить синтез иммуноглобулинов (антител), лежащий в основе явлений иммунитета у человека и позвоночных животных. В исследовании этих явлений, очень интересных в теоретическом отношении и имеющих важное значение для практической медицины и ветеринарии, большая роль принадлежит разделу генетики, получившему название иммуногенетики. Иммуногенетика изучает наследственные факторы иммунитета, в том числе определяющие разнообразие и специфичность иммуноглобулинов.

Иммуноглобулины представляют собой особые белки, вырабатываемые в ответ на внедрение в организм антигенов — чужеродных белков или полисахаридов, с которыми иммуноглобулины специфически связываются, нейтрализуя их вредное действие. В развитии иммунитета участвуют в основном образующиеся в костном мозге лимфоциты двух типов; одни из них затем дифференцируются в зобной железе (тимусе) и называются Т-лимфоцитами, а другие — в селезенке и лимфоидных органах и называются В-лимфоцитами.

Биосинтез антител осуществляется В-лимфоцитами или их потомками. Для этого нужно, чтобы антиген связался на поверхности В-лимфоцита с иммуноглобулиновыми рецепторами, обладающими сродством с этим антигеном. Однако для большинства антигенов этого недостаточно. В-лимфоцит определенной специфичности начинает размножаться и дифференцируется в зрелый плазмочит, синтезирующий иммуноглобулин, только после того, как этот В-лимфоцит получил положительный сигнал от Т-лимфоцита, который тоже должен «узнать» этот же антиген. Этот процесс называется кооперацией В- и Т-лимфоцитов.

Процесс синтеза антител контролируется различными структурными генами иммуноглобулинов и генами интенсивности иммунного ответа. Этот процесс характеризуется двумя

следующими важными особенностями. Во-первых, это способность лимфоцитов распознавать молекулы огромного числа антигенов и вырабатывать столь же много разных иммуноглобулинов, каждый из которых специфически реагирует с тем или иным антигеном; при этом роль Т- и В-лимфоцитов в распознавании антигенов различна – первые распознают характер антигена, вторые же распознают не только сам антиген, но и специфический сигнал об этом антигене, полученный от Т-лимфоцитов. Во-вторых, это способность лимфоцитов «запоминать» антиген, для связывания с которым они синтезировали соответствующий иммуноглобулин и отвечать на повторное попадание в организм этого антигена ускоренной и усиленной продукцией того же иммуноглобулина.

200. Какое строение имеют молекулы иммуноглобулинов? Как определяется их специфичность?

Молекула иммуноглобулина состоит из двух одинаковых тяжелых полипептидных цепей (обозначаются буквой H от английского слова heavy – тяжелый) и двух одинаковых легких полипептидных цепей (обозначаются буквой L, от английского light – легкий). Каждая тяжелая цепь соединена с легкой цепью дисульфидной связью, этими же связями соединены две тяжелые цепи молекулы иммуноглобулина; кроме того, в пределах и тяжелых и легких цепей имеются дисульфидные связи, обуславливающие частичное свертывание этих нитей. И тяжелая, и легкая цепи состоят из двух участков, каждая – вариabельного (обозначается буквой V от английского слова variable) и постоянного (обозначается буквой C от английского слова constant).

Специфичность по отношению к разным антигенам определяется первичной структурой вариabельных участков полипептидных цепей молекулы иммуноглобулина. Последовательность аминокислот в постоянных участках цепей мало изменчива, она одинакова или почти одинакова у иммуноглобулинов, принадлежащих к одному из классов, на которые они

делятся (так, у человека сейчас определено пять классов иммуноглобулинов). Наоборот, V-участки цепей очень разнообразны по последовательности образующих их аминокислот; для каждого из множества различных иммуноглобулинов характерна своя особая первичная структура V-участков полипептидных цепей.

Созревание продуцирующих антитела В-лимфоцитов происходит в два этапа; один из них зависит, а другой не зависит от антигена. На первом этапе клетки размножаются и образуют очень гетерогенную популяцию малых В-лимфоцитов, различающихся по способности вырабатывать иммуноглобулины; каждая такая клетка потенциально может синтезировать антитела только одной специфичности, связывающие только один определенный антиген, хотя эти антитела могут принадлежать к различным классам иммуноглобулинов. Другими словами, у них будут одинаковые V-участки, но могут быть разные С-участки полипептидных цепей. Те из этих клеток, которые получили положительный сигнал от Т-лимфоцитов, начинают усиленно размножаться, давая отдельные клоны зрелых В-лимфоцитов, синтезирующих один и тот же иммуноглобулин и передающих эту способность своим потомкам. Поэтому при повторном попадании в организм того же антигена его встречает достаточно большое число В-лимфоцитов, синтезирующих иммуноглобулин, связывающий данный антиген, и происходит более быстрое и интенсивное обезвреживание этого антигена, чем при первичном контакте с ним.

201. В чем причина разнообразия синтезируемых организмом антител?

Центральное место в иммуногенетике занимает вопрос о причинах разнообразия синтезируемых организмом антител. Это разнообразие определяется в первую очередь тем, что геном позвоночных содержит большое число генов, определяющих структуру V-участков легкой и тяжелой цепей молекул различных антител; роль антигена сводится к стимуляции раз-

множения некоторых клеток, в которых произошла активация генов определяющих синтез иммуноглобулинов, способных связываться с данным антигеном, т.е. антиген является тут селективным фактором. Во-вторых, разнообразие В-лимфоцитов в отношении продуцирования ими различных антител до некоторой степени обусловлено высокой частотой возникающих в них соматических мутаций, либо независимо от действия антигена, либо под его влиянием. В-третьих, при дифференцировке В-лимфоцитов в них до или после воздействия антигена имеют место соматические рекомбинации генов, кодирующих иммуноглобулины. Очень важной причиной разнообразия синтезируемых В-лимфоцитами иммуноглобулинов, несомненно, является образование различных сочетаний в молекуле тяжелых и легких полипептидных цепей: ведь каждая молекула иммуноглобулина состоит из цепей обоих этих видов и специфичность связывания антигена молекулой иммуноглобулина зависит от обеих цепей. Как уже говорилось, имеется множество генов, кодирующих участки обеих цепей; по-видимому, этих генов в геноме позвоночных несколько сотен. Генов, кодирующих С-участки, меньше, их бывает до десятка. Ясно, что число возможных сочетаний этих генов чрезвычайно велико. Если любая тяжелая цепь может объединяться с любой легкой цепью при сборке молекулы функционально активного антитела, то при наличии 1000 разных тяжелых цепей и 1000 разных легких цепей, их сочетания могут привести к образованию миллиона (1000^2) различных иммуноглобулинов.

Число возможных различных тяжелых цепей может быть значительно больше, чем 1000. Ведь каждая тяжелая цепь антител кодируется примерно 200 V-генами, из которых каждый может соединяться с любой из десятка D-последовательностей, с любой из нескольких J-последовательностей и с любым из десятка C-генов, что, по скромным расчетам, делает возможным синтез около 80000 различных тяжелых цепей ($200 \times 10 \times 4 \times 10 = 80000$).

Принципиально также синтезируются легкие цепи иммуноглобулинов.

202. Как определяется система эритроцитных групп человека?

Группы крови определяются антигеном, который находится на поверхности эритроцитов. Антигены специфичны для каждой группы крови. У человека имеются четыре основные группы крови О, А, В, АВ. Эти группы обусловлены серией из трёх аллелей I^B , I^A , I^O (табл. 7). Аллель I^O рецессивен по отношению к двум другим аллелям I^A и I^B , которые проявляются одинаково у гетерозигот, т.е. кодоминантны.

Табл. 7. Группа крови системы АВО

Группы крови	Антиген	Генотип	Антитело
1	О	$I^O I^O$	$\alpha\beta$
2	А	$I^A I^A$ или $I^A I^O$	β
3	В	$I^B I^B$ или $I^B I^O$	α
4	АВ	$I^A I^B$	О

Три антигена АВО называют ещё изоантигенами. Против каждого из антигенов А и В в сыворотке крови уже при рождении есть соответствующие антитела. При взаимодействии антигена с антителом происходит агглютинация, т.е. склеивание эритроцитов, что может привести к закупорке сосудов и смерти человека. Если в геноме человека имеются аллели I^A или I^B , у него синтезируются антигены А или В. При этом в том же организме не образуются антитела против антигенов А или В. Если аллели А и В отсутствуют, тогда возникают антитела α против антигена А и β против антигена В.

Открыты и другие системы групп крови, но только при АВО – системе в норме продуцируются антитела против соответствующих антигенов. В системе MN имеется два аллеля – I^M и I^N , их гены являются кодоминантами. Таким образом, суще-

ствуют гомозиготы MM и NN и гетерозиготы MN. Существуют и другие малораспространённые в человеческой популяции группы крови: Даффи, Бомбей, Диего и др. Знания о группах крови у человека очень важны для медицинской практики, особенно для определения совместимости при переливании крови.

203. Что такое резус-фактор и как он наследуется?

В 1940 году К. Ландштейнером и И. Leviном у человека была открыта новая группа крови – Rh. Они установили, что 85% европейцев имеют эритроцитарный антиген, общий с антигеном обезьян вида макаки – резус. У макаки – резус брали эритроциты и иммунизировали ими кроликов. У кроликов образовались антитела против антигенов в эритроцитах макаки. Эти антитела способны агглютироваться с эритроцитами 85% людей. Остальные 15% этой реакции не дают. Люди, кровь которых реагируют с антителами обезьяны резус, называются резус-положительными, их генотип Rh^+Rh^+ или Rh^+rh^- , а те, кровь которых не реагирует с антителами обезьяны резус – резус - отрицательным – rh^-rh^- .

Открытие новой группы позволило объяснить тяжёлое заболевание – гемолитическую желтуху у новорождённых. Если у матери и плода оказывается несовместимость по резус - фактору, первый ребёнок редко страдает гемолитической болезнью, потому, что уровень антител в крови матери невысокий. Однако, когда резус-отрицательная женщина беременна вторым резус-положительным ребёнком уровень её антител повышается, они могут попасть в кровеносную систему ребёнка и разрушить его клетки крови. Когда резус-отрицательная женщина носит резус-положительного ребёнка, ребёнок должен получить Rh^+ - ген от отца. Отец может быть либо гомозиготой Rh^+Rh^+ , либо гетерозиготой Rh^+rh^- . В первом случае все дети окажутся резус-положительными, во втором случае, наследуя rh^- -ген от отца и матери ребёнок будет rh^-rh^- , т.е. резус-отрицательным. В таком случае, резус конфликт не образуется.

Несовместимость по Rh-фактору следует учитывать и при повторных переливаниях крови.

204. Как характеризуется мутационный процесс у человека?

Мутационный процесс у человека и его роль в наследственной патологии характеризуются следующими показателями. 10% болезней человека определяются патологическими генами либо генами, обуславливающими предрасположенность к наследственным болезням. Сюда не включены некоторые формы злокачественных опухолей, которые возникают в результате соматических мутаций. Около 1% новорожденных заболевают вследствие генных мутаций, из которых часть являются вновь возникшими. Темп мутирования различных локусов в генотипе человека, так же как у других видов, неодинаков. Известен локализованный в X-хромосоме ген, вызывающий врожденные уродства, который мутирует с частотой $1 \cdot 10^{-4}$ на гамету на поколение. Большинство других генов мутируют с частотой, в 10^2 — 10^3 раз меньшей. Помимо того, один из 150 новорожденных несет структурную или числовую (полиплоидия, анеуплоидия) мутацию хромосом. Эти мутации в абсолютном большинстве возникают в половых клетках родителей. 50% ранних аборт обусловлено хромосомными мутациями. Это связано с тем, что одна из 10 гамет человека является носителем структурных мутаций. В соматических клетках человека частота хромосомных aberrаций достигает 0,1-1%. Приведенные расчеты не касаются перестроек генотипа, обусловленных перемещением мобильных элементов, что также может приводить к мутационным событиям. Между тем мобильность Alu-повторов и заключенных между ближайшими повторами участков генома доказана экспериментально, причем темп ее увеличивается с возрастом человека. Возраст родителей, особенно возраст матерей, играет важную роль в увеличении частоты хромосомных, а возможно, и генных мутаций.

В настоящее время мутационный процесс у человека характеризуется тем, что протекает на фоне повышенной концентрации мутагенных факторов, созданной производственной деятельностью самого человека. Несмотря на обнадеживающие результаты поиска антимутагенов, их число пока невелико по сравнению с количеством мутагенных загрязнителей среды обитания человека. Поэтому важнейшая задача сегодняшнего дня — выявление мутагенных свойств загрязнителей, особенно новых химических веществ (лекарств, пестицидов, пищевых добавок, различных видов топлива и т.д.), и разработка методов технологии, позволяющих предотвратить возникновение опасных концентраций этих агентов.

Мутагенным действием на клетки человека обладают и некоторые вирусы, причем даже в ослабленной форме, которая используется для приготовления вакцин.

205. Какие факторы окружающей среды оказывают повреждающее действие на генотип человека?

Огромное большинство мутаций, как хромосомных, так и генных, в той или иной степени вредны для организма. Исследования, проведенные в разных странах, на обширном статистическом материале, показывают, что среди населения в среднем около 5% имеют те или иные морфологические, физиологические или биохимические дефекты, обязанные мутациям, возникшим у их родителей или более отдаленных предков. Выявление мутагенных факторов окружающей среды, действующих на человека, и разработка мер защиты от них представляют задачи первостепенной важности.

Давно известна мутагенность ионизирующих излучений и несомненно, что часть спонтанных мутаций человека обязана этой причине. Мутагенное действие радиации кумулятивно, т.е. эффект зависит от суммарной дозы, полученной организмом. Установлено, что гонады современного человека за 30 лет, проходящих от его рождения до достижения середины репродуктивного периода, подвергаются суммарной дозе

ионизирующей радиации, составляющей около 2,85 рад. Эта доза складывается из следующих основных компонентов: гамма - излучение Земли – 1,29 рад, космические лучи – 0,74 рад, радиоактивный калий (^{40}K), содержащийся в организме человека — 0,60 рад. Кроме того, незначительную долю суммарного облучения дают содержащиеся в теле человека радон и радиоактивный углерод (^{14}C), а также радон воздуха.

Понятно, что с генетической точки зрения недопустимо любое повышение фона естественной радиации и особенно такое, которое может удвоить частоту мутаций у человека.

Огромную опасность для здоровья человека живущего в настоящем и будущих поколений людей представляют взрывы атомных и водородных бомб, сопровождаемые мощнейшим потоком ионизирующих излучений и выпадением огромных количеств радиоактивных осадков. Среди последних наиболее опасны радиоактивные изотопы стронция (^{90}Sr), цезия (^{137}Cs) и углерода (^{14}C).

К настоящему времени в окружении человека выявлены сотни химических соединений, обладающих мутагенными свойствами. К ним следует отнести промышленные химические вещества, широко используемые в сельском хозяйстве инсектициды, фунгициды, гербициды, лекарства, пищевые добавки и примеси.

цательным фактором среды в этом случае является неправильное питание. Наконец, множество болезней имеют мультифакториальную природу. Это болезни с наследственным предрасположением (гипертоническая болезнь, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, многие формы злокачественных опухолей).

Н.П.Бочков и др. (1984) предлагают следующую генетическую классификацию наследственных болезней. В первую очередь их подразделяют на моногенные и полигенные. Для определения моногенных болезней решающее значение имеет клинико-генеалогический анализ, т.е. установление на основе изучения родословных сегрегации патологических состояний в поколениях в соответствии с законами Менделя. Моногенные заболевания, в свою очередь, в зависимости от типа наследования разделяют на аутосомно-доминантные, аутосомно-рецессивные и сцепленные с половыми хромосомами. Проявление полигенных болезней обусловлено несколькими генами. К таким болезням относят болезни с наследственным полигенным предрасположением. К наследственным болезням относят и заболевания, которые обусловлены хромосомной патологией, хотя большинство из них не передается по наследству. Хромосомные болезни возникают вследствие числовых и структурных мутаций хромосом, когда имеется частичная трисомия или моносомия.

207. Что такое генетический груз?

Генетический груз в человеческих популяциях проявляется в большом числе наследственных заболеваний. Их известно около 2000. Частоту наследственных заболеваний можно оценить на примере исследования, проведенного А.Стивенсоном в Северной Ирландии. Он обнаружил, что около 4% новорожденных несут серьезные генетические дефекты. Эта цифра не включает выкидыши и мертворождения, частота которых составляет около 14% от зарегистрированных беременностей. Часть из них, несомненно, происходит по причинам генетических аномалий. Эта цифра (4%) не включает такие распростра-

ненные болезни, как диабет и шизофрения, в возникновении которых существенную роль также играет наследственная компонента.

А.Стивенсон установил, что около 26% больничных коек в Северной Ирландии занимают пациенты, страдающие наследственными болезнями. Кроме того, 6-8% пациентов, консультирующихся с врачами, тоже относятся к этой категории.

В популяциях человека так же, как и в популяциях других организмов, в гетерозиготном состоянии содержится значительный *генетический груз*, т.е. рецессивные аллели, приводящие к развитию различных наследственных болезней. Повышение степени инбридинга в популяциях должна приводить к повышению частоты гомозиготизации рецессивных аллелей. Эта закономерность должна предостерегать от заключения близкородственных браков. Сравнение частот наследственных аномалий у потомков от неродственных браков и от браков между кузенами (двоюродными братьями и сестрами) показывает, что во втором случае частота аномалий обычно значительно выше.

Источником генетического груза служат мутации, возникающие в популяциях человека спонтанно или под действием факторов окружающей среды, среди которых все больший удельный вес приобретают так называемые антропогенные факторы.

208. К чему приводят наследственные дефекты обмена веществ?

Изучение и возможное предотвращение последствий генетических дефектов человека – предмет медицинской генетики. Условно наследственные болезни можно подразделить на три большие группы: болезни обмена веществ, молекулярные болезни, которые обычно вызываются генными мутациями, и хромосомные болезни.

Болезни обмена веществ человека с позиций генетики стали предметом изучения уже в начале прошлого столетия.

Напомним исследования А.Гаррода, начатые им в 1902 г., по врожденным «ошибкам» метаболизма. Примером наследственных заболеваний, причиной которых являются генные мутации, является фенилкетонурия при которой блокируется обмен фенилаланина. Самая безобидная из этих болезней – *альбинизм* (встречающаяся с частотой от 1:10000, до 1:20000) выражается в повышенной чувствительности к солнечному свету из-за отсутствия кожных пигментов, а также в седине и дефектах зрения.

Фенилкетонурия встречается среди новорожденных с частотой 1:10 000, а в популяции 1-4:100000. Если не поставить своевременный диагноз и не исключить фенилаланин из пищи новорожденного, то нарушается миелинизация мозга, развивается микроцефалия, резко выраженное слабоумие. Задержка нервно-психического развития наблюдается и при *тирозинозе*.

Алкаптонурия была описана Бедекером в 1859 г., однако биологически изучена А.Гарродом в 1908 г., который высказал предположение, что она обусловлена нарушением обмена гомогентизиновой кислоты в организме. Алкаптонурия проявляется в среднем возрасте в виде деформирующих артритов конечностей и позвоночника.

Галактоземия - это заболевание связано с недостаточной активностью галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы. Активность фермента больных не превышает 10% нормы, а иногда полностью отсутствует. Это касается рецессивных гомозигот, тогда как у гетерозигот активность указанного фермента достигает 50 % нормы. В норме галактоза в кишечнике превращается в глюкозу и в таком виде утилизируется организмом. Если этот путь метаболизма галактозы, которая входит в состав материнского молока, нарушен, развивается симптомокомплекс, обусловленный отравлением организма галактозой, вследствие чего наступает гипогликемия и нарушается аминокислотный обмен.

Данные заболевания имеют аутосомно – рецессивный тип наследования.

209. Какие болезни можно отнести к группе молекулярных наследственных заболеваний?

К группе молекулярных наследственных заболеваний можно отнести серповидно-клеточную анемию, талассемию, галактоземию, сахарный диабет, тирозиноз и др. К группе молекулярно-генетических дефектов следует отнести болезнь Леш-Нейяна, сопровождаемую резким повышением уровня мочевой кислоты в крови. Больные крайне агрессивны по отношению к окружающим и самим себе. Тяжелейшую форму болезни Леш-Нейяна, видимо, имела королева Екатерина Медичи, вдохновительница и организатор Варфоломеевской ночи.

Подробно изучено значительное число так называемых гемоглинопатий, т.е. болезней, возникающих из-за наследственного нарушения структуры гемоглобина. Их известно более 100 для α и β -цепей глобина. Гемоглинопатии различают в зависимости от молекулярных причин возникновения. Подавляющее большинство мутаций, затрагивающих аминокислотные остатки, ответственные за формирование третичной и четвертичной структуры, нарушают функции гемоглобина и вследствие этого приводят к заболеваниям людей – носителей соответствующих аномалий.

β -талассемии могут быть связаны как с делециями, так и с точковыми мутациями, подавляющими или полностью прекращающими синтез полипептида. К этой же категории относятся более сложные перестройки.

Мутации – вставки или выпадения вблизи терминаторного кодона в пределах генов для α - и β -цепи – приводят к появлению более длинных, чем в норме, соответственно α - и β -цепей глобина, поскольку естественные кодоны-терминаторы (в обоих случаях UAA) оказываются «не в фазе» и трансляция иРНК продолжается дальше, пока рибосома не встречает новый кодон-нонсенс. Это, в частности, гемоглобин Констант Спринг (HbCS), содержащий 31 лишний аминокислотный остаток в α -цепи, и некоторые другие формы.

Серповидно - клеточность встречается главным образом среди населения стран побережья Средиземноморья, Тропической Африки. В этих странах распространена тропическая малярия. S-ген гемоглобина оказывает защитное действие (в гетерозиготном состоянии) против тропической малярии.

210. Какие наследственные болезни связаны с дефектами репарации?

С дефектами системы репарации связаны некоторые наследственные болезни человека. Наиболее подробно изучены формы *пигментной ксеродермы* – рецессивный аутосомный дефект эксцизионной репарации и самой репаративной ДНК-полимеразы. На основе гибридизации соматических клеток установлено не менее шести групп комплементации, по-видимому, соответствующих самостоятельным генам, контролирующим репарацию. Больные пигментной ксеродермой проявляют повышенную чувствительность к действию солнечного света, у них развивается рак кожи.

Дефекты систем репарации выявлены и при других наследственных заболеваниях. При *анемии Фенкони* дефектен этап вырезания поврежденного участка из молекулы ДНК (нарушен синтез экзонуклеазы). В случае *атаксии – телеангиэктазии (синдром Луи Бар)* также повреждены системы репарации, что выражается в повышении чувствительности клеток больных к действию излучений и химических мутагенов, резко увеличивающих в них частоту хромосомных aberrаций, имеющую высокий спонтанный уровень (около 7.5% для лимфоцитов периферической крови). При радиотерапии таких больных наблюдаются осложнения иногда со смертельным исходом. Механизмы репарации нарушены и в случае *прогерии*, или *преждевременного старения*, и *синдрома Блюма*.

211. Какие наследственные болезни возникают в связи с изменением числа и структуры половых хромосом?

Количественные хромосомные aberrации возникают в результате нерасхождения хромосом, что приводит к их нерав-

номерному распределению по дочерним клеткам. В результате формируются гаметы с аномальным числом хромосом (содержащие сразу две или ни одной хромосомы). При оплодотворении таких гамет нормальными гаплоидными спермиями получаются трисомии и моносомии, соответственно (табл. 8).

Наиболее часто встречается анеуплоидия с утратой или прибавлением к гаплоидному набору одной хромосомы. Моносомия по X-хромосоме у человека (45X) приводит к синдрому Шерешевского-Тернера.

Табл. 8. Нарушения у человека, связанные с различными типами анеуплоидии

Хромосомы	Синдром	Частота при рождении
<i>Половые хромосомы</i>		
XO моносомия	Шерешевского-Тернера	1:5000
XXX трисомия	Мета-женщины	1:700
XXXX тетрасомия		
XXXXX пентасомия		
<i>Половые хромосомы</i>		
XУ	Нормальные мужчины	
XYY трисомия	Клайнфельтера	1:1000
XXY трисомия		1:500
XXYY тетрасомия		
XXXY тетрасомия		
XXXXXY гексасомия		
<i>Аутосомы</i>		
Трисомия 21	Дауна	1:700
Трисомия 13	Патау	1:5000
Трисомия 18	Эдвардса	1:10000

Поскольку у человека Y-хромосома играет определяющую пол роль, индивидуумы XO-женщины, однако с нарушениями в развитии первичных и вторичных половых признаков.

Вторая X-хромосома необходима для нормальной дифференцировки гонад по женскому типу. У больных не обнаруживается половой хроматин.

Клинически синдром Шерешевского-Тернера представлен многообразными симптомами. Это женщины низкого роста (130-145 см) с отклонениями в половом развитии и патологией внутренних органов.

Большинство женщин – трисомиков с кариотипом 47, XXX нормальны в умственном и физическом отношении, плодовиты и не обнаруживают отклонений в половом развитии. Вместе с тем у ряда женщин с X-трисомией описаны те или иные изменения в половой системе. С увеличением числа X-хромосом увеличивается частота отклонений от нормы: умственная неполноценность, аномалии зубов, нарушения формы черепа, изменения других частей скелета, нарушение системы половых органов.

Различные комбинации X- и Y-хромосом при полисомии по половым хромосомам, кроме XY₂, объединяют под общим названием синдрома Клайнфельтера. Y-хромосома определяет мужской пол, и мальчики до периода полового созревания мало отличаются от детей с нормальным кариотипом 46, XY. В дальнейшем наблюдается недоразвитие мужских половых признаков, прежде всего гонад, что влечёт за собой недоразвитие мужских вторичных половых признаков. Больные обычно высокорослые, но с женским типом скелета и с проявлением некоторых женских вторичных половых признаков (характер волосяного покрова, гинекомастия). В клетках больных с синдромом Клайнфельтера идентифицируется половой хроматин.

Больные с болезнью Клайнфельтера страдают дебильностью разной степени выраженности. Болезнь может сочетаться с атрофической миотонией, мозжечковой атаксией, болезнью Дауна.

212. Какие наследственные болезни возникают у человека в результате анеуплоидии?

Хромосомные болезни в большинстве случаев не наследуются. Нарушения числа или структуры хромосом возникают

в гаметогенезе родителей. Наследственными болезнями их можно считать потому, что они обусловлены явной патологией генетического аппарата.

Практически все случаи полиплоидии, анеуплоидии и мозаицизма – это вновь возникшие мутации. Что касается структурных перестроек хромосом, то вновь возникшие из них составляют около половины мутаций являющихся причиной выкидышей и мертворождения, остальные унаследованы от родителей.

У человека известны все типы хромосомных и геномных мутаций, включая полиплоидию. Описаны редкие триплоиды и тетраплоиды в основном среди спонтанно абортированных эмбрионов или плодов и среди мертворожденных. Новорожденные с такими нарушениями живут несколько дней. Редки среди живорожденных и моносомии по аутосомам. Описаны моносомии по 21-й и 22-й хромосомам. Обычно это мозаичные организмы со значительной долей нормальных клеток. Любые хромосомные перестройки приводят к развитию патологического состояния.

Из числа аутосомных болезней наиболее подробно изучена трисомия по 21-й хромосоме, или синдром Дауна. Его хромосомная природа было установлена Ж. Леженом и др. в 1959 г. Типичные признаки больных с трисомией 21 – широкая переносица, широкое расстояние между ноздрями, раскосые глаза с характерной складкой века – эпикантом. Больные обнаруживают умственную отсталость. Около половины больных имеют порок сердца и крупных сосудов. Самая опасная черта болезни Дауна – ее высокая частота. Неоднократно отмечено, что частота новорожденных с синдромом Дауна увеличивается с возрастом матери. 22-40% детей с синдромом Дауна рожают матери старше 40 лет, составляющие 2-3% женщин детородного возраста.

Вследствие пониженного иммунитета больные с синдромом Дауна рано умирают, поэтому они практически не встречаются среди взрослых людей.

Синдром Дауна может быть также связан с тем, что один из родителей несет транслокацию 14/21 (рис. 17). У носителей такой транслокации хромосома 21 группы G транслоцирована

на хромосому 14 группы D. Анализ этой транслокации позволяет понять, почему в кариотипе с семейным синдромом Дауна и фенотипом, типичным для трисомии по хромосоме 21, содержится 46 хромосом.

Очевидно, что жизнеспособность моносомиков и трисомиков у человека понижена. Носители синдрома Патау (47, 13+) или синдрома Эдвардса (47, 18+) страдают тяжелыми аномалиями и умирают сразу после рождения. Большинство трисомий летально еще на ранних этапах эмбриогенеза. Согласно статистике не менее 15-20% зачатий кончается спонтанными абортами.

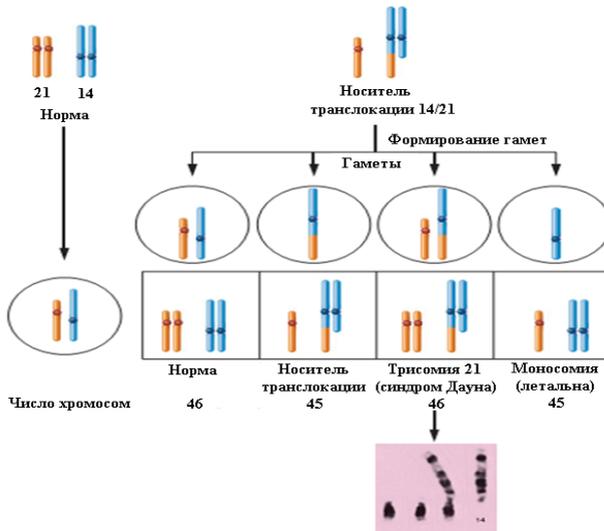


Рис. 17. Транслокация при семейном синдроме Дауна. На фотографии показана хромосома с транслокацией 14/21, две хромосомы 21 (слева) и хромосома 14 (справа), полученные пробандом от родителей.

213. Существуют ли болезни человека, связанные с дефектами митохондриальной ДНК?

Имеется ряд болезней человека, возникающих вследствие мутаций в митохондриальной ДНК. Эти болезни наследуются по материнской линии.

У человека размер митохондриального генома составляет 16,6 т.п.н. (тысяч пар нуклеотидов), что необходимо для кодирования 13 полипептидных цепей, 22 молекул тРНК и 2 молекул рРНК. Тем не менее, в митохондриях присутствуют сотни белков, многие из которых кодируются ядерными генами. Несмотря на малый размер, митохондриальный геном необходим для нормального метаболизма почти во всех клетках, и множество способов, какими могут быть нарушены функции митохондрий, составляют значительную долю генетических болезней человека.

Примером генетической болезни, вызываемой миссенс-мутацией в белке, кодируемой мтДНК, является наследственная зрительная нейропатия. Более чем в 50% случаев заболеваний происходит транзиция G→A в положении 11778 п.н. В результате этой мутации аргинин в положении 340 белка ND4 заменяется на гистидин. Гибель оптического нерва является следствием дефектов окислительного фосфорилирования.

Люди с синдромом Кернса-Сэйра обнаруживают энцефаломиопатию – заболевание мозга. Причиной заболевания являются делеции нескольких генов тРНК, необходимых для митохондриального синтеза белка.

Люди, болеющие миоклональной эпилепсией обнаруживают слабоумие, глухоту и апоплексические удары. Причиной болезни является замена одного нуклеотида в гене тРНК-лизин в позиции 8344 п.н.

В большинстве случаев болезней, связанных с дефектами мтДНК, клетки больных индивидуумов содержат смесь нормальных и мутантных митохондрий. Такое состояние называется гетероплазмией. Степень тяжести болезни коррелирует с относительным количеством мутантных митохондрий. По некоторым данным, частота встречаемости гетероплазмии может достигать 10% и даже 20%. Гетероплазмия была найдена в мтДНК из эксгумированных останков русского царя Николая II. В одном и том же сайте контрольного района находили цитозин, в другом – тимин. У родственников в данном сайте был

только тимин. Гетероплазмия была обнаружена у ныне живущих родственников по материнской линии.

Митохондриальная ДНК может мутировать раз в 10-20 чаще, чем ядерная ДНК, и причин этому может быть несколько, включая меньшую точность репликации и репарации мтДНК. Однако, наиболее реальным источником мутаций в мтДНК являются реактивные кислородные частицы, порождаемые в митохондриях как побочные продукты постоянно происходящего в них энергетического обмена.

214. В чем причина возникновения опухолей?

На возникновение опухолей, в основном, оказывают воздействие канцерогенные вещества, опухолеродные вирусы, рентгеновское и ультрафиолетовое облучение. Однако, основная часть опухолей возникает спонтанно, т.е. без видимой связи с индуцирующими агентами. Канцерогенные вещества являются причиной многих опухолей, например каменноугольный деготь и содержащийся в нем форболовый эфир (промотор канцерогенеза) вызывает так называемый «рак трубочистов», анилин вызывает у работников красильного производства рак мочевого пузыря, курение - рак легких.

Причиной возникновения опухолей могут быть опухолеродные вирусы. Это могут быть как ДНК-содержащие, так и РНК-содержащие ретровирусы. Первый опухолеродный вирус был открыт в 1910 г. П.Раусом у кур. Инъекции бесклеточного фильтрата из саркомы вызывали новые опухоли. Инфицирующим агентом является РНК-содержащий ретровирус (вирус саркомы Рауса), т.е. вирус на молекуле РНК которого с помощью обратной транскриптазы синтезируются ДНК, которая встраивается в геном клетки-хозяина. К основным причинам возникновения опухолей относятся также следующие:

1. Лучевой канцерогенез. Наиболее частыми при облучении организма являются лейкозы, т.е. формы злокачественных новообразований в кроветворной системе.
2. Особенности генотипа. Во многих случаях причиной возникновения опухолей являются мутации генов,

контролирующих нормальное клеточное деление. В настоящем показано, что рак является следствием нарушения на клеточном уровне.

3. Факторы среды увеличивают частоту мутаций. Фактически все, известные как средовые канцерогенные факторы (ионизирующие радиации, химические вещества и вирусы) являются мутагенами.
4. Изменения генома связанные с злокачественной трансформацией. Они включают геномные мутации, например нуклеотидные замены, крупные структурные перестройки, а также встройки в человеческий геном вирусных последовательностей.

215. Какие свойства характерны для злокачественной опухоли?

По статистике в мире ежегодно выявляют более 6 млн. случаев заболеваний раком, около половины которых погибает. В конечном счете каждый пятый житель развитых стран умирает от онкологических заболеваний (от греч. «онкос» - опухоль).

По данным Американского Онкологического Общества вероятность развития рака в течении всей жизни составляет 1/2 для мужчин и 1/3 для женщин.

В результате гиперплазии (увеличение массы клеток) могут возникнуть доброкачественные и злокачественные опухоли. Доброкачественная опухоль не выходит за пределы своей ткани, т.е. не инвазирует и не метастазирует. В отличии от нее злокачественная опухоль выходит за предел данной ткани. Связано это с тем, что в опухоль начинают вращать сосуды которые обеспечивают ее питанием и обеспечивают рост. Происходит инвазия (внедрение) опухолевых клеток в другие ткани. Если клетки отрываются от основного очага, то разносятся лимфой или кровью по организму, метастазируют, т.е. распространяются по всему организму. При числе клеток в опухоли 10^8 она становится видимой при рентгеновском обследовании, при 10^9 она пальпируется.

Смерть наступает когда опухоль достигает 10^{12} клеток и нарушает жизненно важные функции органов.

Опухоли проявляют автономность, т.е. если пересадить опухолевые клетки другому генетическому близкому здоровому организму, то она продолжает расти.

Другим свойством злокачественной опухоли является бессмертие ее клеток. Нормальные клетки смертны, т.е. их жизненный цикл включает запрограммированную смерть - апоптоз.

Обязательным свойством злокачественной опухоли является ее моноклональность. Злокачественная опухоль развивается из одной генетически измененной клетки.

216. Что такое онкогены? Какова роль протоонкогенов *c-onc* в превращении в онкогены?

Группа генов участвующих в регуляции клеточного цикла – это протоонкогены, которые в норме стимулируют деление клетки. Мутантные формы этих генов – онкогены индуцируют или поддерживают неконтролируемое размножение клеток. Все до сих пор известные продукты онкогенов влияют на экспрессию других генов.

Геномы нормальных клеток позвоночных содержат фрагменты ДНК похожие на входящий в состав вируса саркомы ген *src* Рауса, но неидентичны ему. Поэтому геномные и вирусные последовательности называют по разному. V-*src*-вирусные (онкогены) C-*src*-клеточные (протоонкогены). Позднее было найдено свыше 100 вирусных онкогенов и соответствующих им протоонкогенов.

Существует не менее трех механизмов, с помощью которых протоонкогены могут превращаться в онкогены: точечные мутации, транслокации и избыточная экспрессия.

Генное семейство *Ras* кодирует белки - рецепторы, которые играют ключевую роль в регуляции деления и роста клеток. Более 30 % всех опухолей человека несут мутантный онкоген *Ras*. Сравнение аминокислотных последовательностей белков *Ras* из различных карцином человека показало, что мута-

ции *Ras* в этих опухолях приводят к единичным аминокислотным заменам в цепи белка. Из-за этих замен белок *Ras* переходит из неактивного состояния в активное и постоянно остается в «включенном» состоянии передавая сигнал, стимулирующий деление клетки.

Один их хорошо изученных примеров возникновения онкогена путем транслокации является ген *c-abl*, связанный с хроническом миелоидным лейкозом.

Как минимум, три разных механизма превращения протоонкогена в онкоген связаны с их сверхэкспрессией; протоонкогены могут приобрести новый промотор, суперэкспрессия может быть связанная с приобретением протоонкогенами других регуляторных генов, в том числе энхансеров, а также механизм, связанный с амплификацией протоонкогенов.

Некоторые опухолевые вирусы сами по себе не содержат онкогена, встраиваясь в хромосому рядом с протоонкогеном, активируют его, вызывая непрерывную экспрессию - это «вставочный» канцерогенез.

217. Какую роль выполняют гены-супрессоры опухолей?

Существуют гены утрата или подавление активности которых приводит к развитию опухолей. Эти гены были названы антионкогенными или генами - супрессорами опухолей (ГСО). Примерно один из 20 000 детей имеет предрасположенность к ретинобластоме (*Rb*)-опухоль, возникающей из клеток сетчатки глаза. Ген ретинобластомы локализован на хромосоме 13 и кодирует белок pRb. Ген активно функционирует в большинстве нормальных клеток тела и играет важную роль в регуляции клеточного цикла. Функционирование гена *Rb* непосредственно связано с контролем продвижения клетки в митотическом цикле. Он действует как молекулярный переключатель, контролирующий прохождение точки G1/S. Для нормальной функции клетки pRb инактивируется фосфорилированием и связывается с комплексом DP1/E2F (фактор транскрипции) который постоянно активирует гены, ответственные за переход в S-фазу. Если гены *Rb* в клетке находятся в мутантном состоянии, белок pRb не активен. Он не

связывается с комплексом DP1\E2F. В результате деление клеток идет значительно чаще и формируется опухоль. Другой ген-супрессор опухолей *p53*, также связан с развитием рака у человека. Известно, что *p53* кодирует ядерный белок, который функционирует как фактор транскрипции. Мутации гена *p53* обнаруживаются при многих видах рака. По существующим оценкам 50-60% всех случаев рака связаны с мутациями гена *p53*.

В норме белок *p53* содержится в клетках в низкой концентрации и в неактивной, быстро деградирующей форме. При поступлении в клетку определенных сигналов повреждения ДНК концентрация *p53* повышается. Активация белка *p53* имеет несколько последствий; в их числе репарацию ДНК, остановку клеточного цикла и апоптоз. Это происходит из-за активации генов-мишеней, на которые *p53* действует как транскрипционный фактор. Известно свыше 20 таких генов. При отсутствии функционального *p53* белка в клетках с поврежденной ДНК не происходит остановки клеточного цикла в G1. Такие клетки не завершают репарацию ДНК и часто мутируют. Поэтому ген *p53* часто называют «стражем генома». Центральная роль гена *p53* в контроле клеточного цикла подчеркивает тесную связь между раком и клеточным циклом, а также между генами, регулирующими клеточный рост и генами вызывающими развитие опухолей.

218. Для чего существует контроль клеточного цикла?

Согласно современным представлениям, клеточный цикл контролируется в двух «проверочных пунктах» - между периодами G1\S и G2\M. В обеих точках делается выбор между продолжением или остановкой клеточного цикла. Такой выбор контролируется путем взаимодействия между двумя классами белков: ферментов-протеинкиназ (СДК) и циклинов. В результате объединения молекул протеинкиназы и циклина образуется регуляторная молекула, контролирующая прохождение фаз клеточного цикла.

Мутации, нарушающие любой этап регуляции клеточного цикла могут быть причиной возникновения рака. Это могут

быть мутации генов, кодирующих СДК и циклины, либо мутации генов, кодирующих белки-мишени. Существуют данные о том, что во всех формах опухолевых клеток нарушен контроль прохождения границы G1/S. Гены кодирующие СДК и циклины, являются основными кандидатами на роль генов, отвечающих за злокачественную трансформацию.

В целом клеточный цикл контролируется генами, которые в норме подавляют деление клетки и генами которые в норме стимулируют клеточное деление. Первая группа регуляторных генов - это гены - супрессоры опухолей, которые останавливают прохождение клеточного цикла и блокируют митотическое деление клетки. Если гены-супрессоры мутируют, то контроль за делением утрачивается, и мутантная клетка начинает неограниченно размножаться.

Гены в норме стимулирующие деление клеток называются протоонкогенами. Эти гены могут быть «включенными» или «выключенными». Если эти гены остаются постоянно «включенными» клеточное деление становится неконтролируемым, что может привести к развитию опухоли. Мутантные формы протоонкогенов называются онкогенами.

219. Что такое «гены предрасположенности»?

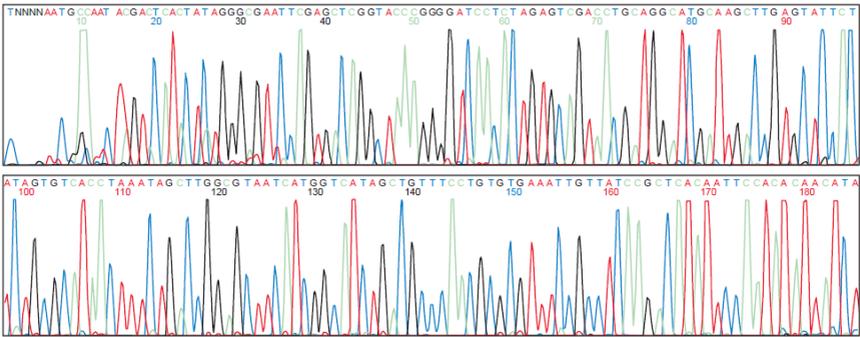
Гены предрасположенности - это мутантные аллели, которые совместимы с рождением и жизнью в перинатальном периоде, но при определенных неблагоприятных условиях могут способствовать развитию того или иного заболевания. В зависимости от природы провоцирующего фактора их относят к генам «внешней среды», либо к генам-триггерам запускающим патологический процесс при сочетании каких-либо неблагоприятных факторов. В отличие от моногенных болезней для возникновения которых достаточно мутации в одном гене, эти заболевания принадлежат к группе мультифакториальных болезней в появлении которых повинны как генетические, так и экзогенные факторы.

В настоящее время известно уже более 200 «генов внешней среды». Для многих из них выявлены генетические полиморфизмы, влияющие на функциональную активность их аллелей. Гены имеющие такие аллели можно рассматривать как «гены предрасположенности» к тем или иным заболеваниям. Так например, неполноценная аллель *GSTM* глутатион-S-трансферазы (*GSTH*), имеющая протяженную делецию, характерна для больных раком легких, хроническом бронхитом, раком мочевого пузыря, эндометриозом. Ген ответственный за синтез – ацетилтрансферазы при нарушении фазы 2 детоксикации может способствовать возникновению рака молочной железы, лица гомозиготные по «медленной» форме микосомальной эпоксид-гидролазы (*mEPOX*) чаще болеют хроническом бронхитом, эмфиземой легких, астмой.

Подобным образом нарушения происходящие в генах-триггерах *MTHFR*, способствуют возникновению десятков болезней. Например, мутации в гене метилентетрагидрофолатредуктазы способствуют возникновению атеросклероза, *ACE* - инфаркта миокарда, *CC16* астмы и т.д.

Благодаря идентификации генов предрасположенности и носителей мутантных аллелей стала возможной досимптоматическая диагностика многих болезней.

БИОТЕХНОЛОГИЯ – ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ



220. Каковы результаты опытов по трансгенезу?

К генетической инженерии относятся манипуляции по направленному изменению генетической информации клетки или организма. Их можно разделить на две главные категории. Одна из них – трансгенез, т.е. экспериментальный перенос выделенных из генома или искусственно синтезированных генов в другой геном; такие работы составляют большинство. К другой категории относится экспериментальный перенос выделенных из клетки хромосом в другую клетку или экспериментальное соединение в одной клетке разных геномов.

Трансгенез состоит из трех основных последовательно выполняемых операций. Сначала выделяют или синтезируют ген или гены, подлежащие переносу. Затем этот ген или гены включают в вектор и вводят в клетку – реципиент.

Примером трансгенеза может служить рекомбинация, одна из которых несла ген устойчивости к тетрациклину, а другая – к стрептомицину. Полученная рекомбинантная плаزمиды имела оба эти гена, и когда ее ввели в кишечную палочку, то придали ей устойчивость к обоим антибиотикам.

Ряд работ посвящен переносу генов из бактерии в бактерию, из азотфиксирующей бактерии группа генов, определяю-

щих это ее свойство, была перенесена в кишечную палочку, после чего кишечная палочка приобрела способность фиксировать атмосферный азот. Методы генетической инженерии уже используются для производства вакцин против вирусных болезней.

Важные результаты дали опыты по переносу векторными молекулами генов эукариотов в клетки бактерий. В кишечную палочку были введены гены гистонов морского ежа, гены рибосомных РНК шпорцевой лягушки и дрозофилы, многие другие гены дрозофилы, структурный ген глобина кролика, гены инсулина крысы, мыши и человека, гены митохондриальной ДНК мыши и ряда других организмов. Особенно важное значение имеет, введение генов эукариотов в бактерии и использование для микробиологического синтеза биологически – активных веществ, продуцируемых в малом количестве и извлекаемых с большим трудом. Кодированный соматостатин ген был синтезирован вне организма и состыкован со встроенным в плазмиду бактериальным геном бета-галактозидазы, в том числе и с регуляторными элементами соответствующего оперона. Реконструированные плазмиды затем ввели в клетки кишечной палочки и после размножения этих бактерий из них было выделено 5 мг соматостатина (для получения такого количества этого гормона из гипоталамуса пришлось бы переработать 500 тысяч бараньих мозгов).

Близкими в принципе генетико-инженерными методами были синтезированы и введены в клетки кишечной палочки гены, кодирующие синтез ряда лекарственных препаратов, человеческого интерферона, брадихинина, ангиотензина, эндорфина, гормона роста человека и т.д. Производство некоторых из этих веществ дорого и сложно, например, гормон роста человека получают из трупных гипофизов, где он содержится в таком ничтожном количестве, что для лечения одного ребенка требуется использовать гипофизы тысяч покойников. В настоящее время генетическая инженерия открыла новые пути для про-

стого и высокоэффективного микробиологического производства этих препаратов.

221. Какие генетически – инженерные работы осуществляются на уровне хромосом и геномов?

Область цитогенетики, где решаются проблемы переноса целых хромосом, а также их частей получила название хромосомной инженерии. Методы и подходы хромосомной инженерии уже сравнительно давно успешно разрабатываются на растениях – удобном для этих целей объекте. Перенос из одного генома в другой хромосом или их частей, является более масштабной реорганизацией геномов. В данном случае речь идет не об отдельных продуктах перенесенных генов, а о получении организмов, сочетающих многие признаки разных видов.

У растений сравнительно давно получены организмы, сочетающие геномы разных родов. Удалось совместить геномы пшеницы и ржи и получить в процессе гибридизации с последующим удвоением у гибридов хромосом, новый искусственный вид злаковых – тритикале. Хромосомная инженерия имеет огромные перспективы в отношении растений, а также животных.

Относимые к генетической инженерии работы по экспериментальному переносу хромосом из одной клетки в другую и по соединению в клетке разных геномов тесно смыкаются с проводимыми с этой же целью работами, проводимыми с помощью обычных генетических методов (напомним перенос отдельных хромосом и их частей при гибридизации растений, использование транслокаций для регулирования пола у шелкопряда, пересадку соматических ядер в яйцеклетку, из которой удалено ядро, получение аллофенных животных и т.п.). Поэтому разграничение этих двух типов работ до известной степени условно.

В ряде исследований, проведенных на культурах клеток животных, установлено, что выделенные из клетки метафазные хромосомы могут внедряться в другую клетку путем пиноцито-

за и, таким образом, передавать гены клетки-донора в клетку-реципиент. Метод пересадки ядер соматических клеток в энуклеированные яйцеклетки перспективен для животноводства.

222. Какую роль сыграло создание молекул рекомбинантной ДНК в развитии генной инженерии?

Метод рекомбинантных ДНК основан, на использовании ферментов, которые могут специфически расщеплять и вновь сшивать молекулы ДНК. Вновь образованные таким образом молекулы ДНК могут быть перенесены в клетки хозяина, где в результате процесса репликации образуется множество копий рекомбинантной ДНК.

С развитием технологии рекомбинантных ДНК произошло бурное развитие молекулярной биологии: были разработаны новые методы для картирования генов, диагностики заболеваний, стало возможным коммерческое производство белковых продуктов генов человека, перенос генов между определенными видами растений и животных.

В 1970 году учеными была разработана технология, позволяющая создавать рекомбинантные молекулы ДНК, возникла новая наука - генная инженерия. Ее основные направления – создание трансгенных растений и животных, разработка принципов генной терапии.

В задачу генетической инженерии входит решение трех основных проблем: конструирование рекомбинантных ДНК, пригодных для переноса в другие клетки; разработка методов введения рекомбинантных ДНК в клетку, создание нормальных условий для экспрессии этих генов.

Технологии, возникшие на основе методов молекулярной генетики, используются в самых различных областях: в производстве ценных биологически активных веществ, для диагностики наследственных заболеваний у человека и животных, получении штаммов микроорганизмов, трансгенных растений и животных с заданными свойствами, клонировании це-

лых организмов, органов или отдельных клеток, криминалогии и этнографии.

Исследования в области генетической инженерии оказались весьма плодотворными в познавательном отношении. С ее помощью изучают строение различных геномов, отдельных генов и кодируемых ими продуктов. Генная инженерия помогла раскрыть экзон-интронную организацию эукариотических генов, позволила понять суть явления непостоянства генома, связанного с присутствием мигрирующих генетических элементов у прокариот и эукариот, открыла принципиально новые возможности для изучения молекулярных основ онтогенеза, наследственных заболеваний.

223. Как создаются рекомбинантные ДНК?

Рекомбинантная ДНК – это заново возникшая комбинация молекул ДНК, которая ранее не существовала в природе. И хотя, в результате таких естественных процессов, как, например кроссинговер, образуются новые сочетания молекул ДНК, термин «рекомбинантная ДНК» принято использовать, когда речь идет об искусственно соединенных друг с другом молекулах ДНК из различных биологических источников.

Метод рекомбинантных ДНК основан на совокупности методов биохимии нуклеиновых кислот и генетических методов, разработанных ранее для изучения бактерий и вирусов. Применение технологии рекомбинантных ДНК позволяет получать неограниченное число копий интересующего фрагмента ДНК.

Существуют различные модификации методов, применяемых в технологии рекомбинантных ДНК, однако в основе всех методов, лежит следующее:

1. Выделение и очистка ДНК из клеток или тканей.
2. Обработка ДНК ферментами, называемыми эндонуклеазами рестрикции или ферментами рестрикции (рестриктазами). Эндонуклеазы рестрикции катализируют

- специфическое расщепление двунитевой молекулы ДНК на фрагменты.
3. Соединение фрагментов ДНК, образованных после рестрикции с фрагментами других молекул ДНК, называемых «векторами» (молекулами - переносчиками). Вектор, несущий интегрированный фрагмент ДНК, и является рекомбинантной молекулой ДНК.
 4. Перенос рекомбинантной молекулы ДНК в клетки хозяина. Внутри клеток хозяина происходит репликация рекомбинантной молекулы ДНК, и образуются десятки ее идентичных копий – клонов.
 5. В процессе деления клеток хозяина реплицированные рекомбинантные молекулы ДНК, находящиеся внутри клеток, передаются дочерним клеткам, образуя новую клеточную популяцию, несущую копии рекомбинантных молекул ДНК.
 6. Выделение, очистка и анализ клонированной ДНК.
 7. Транскрипция клонированной ДНК, трансляция иРНК, получение и очистка белкового продукта и его дальнейшее использование в научных или коммерческих целях.

224. Как встраивается чужеродная ДНК в геном другого организма?

В качестве реципиентов в геном которых встраиваются чужеродные гены можно использовать клетки культуры, эмбриональные клетки млекопитающих, некоторых растений, дрозофилы, пронуклеусы млекопитающих, у растений - протопласты, изолированные клетки и ткани, микроспоры, незрелые зиготические зародыши.

Существуют многочисленные методы, с помощью которых можно внедрить чужеродную ДНК в геном того или иного организма:

Микроинъекция. С помощью тонких стеклянных микропипеток (0.1-0.5 мкм) и микроманипулятора можно в ядро

клетки млекопитающих ввести векторную ДНК с включенным в нее трансгеном. Эффективность такой трансформации достигает 50%. Для микроинъекцией в клетки растений используются микроиглы с диаметром 2 мкм. Трансформация растительных клеток происходит с эффективностью 10-20%.

Электропорация. Метод основан на том, что импульсы высокого напряжения увеличивают проницаемость биомембран. Через образующиеся за короткое время поры, ДНК проникает в клетку.

Трансфекция. Это встраивание чужеродной ДНК в культивируемые эукариотические клетки в результате обработки их изолированной ДНК. Большая часть проникших в клетку молекул, встраивается в хромосомную ДНК.

Упаковка в липосомы. Липосомы – это сферические образования, внутри которой располагается трансформирующая ДНК. Липосомы захватываются клетками и ДНК попадает внутрь.

Бомбардировка микрочастицами. Для бомбардировки используют частицы золота или вольфрама размером 0.6-3 мкм, на которые наносятся ДНК вектора, содержащего необходимый для трансформирования трансген. Этими частицами заряжают «генные пушки», после выстрелов, из которых частицы содержащие гены проникают в клетки и ядра.

225. Какие ферменты и векторы используются для клонирования ДНК?

Важным классом ферментов, используемых в методе рекомбинантных ДНК, являются эндонуклеазы рестрикции. Эти ферменты были выделены из различных бактерий и названы так, потому что их функциональная роль - разрушение чужеродной вирусной ДНК и, следовательно, ограничение (рестрикция) развития вирусной инфекции у бактерий. Ферменты рестрикции узнают специфические последовательности ДНК (сайты рестрикции) и расщепляют в этом месте обо цепи молекулы ДНК. В 1978 г. Вернер Арбер, Гамильтон Смит и Даниэл Натанс получили Но-

белевскую премию за открытие ферментов рестрикции и их применение в молекулярной генетике. В настоящем, известно более 200 эндонуклеаз рестрикции. В методе клонирования используют способность эндонуклеаз обратимо разрезать молекулу ДНК, образуя специфические фрагменты.

Для дальнейшего клонирования фрагменты ДНК, образованные в результате рестрикционного гидролиза, не могут быть прямо помещены в клетки хозяина. Чтобы перенести фрагменты ДНК в клетки, их нужно предварительно соединить с молекулой – переносчиком, называемой вектором. Вектор – это кольцевая молекула ДНК, обладающая определенными свойствами.

В методике клонирования используют различные векторы, в том числе, и векторы созданные на основе плазмид или бактериофагов. Векторы переносят клонируемые фрагменты ДНК.

Первые векторы были созданы на основе плазмид, они многообразны и широко используются в методах клонирования, однако непригодны для клонирования больших фрагментов ДНК. Сегодня существует множество генетически созданных векторов, использование которых позволяет легко идентифицировать клетки, несущие плазмиду с интересующим фрагментом ДНК.

Обычно, в векторы, созданные на основе плазмид, можно ввести до 25 т.п.н. чужеродной ДНК. Однако для многих экспериментов необходимо включить в вектор большие фрагменты ДНК. Для этих целей в качестве векторов используют генетически модифицированные штаммы бактериального вируса лямбда (фаг лямбда). Векторы на основе фага лямбда могут содержать ДНК – фрагменты размером почти 45 т.п.н., что в два раза больше размеров фрагментов, которые можно включить в плазмидный вектор. Поэтому при клонировании полноразмерных геномов организмов, удобнее использовать в качестве вектора фаг λ .

Для переноса фрагментов ДНК вырезается участок ДНК вируса между левым и правым плечом, не влияющий на репликацию фага. Между двумя плечами помещается или упаковывается клонируемый фрагмент ДНК.

226. Какие клеточные культуры используют для клонирования ДНК?

Чтобы получить копии ДНК – фрагментов необходимо перенести рекомбинантные молекулы в клетки хозяина, где и будет происходить их репликация.

Первый, и широко используемый метод клонирования, основан на применении клеточных культур в качестве клеток хозяина. В качестве клеток хозяина используют различные прокариотические и эукариотические клетки для репликации в них рекомбинантных молекул. Одна из наиболее широко используемых для этих целей клеточных культур – это лабораторный штамм бактерий *E.coli* – штамм K12.

Для клонирования ДНК в качестве эукариотических организмов используются дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Дрожжи являются удобным объектом для проведения генно-инженерных исследований.

Дрожжи – это эукариотические организмы, их можно выращивать и проводить лабораторные исследования так же, как с бактериальными клетками. В результате интенсивных исследований была создана генетическая карта дрожжей и база данных по мутациям. Полностью определена последовательность всего генома дрожжей и проведена идентификация большинства генов этого организма.

Дрожжевые клетки используются для изучения функции некоторых белков: поверхностного вируса гепатита В, белка малярийного паразита, инсулина, эпидермального фактора роста, тромбоцитарного фактора роста, альфа1 – антитрипсина, фактора свертывания крови VIII А.

227. Как создаются геномные библиотеки? Что такое банк генов?

Набор ДНК-клонов полученный из одного индивидуального источника называется библиотекой клонов. Эти библиотеки могут представлять целый геном, одну хромосому или ряд генов, экспрессирующихся в одном типе клеток. В геномной библиотеке организма должно содержаться хотя бы по одному из генов составляющих геном. Получение геномных библиотек включает несколько этапов: выделение ДНК из клеток или тканей, фрагментацию ее с помощью рестриктаз, присоединение полученных фрагментов к векторным молекулам и введение рекомбинантной ДНК в реципиентные бактерии. Первую геномную библиотеку создали Т. Маниатис с сотрудниками в 1978 г. Они использовали ДНК из генома *D.melanogaster*, которую клонировали в клетках *E.coli*.

Для клонирования ДНК можно использовать иРНК. С использованием фермента обратной транскриптазы на основе иРНК получают кДНК (комплементарная ДНК), которая может клонироваться в плазмидный или фаговый вектор.

Создание геномных библиотек или банков генов отдельных организмов, резко облегчает стратегию поиска индивидуальных генов, исследование их структуры и функции. Эта техника позволяет получить набор клонов бактерий или гибридных фагов, различающихся по включенным фрагментам ДНК. Необходимые исследователю гены отбирают из таких банков с помощью специально разработанных генетических, биохимических, радиоизотопных и иммунологических методов. Уже в 1974 г. Д. Хогнесс с сотрудниками создали банк генов *D.melanogaster* в клетках *E.coli*, а затем и многих других организмов, включая человека. Последнее открывает реальные перспективы для генотерапии наследственных заболеваний человека с целью исправления генетических дефектов.

228. Каковы основные направления в биотехнологии растений?

Основные направления в биотехнологии растений сводятся к тому, чтобы получить формы устойчивые к гербицидам, патогенным грибам и вредным насекомым, с ускоренным ростом, продолжительностью хранения плодов, улучшением их качества и увеличением количества. В настоящее время трансгенные растения возделываются на десятках миллионов гектаров. Самые распространенные из них – соя, кукуруза, масличный рапс и хлопок. В некоторых странах выращиваются трансгенные помидоры, рис, кабачки. Эксперименты проводятся на подсолнечнике, сахарной свекле, табаке, винограде и т.д.

Улучшение растений путем трансгенеза идет по следующим направлениям. Наиболее успешно решается проблема устойчивости к гербицидам, что важно для борьбы с сорняками. В настоящем, получены и используются гербицидоустойчивые сорта хлопчатника, кукурузы, рапса, сои, сахарной свеклы, пшеницы и других.

Устойчивость растений к насекомым вредителям – еще одна проблема, успешно решаемая благодаря внедрению трансгенных растений. Большая часть работ по этой проблеме посвящена белку дельта-эндотоксину, продуцируемому разными штаммами бактерий *Bacillus turingensis*. Этот белок токсичен для многих видов насекомых и безопасен для млекопитающих, в том числе для человека. У бактерий выделены гены, контролирующие синтез дельта-эндотоксина, которые включены в специальные генетические конструкции и перенесены в геном растений. В чужом для них геноме гены начали нормально функционировать и производить токсин, который при поедании растений насекомыми приводит к лизису у них клеток кишечника и гибели.

Для обеспечения устойчивости растений к вирусным заболеваниям в геном растительной клетки вводятся гены, синтезирующие противовирусные агенты, например интерферон,

нуклеазы и т.д. Получены трансгенные растения табака и люцерны с геном бета-интерферона человека.

Одним из первых коммерческих продуктов генетической инженерии растений стали трансгенные томаты с практически неограниченным сроком хранения. Очень перспективными являются исследования, направленные на получение через трансгенные растения белков, антител, вакцин и других уникальных компонентов животного происхождения для медицины и ветеринарии. В этих случаях в растительной геном встраиваются гены человека или животных, контролирующие синтез необходимых для медицины белковых компонентов.

229. С какой целью создаются трансгенные животные?

В 1986 г. группой Дж. Гердона было показано, что, гены инъекированные в пронуклеус оплодотворенного яйца мыши, встраиваются в хромосомы всех клеток. В 1985 г. ряд генов был перенесен сельскохозяйственным животным (кроликам, свиньям и овцам). Трансгенные млекопитающие являются лучшей моделью для изучения болезней человека, а также используются для производства необходимых человеку биомедицинских препаратов и белков.

В настоящее время разрабатываются следующие вопросы:

1. изучение возможностей замены генов и целых частей хромосом.
2. замена онкогенов.
3. инсерции генов ростовых гормонов
4. перенос генов в клетки животных, из которых будут формироваться донорские органы для человека

Для продукции рекомбинантных белков первого поколения используются бактерии, несмотря на то что синтезированные в них эукариотические белки имеют ряд недостатков. Для преодоления этих сложностей и увеличения выхода белков используются клетки эукариот.

С дефицитом фермента альфа-1-антитрипсин связана наследственная форма эмфиземы, прогрессирующей смертельной болезни легких. Для продукции альфа-1-антитрипсина с помощью генной инженерии человеческий ген был клонирован в вектор рядом с промотором гена овцы, регулирующим экспрессию белков молока. Гены, находящиеся под этим промотором, экспрессируются только в ткани молочной железы. Этот гибридный ген был введен в оплодотворенные *in vitro* зиготы овцы.

Затем зиготы имплантировали в матки суррогатных матерей. В результате были получены нормально развивающиеся трансгенные овцы, которые после окота давали молоко, с высокой концентрацией человеческого альфа-1-антитрипсина (35 г/л).

230. Как используется биотехнология микроорганизмов?

Несмотря на то, что человечество занимается биотехнологией микроорганизмов уже много веков, современная технология рекомбинантной ДНК начала развиваться недавно – примерно с середины 70-х годов.

В результате использования генно-инженерных методов изменилось содержание современной микробиологической промышленности: существенно повысилась продукция микроорганизмов; в результате введения в микробную клетку новых генов стало возможным выращивание их на другой питательной среде; микроорганизмы стали синтезировать не свойственные им вещества.

Первым генно-инженерным человеческим продуктом, разрешенным к терапевтическому использованию был человеческий инсулин. Инсулин – это белковый гормон, регулирующий углеводный обмен. Снижение продукции инсулина в организме приводит к диабету, которым страдают миллионы людей.

В настоящем, для терапевтического использования получены некоторые генно-инженерные белки, как например, гормоны роста человека, интерлейкин-2, фактор свертывания кро-

ви, гамма-интерферон, вакцина против гепатита В, эритропоэтин, интерферон.

Началом промышленной генной инженерии принято считать 1980 г., когда в США был выдан первый патент на штамм микроорганизмов, способных разлагать нефть.

231. В чем значение разработки новых вакцин?

В последние годы разработке вакцин стали уделять особое внимание. Это обусловлено тем, что до настоящего времени не удалось получить высокоэффективных вакцин для предупреждения многих опасных инфекционных заболеваний. В настоящее время отсутствуют эффективные вакцины против СПИДа, туберкулеза, малярии. Распространение микроорганизмов устойчивых к воздействию антибактериальных препаратов, приобрело характер экологической катастрофы и поставило под угрозу эффективность лечения многих тяжелых заболеваний. Повышенный интерес к вакцинам возник после того как была установлена роль патогенных микроорганизмов в развитии тех заболеваний, которые ранее считались не инфекционными. Например, гастриты, язва желудка и двенадцатиперстной кишки, злокачественные преобразования печени (вирусы гепатита В и С).

Одним из наиболее выгодных применений генной инженерии стало получение вакцин. Вакцины заставляют иммунную систему вырабатывать антитела против возбудителя заболевания и таким образом обеспечивают иммунитет к данному заболеванию. Обычно применяют инактивированные вакцины, полученные из убитого болезнетворного вируса или бактерий, утративших способность размножаться в организме человека и вызывать заболевание.

С помощью методов генной инженерии получен новый тип вакцин- так называемые субъединичные вакцины. Эти вакцины состоят из одного или более поверхностных белков вируса или бактерий. Эти белки действуют как антигены и стимулируют иммунную систему к производству антител против ви-

руса либо бактерий. Одной из первых разрешенных к применению субъединичных вакцин был поверхностный белок вируса гепатита В. Этот вирус вызывает повреждения печени, что приводит к циррозу и раку. Ген поверхностного белка вируса гепатита В встроили в экспрессируемый в дрожжах вектор, и белок получали из дрожжевых клеток. Белок выделяли, очищали и расфасовывали для использования в качестве вакцины.

В настоящее время применяют методы генной инженерии для получения поверхностного белка вируса гепатита В в культурных растениях. Идея заключается в использовании листьев или плодов растения как источника вводимой перорально вакцины. Производство вакцин растениями дает несколько преимуществ. Они дешевле, так как не нужно промышленного оборудования для их производства и очистки. Кроме того, эти вакцины не нужно вводить путем инъекции, и они будут особенно полезны для развивающихся стран, в которых медицинский сервис и снабжение трудно доступны.

В качестве модели использовали введение гена антигенной субъединицы из вакцины против вируса гепатита В в растения табака, где субъединица экспрессировалась в листьях для практического использования. В качестве вакцины подобный ген нужно ввести в пищевые растения, например злаки или овощи.

В недавних клинических испытаниях использовали трансгенные томаты, которые несли рекомбинантные бактериальные антигены. При потреблении добровольцами небольших количеств (50-100 г) этих томатов у людей вырабатывались антитела против антигена, что доказывает практическую применимость съедобных вакцин. Сейчас проводятся подобные испытания с использованием генно-инженерных бананов. Если эти испытания окажутся успешными, съедобные трансгенные растения скоро будут использоваться для вакцинации людей против многих болезней.

232. Как был создан проект «Геном человека»?

Проект «Геном человека» (The Human Genome Project, HGP) первоначально был создан как международная программа секвенирования более чем 3 млрд. п.н. гаплоидного генома человека. В США проект стартовал в 1990 г. как совместная программа Национального Института Здоровья (НИН) и Департамента Энергетики США. Другие страны, в первую очередь, Франция, Великобритания и Япония, приступили к работе над аналогичными проектами, которые в настоящее время координируются международной организацией, the Human Genome Organization (HUGO).

При планировании задачи полной расшифровки генома человека она была подразделена на ряд четко определенных стадий. Однако работа над всеми стадиями проекта продвигалась более или менее параллельно, с участием лабораторий всех стран.

В Проекте сначала использовался «метод клон за клоном» и были выделены следующие этапы:

1. Создание для каждой хромосомы человека генетических карт высокого разрешения с средним расстоянием между маркерами 2-5 сМ. Как известно, генетическая карта основывается на частотах кроссинговера и показывает порядок расположения генов в хромосоме и расстояние между ними. На этой стадии исследователи использовали идентифицированные гены, ПДРФ и другие маркеры для составления карт со средним расстоянием в 2 млн. п.н. между маркерами.
2. Составление физической карты каждой хромосомы. Физическая карта показывает порядок расположения маркеров и физическое расстояние между ними, выраженное в п.н. ДНК. Для составления этих карт было использовано несколько методов и около 30000 маркеров, расположенных через интервалы 100 т.п.н.
3. Создание набора перекрывающихся клонов для каждой хромосомы. На этой стадии использовали YAC (искус-

ственные хромосомы дрожжей) и другие клонируемые векторы высокой емкости для создания набора перекрывающихся клонов, полностью покрывающих все хромосомы. Исходно каждую хромосому подразделяли на несколько сегментов, затем выделяли и картировали клоны, перекрывающие каждый сегмент.

4. Секвенирование генома. Конечная цель проекта – определение полной нуклеотидной последовательности генома человека. Эта стадия стартовала в США в 1998 г. в шести центрах для усовершенствования технологий и начала широкомасштабного секвенирования. Сходные центры созданы в других странах.

233. Можно ли исправить генетический дефект при помощи генной инженерии?

Вмешательство медицины помогает больным с генетическими дефектами, однако говорить о полном излечении пока невозможно, поскольку причина болезни – изменение генетического материала.

Выяснение метаболических и молекулярных причин того или иного наследственного заболевания дает возможность компенсировать дефект гена используя генно-инженерные фармацевтические продукты.

При лечении гемофилии А требуется введение больному большого количества фактора VIII. Поскольку препарат получают из донорской крови, стоимость его очень высока. Применение методов генной инженерии позволило в этом случае приблизиться к решению проблемы. На основе знания части первичной структуры фактора VIII был синтезирован ДНК – зонд размером в 36 п.н. Ее использовали для поисков гена, кодирующего фактор VIII, в банке генов человека, полученном с помощью фага λ . Выделенный ген оказался рекордно большим, длиной 186000 п.н. Он содержит 26 экзонов и 25 интронов. Первичную структуру фактора VIII составляют 2332 аминокислотных остатка, которые остаются после того, как от его

предшественника отрезается 19 аминокислот, так называемого лидерного пептида, необходимого для секреции.

Из-за больших размеров гена для фактора VIII ни одна фаговая частица в банке генов не содержала его целиком.

Выделенный по частям и сшитый из кусков ген ввели в культивируемые клетки китайского хомячка, которые стали вырабатывать фактор VIII и выделять его в культуральную среду. Так был получен еще один препарат для медицинских целей методами генной инженерии.

На примере исследования гена, кодирующего фактор VIII, можно показать, как в настоящее время исследуется молекулярная природа наследственных изменений. Имея в распоряжении радиоактивную ДНК гена и смесь рестрикционных фрагментов геномной ДНК человека, страдающего гемофилией, можно провести электрофорез этой геномной ДНК и затем гибридизировать фрагменты с радиоактивным зондом. Если мутация затронула последовательность нуклеотидов какого-либо рестрикционного сайта, то картина распределения радиоактивных полос, выявляемых при электрофорезе, будет отличаться от той, которая получается для геномной ДНК здорового человека. Применяя этот метод, Р.Лон и Г.Вихар показали, что у разных больных – гемофиликов наблюдаются как точковые мутации – замены пар нуклеотидов, так и делеции различной длины.

Развитие генотерапии позволит заменять дефектные гены нормальными и тем самым устранять причину болезни, а не ее симптомы.

234. Для чего используется генная терапия?

Генная терапия – совокупность генно-инженерных (биотехнологических) и медицинских методов, направленных на внесение изменений в генетический аппарат соматических клеток человека в целях лечения заболеваний. Это новая и бурно развивающаяся область, ориентированная на исправление де-

фектов, вызванных мутациями в структуре ДНК или придания клеткам новых функций.

Первая успешная попытка применить генотерапию в клинической практике была предпринята в 1990 г. В США. Ребенку, страдающему тяжелым комбинированным иммунодефицитом (SCID) связанным с дефектом гена, кодирующим аденозиндезаминазу (АДА) была введена неповрежденная копия гена. В извлеченные у больного клетки (Т-лимфоциты крови) культивируемые в пробирке, при помощи ретровирусного вектора вводили неповрежденный ген аденозиндезаминазы и возвращали клетки больному. После лечения в 25-30% Т-клеток уровень АДА стал нормальным.

В 2000 г. испытания генной терапии при X-сцепленной форме SCID дали первые положительные результаты. В этих испытаниях в качестве вектора применили модифицированный вирус Молони и был достигнут более эффективный перенос нормального гена в клетки крови. Было проведено лечение двух пациентов в возрасте 8 и 11 месяцев. Через 10 месяцев после лечения их фенотип оказался полностью скорректирован, у них восстановилась функционирующая иммунная система.

Недавние испытания генной терапии с использованием вектора AAV привели к успеху в переносе нормального гена больным с гемофилией В, X-сцепленному нарушению свертываемости крови. В будущем планируется использовать более высокие дозы гена, и возможно, удастся полностью излечить больных гемофилией с помощью генной терапии. Генная терапия может использоваться не только для лечения наследственных генетических болезней. Сейчас проводятся клинические испытания генной терапии некоторых форм рака, инфекционных и сердечно-сосудистых заболеваний.

Другая группа болезней, для которой существуют хорошие перспективы изучения генно-инженерными методами – лизосомные болезни накопления.

Генотерапия теоретически может быть использована для лечения самых разнообразных заболеваний человека моноген-

ных, мультифакториальных, в том числе онкологических, инфекционных, дегенеративных, неврологических и т.д. За последние десятилетия утверждено более 400 клинических протоколов. Свыше 3000 пациентов лечились методами генной терапии. К настоящему времени картировано, более 1000 генов наследственных болезней, несколько сотен генов идентифицировано.

235. Как осуществляется искусственный синтез генов?

В современной генетике применяются два способа искусственного синтеза генов вне организма - химический и ферментативный.

Искусственный синтез гена был впервые осуществлен химическим путем в 1960 г. Кораной и его сотрудниками. Этим геном был небольшой по размеру (77 пар нуклеотидов) ген аланиновой тРНК дрожжей, последовательность нуклеотидов которого к тому времени была полностью расшифрована. Однако ген не содержал регуляторных последовательностей и поэтому был функционально неактивным. Та же группа ученых в 1976 г. синтезировала ген супрессорной тирозиновой тРНК *E.coli* длиной 200 п.н., который оказался функционально активным.

В 1977 г. К.Итакурой и Г.Бойером был искусственно синтезирован ген гормона млекопитающих - соматостатин на основе сведений о первичном строении этого белка, состоящего из 14 аминокислот. В различных лабораториях были созданы штаммы *E.coli* продуцирующие гормон роста человека – соматотропин, пептидные гормоны брадикинин и ангиотензин, нейрорепептид лей-энкефалин, интерферон.

Ген инсулина синтезировали в виде более чем 40 шестичленных олигонуклеотидов, затем сшивали с помощью ДНК-лигазы, полученные двухцепочечные полинуклеотиды длиной 271 и 286 п.н. были встроены в плазмиды. Туда же были включены регуляторные участки ДНК, обеспечивающие экспрес-

сию. Клонированные гены кодировали две полипептидные цепи инсулина А и В длиной 21 и 30 аминокислотных остатков.

Искусственный синтез генов, основанный на ферментативном синтезе был осуществлен с помощью обратной транскрипции. Этот механизм связан с активностью РНК-зависимой ДНК-полимеразы или обратной транскриптазы (ревертазы). Методы выделения иРНК хорошо разработаны и в присутствии иРНК можно с помощью ревертазы синтезировать практически любой ген.

236. В чем заключается стратегия картирования и секвенирования генома человека?

Генетическое картирование – это определение положения фрагментов ДНК в хромосоме с использованием генетических методов, то есть анализ сцепления и рекомбинации генов на основе родословных. На генетической карте расстояние между генами измеряют в сантиморганидах (сМ), названных так в честь американского ученого Томаса Моргана. Когда частота рекомбинации между двумя маркерами равна 1%, считают, что они находятся на расстоянии 1 сМ, генетическое расстояние в 1 сМ примерно равно физической протяженности в 1 млн. пар оснований - 1 мегабазе (мб).

Медицинский аспект ценности генетической карты состоит в том, что наследственная болезнь может быть локализована на карте путем прослеживания наследования маркера, который несут больные (и который отсутствует у здоровых). Сегодня уже установлено точное хромосомное расположение генов многих болезней человека.

Физическое картирование - это определение положения фрагментов ДНК в хромосоме с помощью молекулярной и клеточной биологии. Хромосомные карты показывают расположение генов или отдельных участков ДНК на соответствующих хромосомах, а расстояние между генами или фрагментами ДНК, указывают в парах оснований.

Последняя стадия физического картирования генома человека – определение всех пар оснований на каждой хромосоме, то есть полной нуклеотидной последовательности ДНК. Эта задача решается современной технологией секвенирования. Информация о локализации гена позволяет в настоящее время, используя ДНК-технологии, осуществлять ДНК-диагностику заболевания. Эти новые знания служат основой для разработки адекватных методов лечения заболеваний, в том числе генотерапии.

237. Что такое тотипотентность генома?

Долгие годы обсуждался вопрос, сопровождается ли специализация клеток животных утратой генов, которые далее не понадобятся для данного типа клеток. Если «ненужные гены» утрачиваются, то в процессе развития должны происходить необратимые процессы. Противоположная точка зрения сводится к тому, что во всех клетках сохраняются все гены, однако в тех клетках, где их деятельность не нужна, они находятся в неактивном состоянии.

Для того чтобы решить какая из гипотез верна проводят трансплантацию ядер. Экспериментальным путем механизм дифференциации клеток был решен английским ученым Дж. Гердоном в начале 60-х годов на *Xenopus laevis*. Неоплодотворенные яйцеклетки облучали большой дозой ультрафиолетовых лучей, которые инактивировали ядра. С помощью микрохирургической иглы в энуклеированные яйцеклетки пересаживались ядра из дифференцированных клеток - эпителия кишечника головастика. Маркером, в данном случае, служило наличие двух ядрышек в ядрах клетки-хозяина и одного в пересаживаемых ядрах. В этих экспериментах около 1% яиц, в которые были пересажены ядра эпителия, дали взрослых лягушек. Таким образом, было доказано, что нормальная дифференциация клеток у животных не сопровождается утратой или необратимой инактивацией генов. Из опытов Гердона можно сделать следующие выводы: во первых, в процессе детерминации и

дифференциации не происходит необратимых повреждений генома и во-вторых перенесенные ядра клетки в неоплодотворенные яйцо, могут приводить к полному возврату дифференцированного состояния и детерминации.

Классические опыты Дж. Гердона открыли путь для фактически неограниченного размножения любого индивидуума. Этот процесс был назван клонированием.

В исследованиях растений проблема тотипотентности, т.е. возможности получения целого организма из одной единственной клетки не возникла, так как известны возможности вегетативного размножения, получения нормальных растений из соматических клеток и тканей.

238. Каковы успехи и перспективы клонирования?

Идея клонирования животных, т.е. получение генетически идентичных копий, родилась благодаря успешным экспериментам по пересадке ядер дифференцированных клеток в энуклеированные яйцеклетки или ооциты, выполненном на амфибиях. Цель этих экспериментов была теоретическая – выяснить вопрос, способно ли ядро (геном) дифференцированной клетки к репрограммированию и восстановлению тотипотентности, т.е. будучи помещенным в цитоплазму яйца, способно ли оно обеспечить полное развитие подобно оплодотворенной яйцеклетке. Фактически речь шла о возможности обратимости эмбриональной дифференцировки и выяснению вопроса: претерпевает ли геном в процессе развития необратимые изменения или модификации? Успешные опыты Дж. Гердона и его сотрудников, показавшие возможность развития взрослых амфибий из реконструированных яйцеклеток после трансплантации в них ядер из клеток эпителия кишечника головастика, были интерпретированы как убедительное доказательство, что геном дифференцированных клеток способен к репрограммированию в цитоплазме яйцеклетки и восстановлению тотипотентности, подобно оплодотворенному яйцу. Из этих результатов логично вытекало, что используя технику трансплантации ядер из сома-

тических клеток взрослых особей в энуклеированные яйца или ооциты, можно получать генетические копии животного, служившего донором ядер дифференцированных клеток. Безусловно, клонирование животных открывало бы заманчивые перспективы для генетического копирования животных, прежде всего сельскохозяйственных, тех, которые имеют те или иные выдающиеся показатели продуктивности.

По схеме опыта аналогичной той, которую использовал Дж. Гердон была проведена трансплантация ядер из дифференцированных клеток в яйцеклетки овец и получено нормально сформулированное животное. Уже в конце 80-х годов стало очевидно что ооцит на стадии M2 (второе мейотическое деление) обладает факторами способными репрограммировать геном. Работа проводилась под руководством R.Wilmut и его коллег, которые впоследствии используя в качестве донора ядра дифференцированных клеток взятых от эмбрионов или взрослых животных и энуклеированный ооцит вывели овечку Долли. Тот факт, что овечка выросла из яйцеклетки с ядром из взрослого животного доказывает отсутствие необратимых модификаций генетического материала в ходе нормального развития. К 2000 г. клонированные мыши и овцы получены после пересадки ядер культуры клеток в энуклеированные яйцеклетки этих животных. Большие успехи были достигнуты в исследованиях стволовых клеток человека, что конечно имеет большое значение в медицине, так как перед человеком открываются новые возможности по лечению многих неизлечимых до настоящего времени болезней

239. Какие методы используются для диагностики наследственных болезней?

Во многих случаях диагноз генетических болезней ставится пренатально. Наиболее широко используемые методы пренатальной диагностики – амниоцентез и биопсия ворсин хориона (CVS). При амниоцентезе с помощью шприца с иглой берется амниотическая жидкость. Затем эта жидкость и содер-

жащиеся в ней клетки плода исследуются для выявления хромосомных или моногенных заболеваний.

Вместе с этими методами используют технологии рекомбинантных ДНК – высокочувствительный инструмент для пренатального выявления наследственных заболеваний. Секвенирование ДНК расширило применение пренатальной диагностики, так как при этом исследуется генотип плода, а не наличие нормальных или мутантных генных продуктов. Этим методом можно определить более 100 хромосомных и генных аномалий уже в первые недели беременности, что позволяет при неблагоприятном диагнозе принять решение о продолжении или прерывании беременности.

В генетическом скрининге широко используются аллель-специфические олигонуклеотиды (ASO). ASO позволяют выявить нуклеотидные замены всех типов. В определенных условиях ASO гибридизуется только с комплементарными последовательностями и ни с какими другими, имеющими изменения всего на один нуклеотид. Данный метод используется для широкого круга генетических заболеваний, вызываемых точковыми мутациями. Идентификацию определенных участков ДНК проводят при помощи зондов.

ДНК-зонды, сходные с ASO, объединенные с полупроводниковыми технологиями, привели к созданию ДНК-микрочипов. Микрочипы изготавливаются из стекла и разделены на ячейки (небольшие квадраты); каждая ячейка может быть размером всего в половину толщины человеческого волоса. Ячейка содержит специфический ДНК-зонд длиной примерно в 20 нуклеотидов, прикрепленный к стеклу.

Вдоль ряда ячеек последовательность зондов изменяется на один нуклеотид от ячейки к ячейке. Таким образом, набор из четырех ячеек (по одной на каждый из возможных нуклеотидов) позволяет определить любой из нуклеотидов в данной позиции. Современное поколение микрочипов содержит 280000-560000 ячеек, однако в настоящее время разрабатываются микрочипы с несколькими миллионами ячеек. ДНК для генетиче-

ского тестирования выделяют из клеток и разрезают с помощью одной или нескольких рестриктаз. Полученные фрагменты метят флуоресцентным красителем, денатурируют и одноцепочечную ДНК наносят на микрочип. Фрагменты с нуклеотидной последовательностью, полностью комплементарной последовательности зонда, свяжутся с ним, а с некомплементарными, т.е. теми в которых хотя бы в одном нуклеотиде произошла ошибка не связываются – смываются. Лазерный сканер считывает картину флуоресценции. Соответствующая компьютерная программа анализирует картину гибридизации и в нескольких формах представляет результаты.

ДНК-микрочипы уже используются для поиска мутаций гена p53, которые выявляются в 60% раковых опухолей, и мутаций гена BRCA1, определяющего предрасположенность женщин к раку молочной железы.

240. Как используются молекулярные маркеры в криминалистике?

Для идентификации личности или установления родства используют метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Метод ПЦР дает возможность размножить незначительное количество ДНК (несколько пикограмм) для последующего анализа. Для установления степени родства используют гены, имеющие множественные аллели. Например, ген *THO1* у человека содержит многократно повторяющиеся повторы – динуклеотиды (CA), копии которых повторяются 5-10 раз. Они легко различаются по длине ПЦР-фрагментов, выявляемых в геле после электрофореза. Если у двух индивидов не выявляются одинаковые полосы, то их родство исключено. Для анализа семейных отношений часто используют молекулярные маркеры митохондриальной ДНК. Последовательности митохондриальной ДНК идентичны у лиц, восходящих к общему предку по материнской линии. Болезнь гетероплазмия связанная с дефектами мтДНК встречается часто (10-20%). Гетероплазмия была найдена в мтДНК из эксгумированных останков русского царя Ни-

колая II. Аналогичная болезнь была найдена у его брата князя Георгия Романова, а также ныне живущего родственника по материнской линии.

Для идентификации также широко используется метод ПДРФ (полиморфизм длины рестриционных фрагментов). Полиморфизм ДНК человека служит основой для метода «отпечатков пальцев». Обычно в геноме человека встречаются повторы длиной 2-100 нуклеотидов. Локусы, несущие повторы называются VNTR (изменчивые по числу тандемные повторы). Когда VNTR-последовательности разрезаются с помощью рестриктаз и анализируются, выявляется специфическая картина распределения полос - «отпечатков пальцев» ДНК. Эти отпечатки неизменны у данного индивида и различаются у разных индивидов. Изменчивость распределения полос так велика, что их распределение для каждого человека является уникальной. Метод «отпечатков пальцев» может быть использован при наличии небольшого количества материала (менее 60 мкл крови) и для проб, имеющих большой возраст (удалось исследовать VNTR египетских мумий возрастом более 2400 лет) что повышает эффективность метода. В разных обстоятельствах метод «отпечатков пальцев» используется в криминалистике в качестве улики.

Глава XIX

КОНСЕРВАТИВНАЯ ГЕНЕТИКА



Киты-горбачи – последние отпрыски вымирающих видов.

241. Что изучает консервативная генетика?

Консервативная генетика изучает генетическое разнообразие видов для поддержания численности популяции и длительного выживания видов. Виды и их комплексы – биоценозы, возникли задолго до появления человека как биологического вида. За многие миллионы лет вымерли многие виды животных и растений, а их место заняли новые, продвинутые в морфофизиологическом отношении группы, обладающие более широкими эволюционными потенциями. В результате органической эволюции возникло большое биоразнообразие – сотни тысяч видов, разнообразие биоценозов, т.е. на каждом уровне организации живого от генов и до экосистем.

В настоящем усиливающийся рост человеческой популяции, нарастающее давление практической деятельности людей на биосферу, прямое или несознательное уничтожение многих видов растений и животных, изменение среды обитания многих видов составляет серьезную угрозу. Нарушения сложившейся адаптивной генетической структуры и уровня генетической изменчивости приводят к их ухудшению и даже распаду. В группу риска входят не только дикие виды, из-за утраты многих традиционных сортов сельскохозяйственных культур их разнообразие также снижается. Утрата ключевых видов может привести к исчезновению целых экосистем.

Основной задачей консервативной генетики является изучение процессов, протекающих в биосфере, взаимосвязей и взаимозависимости между компонентами экосистем, поддержание генетического разнообразия и восстановление жизнеспособности популяций. Эта цель может быть достигнута при разумном использовании генофонда растений и животных в сочетании с долговременным его сохранением.

242. В чем опасность потери биологического разнообразия?

В истории органического мира были периоды нарастания и спада биоразнообразия и одни группы организмов сменялись другими. Расцвет и угасание отдельных крупных ветвей – естественный эволюционный процесс, сопровождает изменения условий среды на Земном шаре. В конечном итоге большинство видов рано или поздно вымирают, так как не могут приспособиться, некоторые из них преобразуются в более продвинутые в эволюционном отношении типы.

С начала двадцатого века рост человеческой популяции усилил давление на разнообразие жизни на Земле. К 1993 году население Земли составило свыше 5,5 миллиардов, а по прогнозам к 2100 году оно приблизится к 19 миллиардам. Усиливающийся рост человеческой популяции оказывает негативное действие на другие виды. По данным Всемирного Совета по

Консервации (IUCN) по 2010 году под угрозой исчезновения находится 25% видов млекопитающих, 13% видов птиц, 20% видов рептилий, 41% видов земноводных и 34% видов рыб. Под угрозой исчезновения находится 12% всех высших растений, что в среднем составляет 34000 видов. Наряду с дикими видами снижается биоразнообразие сельскохозяйственных культур и пород домашних животных. По данным Организации по Продовольствию и Сельскому Хозяйству (FAO) с 1900 года генетическое разнообразие сельскохозяйственных культур уменьшилось на 75%, под угрозой исчезновения находится около 5000 различных пород домашнего скота.

Ускоренные темпы вымирания видов связаны с антропогенным фактором. Неконтролируемая охота и сбор растений, разрушение окружающей среды, глобальные изменения климата оказывают сильное влияние на выживаемость видов. Настоящую опасность представляют утраты ключевых видов, из-за которых могут исчезнуть целые экосистемы. Кроме того происходит потеря растений и животных с неизученным практическим потенциалом. В связи с этим, сохранение биологического разнообразия живой природы, исследование факторов, влияющих на выживаемость видов и пути поддержания их численности является одной из первоочередных задач консервативной генетики.

243. Какие факторы влияют на биоразнообразие?

Существует ряд гипотез, объясняющих биологическое разнообразие. Одной из основных причин, действующих на разнообразие, называют эволюционное время. Наибольшим разнообразием видов характеризуются тропические зоны, которые долгое время не испытывали внешних воздействий и эволюция шла беспрепятственно. В умеренных зонах, особенно в северном полушарии, местообитания бедны видами, так как вследствие геологических помех (четвертичное оледенение и др.) было мало времени для адаптации и освоения среды обитания. Самой распространенной из гипотез считается та, кото-

рая связывает биоразнообразие с устойчивостью климата, который благоприятствует специализированным видам, занимающим узкие экологические ниши. В зонах с устойчивым климатом обеспечивается сосуществование большого числа видов.

Прослеживается корреляция между структурной сложностью местообитания и видовым разнообразием. Видообразование может определяться также продуктивностью местообитаний. По мнению экологов, важную роль в образовании биоразнообразия играет конкуренция. Конкуренция ведет к расхождению по экологическим нишам, что способствует возникновению высокого разнообразия. По всей вероятности ни один из факторов среды, взятый в отдельности, не в состоянии объяснить причины биоразнообразия в конкретной ландшафтной зоне. Различные группы организмов имеют разные корреляции с условиями окружающей среды. Поэтому разнообразие – это прямая связь между генетически заложенным потенциалом формообразования и ресурсами среды.

244. Что такое генетическое разнообразие?

Генетическое разнообразие включает межвидовые различия, зависящие от численности разных видов в экосистеме, а также внутривидовые различия, зависящие от генетической изменчивости в популяции и между разными популяциями одного вида. Межвидовое разнообразие появляется в численности различных видов растений и животных, представленных в конкретной экосистеме. В некоторых экосистемах, например, в влажных тропических лесах, уровень разнообразия видов очень высок. В экосистемах, где живые организмы вынуждены адаптироваться в жестких условиях среды внутривидовое разнообразие очень низкое. Внутривидовое разнообразие проявляется на уровне генетической изменчивости между особями одной популяции или вида.

Высокое межпопуляционное разнообразие встречается в географически отдаленных популяциях, между которыми нет миграции особей и обмена гаметам.

Потеря генетического разнообразия у диких видов связана с уменьшением размера популяции, обусловленным интенсивной охотой на животных или сбором растений. Основной причиной сокращения численности популяции является потеря местообитаний. Сокращение ареалов не только уменьшает численность вида, но также изолирует друг от друга отдельные популяции, то есть происходит фрагментация популяций, в результате которой нарушается важный механизм поддержания генетического разнообразия – поток генов между популяциями.

Потеря генетического разнообразия снижает адаптивность популяции к изменяющимся условиям среды из-за утраты полезных для адаптации аллелей. Снижение генетического разнообразия повышает уровень гомозиготности особей в популяции. Это приводит к накоплению вредных аллелей и к инбредной депрессии.

245. Как определяется генетическое разнообразие в популяции?

Генетическое разнообразие можно оценить по фенотипическим различиям между особями. Появление точных методов молекулярного анализа представило возможность для оценки генетической изменчивости по частоте встречаемости видов гетерозиготных по определенному локусу. Одним из молекулярных методов анализа внутривидового разнообразия является изоферментный анализ. Изоферменты представляют собой множественные формы одного фермента, встречающиеся у особей данного вида. Изменчивость изоферментов в популяции указывает на разнообразие молекул фермента, кодируемых разными аллелями одного локуса.

Одним из основных методов определения внутри- и межпопуляционной генетической изменчивости является анализ профилей ДНК, выделенной из ядра, митохондрий или хлоропластов. Для определения генетической изменчивости широко используется метод полиморфизма длин амплифицированных фрагментов, или ПДАФ. Метод ПДАФ позволяет получить

фингерпринты (полосы, полученные на хроматограмме или в электрофоретическом геле после расщепления ДНК или белков определенными ферментами) отдельных особей, которые отличаются по одной паре нуклеотидов. ПДАФ используется для анализа генетической изменчивости культурных растений и домашнего скота. Этот метод также применяют для изучения генетической изменчивости и сохранения диких видов.

246. Каковы критические размеры популяции?

Снижение численности и усиление изоляции между популяциями могут повысить риск утраты генетического разнообразия. Критические размеры популяции сильно варьируют в зависимости от вида. В среднем, в популяции численностью менее 100 особей усиливается инбридинг, уменьшается поток генов.

Однако не все особи популяции дают равноценное потомство. В данном случае определяющее значение имеет эффективный размер популяции (N_e) – число особей с равной вероятностью передачи гамет потомкам. Поэтому величина N_e всегда меньше абсолютного размера популяции (N). Эффективный размер популяции можно вычислить различными способами, в зависимости от факторов, которые предотвращают равный вклад особей в генофонд следующего поколения. Резкое временное сокращение численности популяции называется бутылочным горлышком популяции. Если численность популяции или вида сокращается до нескольких особей и в последующих поколениях вновь восстанавливается за счет плодовитого потомства, такая популяция или вид проходит через «бутылочное горлышко», при этом генетическое разнообразие по сравнению с исходной популяцией значительно сокращается. Низкий уровень генетического разнообразия в популяции, обусловленной эффектом основателя, может поддерживаться в течение многих поколений, поскольку выжившие особи составляют небольшую часть исходной популяции. Генетическое разнообразие в популяции южно-африканского леопарда составляет менее 10% от

уровня разнообразия в популяциях других млекопитающих (рис. 18). У леопардов нередко встречаются аномалии сперматогенеза и низкая рождаемость, по-видимому, обусловленные отсутствием генетического разнообразия и накоплением вредных летальных аллелей. Когда и каким образом проходили популяции леопардов через «бутылочное горлышко» остается неясным.



Рис. 18. Гепард (*Acinonyx jubatus*) с ограниченной генетической изменчивостью вследствие эффекта «бутылочного горлышка».

Малочисленные популяции редких и исчезающих видов особенно подвержены генетическому дрейфу, инбридингу и уменьшению потока генов.

247. Каковы причины повышающие риск вымирания видов?

Потеря генетического разнообразия снижает адаптивность популяции к изменяющимся условиям среды из-за утраты полезных аллелей. Сниженное генетическое разнообразие повышает уровень гомозиготности особей в популяции. Это приводит к накоплению вредных аллелей и к инбредной депрессии.

Малочисленные популяции редких и исчезающих видов подвержены процессам, которые действуют разными способами, но дают сходный результат. К таким процессам относятся: генетический дрейф, инбридинг и уменьшение потока генов.

Генетический дрейф в популяциях растений с небольшим эффективным размером приводит к утрате генетического разнообразия. Поскольку генетический дрейф относится к случайным процессам, то в небольших количествах могут накапливаться как полезные, так и вредные аллели. В результате дрейфа один из аллелей случайно элиминируется, а другой фиксируется. Таким образом, в популяции остается одна версия данного гена, что приводит к генетической однородности данной популяции. При этом, вероятность фиксации аллеля зависит от первоначальной частоты этого аллеля.

В ряде случаев, пока численность особей остается высокой, инбридинг может привести к постепенному уменьшению генетической изменчивости. У большинства неинбредных видов, зачастую инбридинг сопровождается снижением жизнеспособности и низкой выживаемостью потомства. Это явление называется инбредной депрессией. Такая инбредная депрессия возникает вследствие увеличения частоты гомозигот по вредным аллелям. Количество вредных аллелей, присутствующих в генофонде популяции называется генетическим грузом. У некоторых видов инбридинг связан с отбором против низкой выживаемости особей, несущих вредные аллели, и элиминацией этих аллелей из популяции, то есть с «очисткой от генетического груза». У таких видов даже после нескольких поколений инбридинга, не происходит снижения жизнеспособности особей. Инбредная депрессия может возникать и при скрещивании гетерозиготных особей с более высокой, чем у гомозигот выживаемостью. В этом случае для долговременного сохранения популяций требуется исключить инбридинг и поддерживать достаточный уровень всех аллелей, что особенно трудно в популяциях с малой численностью. Влияние инбредной депрессии и низкой генетической изменчивости на

небольшую изолированную популяцию видно на примере серых волков с острова Ройял на озере Верхнее в Канаде (рис. 19). В 1950 г. пара серых волков перешла по льду с материка на остров, где не было других волков, но в избытке пребывали мыши – основная пища мигрантов.



Рис. 19. Серый королевский ирландский волк (*Canis lupus*).

К 1980 г. островная популяция волков увеличилась до 50 животных. Однако, за последнее десятилетие численность волков упала до десятка. Несмотря на обилие пищи, у них нет потомства, хотя видимых признаков болезни тоже не обнаруживается. У оставшихся волков проанализировали генетическую изменчивость мтДНК и отпечатки геномной ДНК. Оказалось, что уровень гомозиготности в островной популяции в два раза выше, чем у волков из соседней популяции на материке. Более того, все волки на острове имели одинаковую мтДНК – ту же, что их прародительница. Таким образом, все они были полными сибсами. Поэтому полный спад воспроизводства популяции связан в данном случае с инбредной депрессией.

Поток генов, или постепенное изменение частоты аллелей между популяциями, связан с неравным распределением гамет, дающих потомство или с миграцией генов. Это важный меха-

низм интродукции новых аллелей в генофонд и повышения генетической изменчивости. У растений генный поток обусловлен перекрестным опылением между особями из различных популяций, а также распространением семян на большие расстояния. Изоляция, фрагментация популяций, уменьшение ареала обитания у растительных организмов значительно снижает поток генов, а соответственно и генетическое разнообразие растительных организмов. Самым крайним случаем инбридинга среди растений является самоопыление.

248. Что такое генетическая эрозия?

Утрата генетического разнообразия популяций или видов называется генетической эрозией. Генетическая эрозия имеет 2 важнейших последствия. Во-первых, она может привести к потере потенциально полезных аллелей в генофонде популяций, уменьшая тем самым адаптивные возможности особей и усиливая риск вымирания. Еще за несколько десятилетий до рождения современной генетики Ч.Дарвин в своей книге «Происхождение видов» (1859) писал: «Чем разнообразнее потомки какого – либо вида, тем в большей степени они способны заселять разнообразные места обитания в царстве природы и размножаться».

Важность сохранения аллельного полиморфизма видна на примере березовой пяденицы *Biston betularia*. В условиях сильного загрязнения черная окраска имела явное преимущество, защищая бабочек от истребления птицами. В новых условиях адаптивное значение приобрела аллель светлой окраски, сохранившаяся в популяции.

Второе важное последствие генетической эрозии состоит в уменьшении уровня гетерозиготности. В итоге внутри популяции увеличивается число гомозигот по данному локусу и происходит падение числа гетерозиготных локусов в генотипах отдельных растений или животных. Как известно, потеря гетерозиготности – это следствие уменьшения популяции. Популяционные исследования показывают, что при гомозиготности

выше нормы у особей проявляются вредные признаки, в частности, низкая жизнеспособность гамет.

Сравнение инбредных и аутбредных популяций дрозофилы, по устойчивости к стрессовым факторам среды, показало более низкую приспособляемость инбредной популяции. Генетическая эрозия снижает долговременную выживаемость популяции, снижая адаптацию особей к изменяющимся условиям окружающей среды.

249. Как сохранить генетическое разнообразие видов?

Долговременное сохранение генетического разнообразия растительных ресурсов одна из основных задач, стоящих перед биологической наукой. Для поддержания генетического разнообразия необходимо учесть целый комплекс факторов, в том числе роль и место вида в экосистеме и значение генетической изменчивости для выживаемости этого вида. Различают *in situ* и *ex situ* программы консервации.

Сохранение генетического разнообразия возможно с помощью консервации *ex situ* – создания живых коллекций видов, размножения в неволе и генных банков. Генетическое разнообразие поддерживается также с помощью консервации *in situ* и создания национальных парков, заповедников и заказников.

Консервация *ex situ* означает сохранение вида за пределами мест обитания в природе. Для этого растения или животные переселяют в ботанические сады или зоопарки. Такие коллекции очень важны и играют ведущую роль в восстановлении исчезающих видов.

Поскольку популяция прошла через узкое «бутылочное горлышко», риск генетической эрозии очень высок. Генетический мониторинг с помощью ДНК-маркеров позволяет идентифицировать особей с высокой гетерозиготностью, составить родословные и избежать скрещиваний между очень близкими родственниками. Это позволяет повысить генетическое разнообразие вида.

Консервация *in situ*, или хранение на месте, обуславливает сохранение биологического разнообразия видов и численности популяций в естественных местах обитания. Основной целью консервации *in situ* является сохранение диких видов, которые в будущем могут быть использованы человеком. Консервация *in situ* создает условия, в которых виды могут жить и размножаться в условиях, к которым они адаптированы, что снижает риск нежелательного изменения частот аллелей под действием отбора.

Разведение в неволе исчезающих видов и восстановление популяций на основе нескольких выживших особей повышает риск генетической эрозии из-за эффекта основателя и инбридинга. Альтернативная стратегия консервации состоит в приращении популяции, то есть в пополнении численности за счет подселения особей, разведенных в неволе или отловленных в других популяциях. Приращение популяции представляет собой ценный способ восстановления численности и биологического разнообразия вида. При этом переселяемые особи должны отличаться по происхождению от коренных представителей этой популяции. Проблема заключается в аутбредной депрессии, понижающей жизнеспособность потомства от скрещиваний между генетически далекими особями вида. Аутбредная депрессия в первом поколении обуславливает худшую приспособленность потомства к условиям обитания по сравнению с родителями. Аутбредная депрессия во втором и последующем поколениях, по-видимому, приводит к распаду комплекса адаптивных генов – групп аллелей, обеспечивающих вклад в жизнеспособность особи к конкретным условиям среды. Таким образом, наиболее подходящая стратегия выживания видов состоит в том, чтобы в первую очередь предотвратить потерю разнообразия.

250. С какой целью используются банки генов?

Банки генов - это еще одна форма консервации *ex situ*. В этом случае создаются коллекции замороженных половых

клеток или эмбрионов животных, семян, пыльцы или культур тканей растений. В банках генов можно в течение длительного периода сохранять генотипы, особенно традиционные сорта сельскохозяйственных культур. Несмотря на успехи, консервация *ex situ* имеет ряд недостатков. Так например, даже огромные генные банки не в состоянии вместить все генетическое разнообразие видов, существующих в природе. Для решения этой проблемы создаются так называемые коровые (core-ядро) коллекции. В таких коллекциях собраны генотипы с наибольшей генетической изменчивостью. Еще одним недостатком консервации *ex situ* являются искусственные условия, в которых хранятся различные образцы. В таких условиях действие отбора отличается от такового в естественных условиях, что приводит к неизбежной потере некоторых параметров.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Учебники и пособия общего характера:

- Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика. В 3-х томах, М.: «Мир», 1987 - 1988, т. 1, 295 с., т. 2, 368 с., т. 3, 335 с.
- Акифьев А.П., Чернин Л.С. Общая генетика. М.: «Высшая школа», 1985, 448 с.
- Гайсинович А.Е. Зарождение и развитие генетики. М.: «Наука», 1988, 424 с.
- Гершензон С.М. Основы современной генетики. Киев, «Наукова Думка», 1983, 508 с.
- Гершкович И. Генетика. М.: «Наука», 1968, 698 с.
- Дубинин Н.П. Горизонты генетики. М.: «Просвещение», 1970, 568 с.
- Дубинин Н.П. Общая генетика. М.: «Наука», 1986, 559 с.
- Дубинин Н.П. Генетика – страницы истории. Кишинев: Штиинца, 1988, 398 с.
- Дубинин Н.П. Вечное движение. 3-е издание. М.: Изд.-во «Политиздат», 1989, 445 с.
- Дубинин Н.П. Генетика. М.: «Наука», 1986, 559 с.
- Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск, Изд.-во НГУ, 2002, 458 с.
- Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск, Изд.-во НГУ, 2007, 479 с.
- Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.: «Высшая школа», 1989, 592 с.
- Инге-Вечтомов С.Г. Генетика. Кишинев: «Штиинца», 1990, 398 с.
- Клаг У., Камингс М. Основы генетики. М.: «Техносфера», 2009, 894 с.
- Лакин. Г.Ф. Биометрия. М.: «Высшая школа», 1980, 292 с.
- Лобашев М.Е. Генетика. Ленинград, Изд.-во ЛГУ, 1967, 747 с.
- Лобашев М.Е., Ватти К.В., Тихомирова М.М. Генетика с основами селекции. Москва: «Просвещение», 1979, 431 с.
- Морган Т.Г. Значение генетики для физиологии и медицины. Приложение II. Нобелевская лекция, 1934. В кн.: Гершкович И. Генетика. М.: «Наука», 1968, с. 559-575.
- Морган Т.Г. Развитие и наследственность. М.: «Медицина», 1937, 242 с.

- Мюнтцинг А. Генетика. М.: «Мир», 1967, 607 с.
- Рейвин А.У. Эволюция генетики. М.: «Мир», 1967, 223 с.
- Ригер Р., Михаэлис А. Генетический и цитогенетический словарь. М.: «Колос», 1967, 608 с.
- Серебровский А.С. Генетический анализ. М.: «Наука», 1970, 342 с.
- Сингер М., Берг П. Гены и геномы. В 3-х томах, М.: «Мир», 1998, т. 1, 373 с.
- Тихомирова М.М. Генетический анализ. Л.: Изд.-во ЛГУ, 1990, 280 с.
- Уотсон Дж. Молекулярная биология гена. М.: «Мир», 1978, 720 с.
- William S. Klug, Michael R. Cummings, Charlotte A. Spencer, Michael A. Palladino. Concepts of Genetics (10th edition). Pearson Education Inc., 2012, 742 pp.
- Lewin B. 2007, Genes IX. Jones & Bartlett Learning, 9th edition, 892 pp.

Глава 1

- Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика. В 3-х томах, М.: «Мир», 1987 - 1988, т. 1, 295 с., т. 2, 368 с., т. 3, 335 с.
- Акифьев А.П., Чернин Л.С. Общая генетика. М.: «Высшая школа», 1985, 448 с.
- Гайсинович А.Е. Зарождение и развитие генетики. М.: «Наука», 1988, 424 с.
- Гершензон С.М. Основы современной генетики. Киев: «Наукова Думка», 1983, 508 с.
- Дубинин Н.П. Горизонты генетики. М.: «Просвещение», 1970, 568 с.
- Дубинин Н.П. Общая генетика. М.: «Наука», 1986, 559 с.
- Дубинин Н.П. Генетика – страницы истории. Кишинев: «Штиинца», 1988, 398 с.
- Дубинин Н.П. Вечное движение. 3-е издание. М.: Изд.-во «Политиздат», 1989, 445 с.
- Дубинин Н.П. Генетика. М.: «Наука», 1986, 559 с.
- Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск, Изд.-во НГУ, 2002, Генетический анализ, с. 83-100.
- Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.: «Высшая школа», 1989, 592 с.
- Инге-Вечтомов С.Г. Генетика. Кишинев: «Штиинца», 1990, 398 с.
- Клаг У., Камингс М. Основы генетики. М.: «Техносфера», 2009, 894 с.

- Лакин. Г.Ф. Биометрия. М.: «Высшая школа», 1980, 292 с.
- Лобашев М.Е. Генетика. Ленинград, Изд.-во ЛГУ, 1967, 747 с.
- Морган Т.Г. Значение генетики для физиологии и медицины. Приложение II. Нобелевская лекция, 1934. В кн.: Гершкович И. Генетика. М.: «Наука», 1968, с. 559-575.
- Мюнтцинг А. Генетика. М.: «Мир», 1967, 607 с.
- Рейвин А. Эволюция генетики. М.: «Мир», 1967, 223 с.
- Серебровский А.С. Генетический анализ. М.: «Наука», 1970, 342 с.
- Сингер М., Берг П. Гены и геномы. В 3-х томах, М.: «Мир», 1998, т. 1, 373 с.
- Тихомирова М.М. Генетический анализ. Л.: Изд.-во ЛГУ, 1990, 280 с.
- Уотсон Дж. Молекулярная биология гена. М.: «Мир», 1978, 720 с.
- William S. Klug, Michael R. Cummings, Charlotte A. Spencer, Michael A. Palladino. Concepts of Genetics (10th edition). Pearson Education Inc., 2012, 742 pp.
- Lewin B. 2007, Genes IX. Jones & Bartlett Learning, 9th edition, 892 pp.

Глава 2

- Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика. В 3-х томах, М.: «Мир», 1987-1988, т. 1, 295 с.
- Акифьев А.П., Чернин Л.С. Общая генетика. М.: «Высшая школа», 1985, с. 10-23.
- Гершензон С.М. Основы современной генетики. Киев: «Наукова Думка», 1983, с. 80-100.
- Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.: «Высшая школа», 1989, с. 55-84.
- Клаг У., Камингс М. Основы генетики. М.: «Техносфера», 2009, с. 47-72.
- Методы генетики соматических клеток. (Под ред. Дж. Шея). М.: «Мир», 1985, т. 1, 312 с.
- Мюнтцинг А. Генетика. М.: «Мир», 1967, с. 21-27.
- Основы цитогенетики человека. (Под ред. Прокофьевой – Бельговской А.А.). М.: «Медицина», 1965, 544 с.
- Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. Минск: «Высшая школа», 1978, 447 с.

William S. Klug, Michael R. Cummings, Charlotte A. Spencer, Michael A. Palladino. Concepts of Genetics (10th edition). Pearson Education Inc., 2012, p. 21-39.

Mazia D. The cell cycle. Sci. Am. (Jan), 1974, p. 56-64.

Глава 3, 4

Акифьев А.П., Чернин Л.С. Общая генетика. М.: «Высшая школа», 1985, гл. 2, с. 47-78, гл. 3, с. 37-46.

Володин Б. Мендель. В кн.: Жизнь замечательных людей. М.: «Мол. гвардия», 1968, 256 с.

Гершензон С.М. Основы современной генетики. Киев: «Наукова Думка», 1983, с. 24-79.

Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск, Изд.-во НГУ, 2002, гл. 2, с. 31-50.

Избранные работы. Мендель Г., Нодэн Ш., Сажре О. М.: «Медицина», 1968, 175 с.

Клаг У., Камингс М. Основы генетики. М.: «Техносфера», 2009, гл. 3, 4, с. 73-145.

Лобашев М.Е. Генетика. Ленинград, Изд.-во ЛГУ, 1967, с. 103-180.

Мендель Г. Опыты над растительными гибридами. Москва-Петроград: «Госиздат», 1923, 71 с.

William S. Klug, Michael R. Cummings, Charlotte A. Spencer, Michael A. Palladino. Concepts of Genetics (10th edition). Pearson Education Inc., 2012, p. 42-70.

Глава 5, 6

Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика. В 3-х томах, М.: «Мир», 1987, т. 1, с. 64-88.

Гершензон С.М. Основы современной генетики. Киев: «Наукова Думка», 1983, гл. 6, с. 101-134, гл. 7, с. 35-169.

Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск, Изд.-во НГУ, 2002, гл. 5, 6, с. 40-50, гл. 14, с. 350-369.

Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.: «Высшая школа», 1989, с. 85-111.

Клаг У., Камингс М. Основы генетики. М.: «Техносфера», 2009, гл. 5, с. 146-173, гл. 8, с. 233 – 269.

Лобашев М.Е. Генетика. Ленинград, Изд.-во ЛГУ, 1967, с. 116-283.

Морган Т. Структурные основы наследственности. Москва – Петроград: Гос. изд.-во, 1924, 266 с.

William S. Klug, Michael R. Cummings, Charlotte A. Spencer, Michael A. Palladino. Concepts of Genetics (10th edition). Pearson Education Inc., 2012, chapter 5, p. 105 – 142, chapter 7, p. 174 – 196.

Глава 7

Георгиев Г.П. Гены высших организмов и их экспрессия. М.: «Наука», 1989, 254 с.

Жимулев И.Ф. Хромомерная организация политенных хромосом. Новосибирск: «Наука», 1994, с. 315-354.

Жимулев И.Ф. Современные представления о структуре гена. Соросовский образовательный журнал, 2000, т. 6, №7, с. 11-16.

Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск, Изд-во НГУ, 2002, гл. 6, с. 105-145, гл. 7, с. 146 – 196, гл. 9, с. 236 – 288.

Инге-Вечтомов С.Г. Введение в молекулярную генетику. М.: «Высшая школа», 1983, 574 с.

Клаг У., Камингс М. Основы генетики. М.: «Техносфера», 2009, 894 с.

Крик Ф. К вопросу о генетическом коде. Приложение X, Нобелевская премия, 1962. В кн.: Гершкович И. Генетика. М.: «Наука», 1968, с. 653-659.

Льюин Б. Гены. М.: «Мир», 1987, 544 с.

Методы молекулярной биологии. Киев: «Наукова Думка», 1986, 191 с.

Основы цитогенетики человека. (Под ред. Прокофьевой – Бельговской А.А.). Гетерохроматические районы хромосом. М.: «Медицина», 1965, 544 с.

Патрушев Л.И. Экспрессия гена. М.: «Наука», 2000, 527 с.

Сингер М., Берг П. Гены и геномы. В 3-х томах, М.: «Мир», 1998, т. 1, 373 с.

Стент Г., Кэлиндар Р. Молекулярная генетика. М., 1981, 172 с.

Уотсон Дж. Молекулярная биология гена. М.: «Мир», 1967, 461 с.

Уотсон Дж. Роль РНК в синтезе белков. Приложение IX, Нобелевская премия, 1962. В кн.: Гершкович И. Генетика. М.: «Наука», 1968, с. 632-652.

Элен К. Структура ДНК. В кн.: Генетика и наследственность. М.: «Мир», 1987, с. 138 – 161.

Глава 8

Айала Ф.Х. Механизмы эволюции. Эволюция, М.: «Мир», 1981, с. 33 – 65.

Акифьев А.П., Чернин Л.С. Общая генетика. М.: «Высшая школа», 1985, гл. 10, с. 161 - 328.

Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. М.: «Наука», 1984, 280 с.

Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.: «Высшая школа», 1989, с. 198-224.

Ильин Ю.В. Мобильные диспергированные гены эукариот. Итоги науки и техники. Молекулярная биология, т. 18, М.: ВИНТИ, 1982, с. 5-18.

Гольдфарб Д.М. Введение в генетику бактерий. М.: «Наука», 1966, 195 с.

Клаг У., Камингс М. Основы генетики. М.: «Техносфера», 2009, с. 270-305.

Корочкин Л.И. Регуляция действия генов в развитии. Молекулярная биология, 1981, т. 15, с. 965 – 988.

Левонтин Р. Генетические основы эволюции. М.: «Мир», 1978, 351 с.

Ледерберг Д. Обзор генетики. Приложение VIII, Нобелевская премия, 1962, в кн.: Гершкович И. Генетика. М.: «Наука», 1968, с.619-634.

Лобашев М.Е. Генетика. Ленинград, Изд.-во ЛГУ, 1967, с. 416 – 453.

Плазмиды. Методы (Под ред. Харди), М.: «Мир», 1990, 258 с.

Прозоров А.А. Геном бактерий, нуклеоид. Хромосома, нуклеотидная карта. Микробиология, 1998, т. 67, с. 437 – 451.

Шварц М. Генетика бактерий. В кн.: Генетика и наследственность, М.: «Мир», 1987, с. 162 – 166.

William S. Klug, Michael R. Cummings, Charlotte A. Spencer, Michael A. Palladino. Concepts of Genetics (10th edition). Pearson Education Inc., 2012, chapter 6, p. 143–173.

Глава 9

- Гаузе Г.Г. Митохондриальная ДНК. М.: «Наука», 1977, 288 с.
- Гершензон С.М. Основы современной генетики. Киев, «Наукова Думка», 1983, с. 170-191.
- Джинкс Дж. Нехромосомная наследственность. М.: «Мир», 1966, 288 с.
- Дубинин Н.П. Общая генетика. М.: «Наука», 1970, с. 396 – 405.
- Молекулярная генетика митохондрий. (Под ред. Нейфаха С.А., Трошина А.С.). Ленинград: «Наука», 1977, с. 11-20.
- Насыров Ю.С. Фотосинтез и генетика хлоропластов. М.: «Наука», 1975, 141 с.
- Палилова А.Н. Генетические системы у растений и их взаимодействие. Минск: «Наука и техника», 1986, 159 с.
- Сэджер Р. Цитоплазматические гены и органеллы. М.: «Мир», 1975, 419 с.
- Хагеман Р. Плазматическая наследственность. М.: Изд-во иностр. лит., 1962, 111 с.
- Хесин Р.Б. Непостоянство генома. М.: «Наука», 1984, 472 с.
- Ivanov P.L., Wadhams M.I., Roby R.K. et al. Nat. Genet, 1996, v. 12, p. 417 – 420.

Глава 10

- Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика. В 3-х томах, М.: «Мир», 1987 - 1988, т. 3, 335 с.
- Алекперов У.К. Антимутагены и проблема защиты генетического аппарата. «Элм», 1979, 113 с.
- Алекперов У.К. Антимутагенез. М.: «Наука», 1984, 99 с.
- Ахундова Э.М. Полиплоидия и ДНК. Баку: «Элм», 1982, 107 с.
- Ауэрбах Ш. Химический мутагенез. М.: «Мир», 1978, 463 с.
- Бродский В.Я., Урываева И.В. Клеточная полиплоидия. Пролиферация и дифференцировка. М.: «Наука», 1981, 257 с.
- Вавилов Н.И. Закон гомологических рядов наследственной изменчивости. Ленинград: «Наука», 1967, 91 с.
- Гродзинский Д.М. Надежность растительных систем. Киев: «Наукова думка», 1983, 368 с.
- Дубинин Н.П., Шевченко В.В. Мутационный процесс в облучаемых природных популяциях. В кн.: Молекулярные механизмы генетических процессов (мутагенез и репарация). М.: «Наука», 1976, с.265 – 290.

Дубинин Н.П. Потенциальные изменения в ДНК и мутации. Молекулярная цитогенетика. М.: «Наука», 1978, 246 с.

Дубинин Н.П., Пашин Ю.В. Мутагенез и окружающая среда. М.: «Наука», 1978, 130 с.

Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск, Изд.-во НУ, 2002, с. 207-235.

Засухина Г.Д. Репаративные механизмы клеток и проблемы окружающей среды. М.: «Наука», 1979, 183 с.

Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.: «Высшая школа», 1989, Изменчивость генетического материала, гл. 12, с. 51-82.

Меллер Г. Образование мутаций. Нобелевская лекция. 1946. Приложение III. В кн.: Гершкович И. Генетика. М.: «Наука», 1968, с. 562 – 575.

Патрушев Л.И. Защита генетической информации. В кн.: Экспрессия гена. М.: «Наука», 2000, с. 260 – 277.

Савченко В.К. Генетика полиплоидных популяций. Минск: «Наука и техника», 1976, 240 с.

Сойфер В.Н. Репарация генетических повреждений. Соросовский образовательный журнал, 1997, №8, с. 4-13.

Стеббинс Дж. Распространение и природа полиплоидных типов. В кн.: Полиплоидия. М., ИЛ, 1956 а, с. 25-55.

Стеббинс Дж. Географическое распространение полиплоидов и значение полиплоидии. В кн.: Полиплоидия. М., ИЛ, 1956 б, с. 6-64.

Тарасов В.А. Молекулярные механизмы репарации и мутагенеза. М.: «Наука», 228 с.

Успехи полиплоидии. Киев: «Наукова думка», 1977, 232 с.

Шевченко В.А. Радиационная генетика одноклеточных водорослей. М.: «Наука», 1979, 256 с.

Фадеева Т.С., Иркаева Н.М. Теоретические и практические проблемы полиплоидии. М.: «Наука», 1974, с. 104-113.

Хесин Р.Б. Непостоянство генома. М.: «Наука», 1984, 472 с.

Глава 11

Айала Ф., Кайгер Дж. Экспрессия генетического материала. В кн.: Современная генетика. М.: «Мир», 1988, т. 2, 368 с.

Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск, Изд.-во НГУ, 2002, с. 174-185.

Клаг У., Камингс М. Основы генетики. М.: «Техносфера», 2009, с. 498-528.

Кулаева О.Н. Экспрессия генома растений и ее регуляция. Геном растений. Киев: «Наукова думка», 1988, с. 83-136.

Мертвцов Н.П. Регуляция экспрессии генов стероидными гормонами. Новосибирск: «Наука», 1990, 265 с.

Патрушев Л.И. Экспрессия гена. М.: «Наука», 2000, 527 с.

Пташне М. Переключение генов. Регуляция генной активности и фаг λ , М.: «Мир», 1989, 160 с.

Сойфер В.Н. Репарация генетических повреждений. Соросовский образовательный журнал, 1997, №8, с. 4-13.

Alberts B., Bray D., Lewis J., *et al.* Molecular biology and the cell. 3rd ed., New York, London: Garland Publishing Inc., 1994, 425 pp.

Britten R.J., Davidson E.H. Gene regulation for higher cells: A theory. Science. 1969, 165 (3891): 349–358.

Britten R.J., Davidson E.H. Repetitive and non-repetitive DNA sequences and a speculation on the origins of evolutionary novelty. Quart Rev Biol. 1971, 46 (2): 111–138.

William S. Klug, Michael R. Cummings, Charlotte A. Spencer, Michael A. Palladino. Concepts of Genetics (10th edition). Pearson Education Inc., 2012, chapter 16, p. 404–425, chapter 17, p. 426–450.

Глава 12

Агол В.И. Генетически запрограммированная смерть клетки. Соросовский образовательный журнал, 1996, №6, с. 20-24.

Гердон Дж. Пересадка ядер и клеточная дифференцировка. Молекулы и клетки, вып. 5, М.: «Мир», 1970, с. 19-37.

Жимулев И.Ф. Действие генов в раннем развитии дрозофилы. Соросовский образовательный журнал, 1998, №7, с. 30-34.

Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск, Изд.-во НГУ, 2002, с. 369-389.

Корочкин Л.И. Взаимодействие генов в развитии. М.: «Наука», 1977, 200 с.

Корочкин Л.И. Как гены контролируют развитие клеток. Соросовский образовательный журнал, 1996, №1, с. 17-22.

Корочкин Л.И. Введение в генетику развития. М.: «Наука», 1999, 252 с.

Маркерт К., Уршпрунг Г. Генетика развития. М.: «Мир», 1973, 270 с.

Морган Т.Г. Развитие и наследственность. Л.: «Биомедгиз», 1937, 241 с.

Шмальгаузен И.И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. М.-Л., Изд.-во АН СССР, 1938, 144 с.

William S. Klug, Michael R. Cummings, Charlotte A. Spencer, Michael A. Palladino. Concepts of Genetics (10th edition). Pearson Education Inc., 2012, chapter 18, p. 451–468.

Глава 13

Айала Ф.Х. Механизмы Эволюции. Эволюция, М.: «Мир», 1981, с. 33 – 65.

Айала Ф., Кайгер Дж. Видообразование и макроэволюция. В кн.: Современная генетика. М.: «Мир», 1988, т. 3, с. 202-256.

Айала Ф.Х. Введение в популяционную и эволюционную генетику. М.: «Мир», 1984, 230 с.

Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. М.: «Наука», 1984, 279 с.

Майр Э. Популяции, виды и эволюции. М.: «Мир», 1974, 672 с.

Глава 14

Воронцов Н.Н. Синтетическая теория эволюции, ее источники, основные постулаты, нерешенные проблемы. Ж. Всесоюз. Хим. Общ.-ва им. Д.И.Менделеева, 29, №3, 1984, с. 295-310.

Грант В. Эволюция организмов. М.: «Мир», 1980, 407 с.

Грант В. Видообразование у растений . М.: «Мир», 1984, 528 с.

Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск, Изд.-во НГУ, 2002, 458 с.

Жученко А.А. Адаптивный потенциал культурных растений (Эколого-генетические аспекты). Киев: «Штиинца», 1988, 767 с.

Дубинин Н.П. Синтетическая теория эволюции. Экологическая генетика и эволюция. Кишинев: «Штиинца», 1987, с. 749.

Кимура М. Молекулярная эволюция теории нейтральности. М.: «Мир», 1985, 351 с.

Левонтин Р. Генетические основы эволюции. М.: «Мир», 1978, 351 с.

Медников Б.М. Закономерности эволюции генома. Молекулярные механизмы генетических процессов. М.: «Наука», 1982, с.76-85.

Морган Т.Г. Экспериментальные основы эволюции. Л.: «Биомедгиз», 1936, 247 с.

Оно С. Генетические механизмы эволюции. М.: «Мир», 1973, 227 с.

Тимофеев-Ресовский Н.В. и др. Краткий очерк теории эволюции. М.: «Наука», 1969, 408 с.

Хочачко П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. М.: «Мир», 1977, 398 с.

Шмальгаузен И.И. Изменчивость и смена адаптивных норм в процессе эволюции. Ж. Общей биологии, 1940, 4, 5, с. 253—285.

Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции. М.: «Наука», 1968, 451 с.

Эволюция генома. Под ред. Г.Доувера и Р. Флейвелла. М.: «Мир», 1986, 368 с.

Экологическая генетика и эволюция. Под ред. А.А. Жученко. Кишинев: «Штиинца», 1987, 166 с.

Яблоков А.В., Юсуфов А.Г. Эволюционное учение. М.: «Высшая школа», 1998, 334 с.

Dobzhansky Th. Evolution of genes and genes in evolution. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1959, v. 24, p. 15-27.

Dobzhansky Th. et al. Evolution. W.M. Freeman. San Francisco, 1977, 572 pp.

Stebbins G.L. Longevity, habitat, and release of genetic variability in the higher plants. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1958, v. 23, p. 365-378.

Stebbins G.L. In Essays in evolution in higher plants. 1971, v. 2, p. 46-48.

Глава 15

Акифьев А.П., Чернин Л.С. Общая генетика. М.: «Высшая школа», 1985, гл. 10, с. 376 - 392.

Вавилов Н.И. Закон гомологических рядов наследственной изменчивости. Линнеевский вид как система, Ленинград: «Наука», 1967, 91 с.

Гершензон С.М. Основы современной генетики. Киев: «Наукова Думка», 1983, с. 465-496.

Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений. Теория и практика, Киев: «Штиинца», 1987, с. 50-75.

Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.: «Высшая школа», 1989, с. 544-565.

Савченко В.К. Генетика полиплоидных популяций. Минск: «Наука и техника», 1976, 240 с.

Созинов А.А. Полиморфизм белка и его значение в генетике и селекции. М.: «Наука», 1985, 271 с.

Созинов А.А., Лаптев Ю.П. Генетика и урожай. М.: «Наука», 1986, 168 с.

Рив М. Улучшение сортов. В кн.: Генетика и наследственность, с. 253-276.

Фадеева Т.С., Иркаева Н.М. Теоретические и практические проблемы полиплоидии. М.: «Наука», 1974, с. 104-113.

Успехи полиплоидии. Киев: «Наукова думка», 1977, 232 с.

Глава 16

Бердышев Г.Д., Криворучко И.Ф. Генетика человека с основами медицинской генетики. М.: «Высшая школа», 1979, 448 с.

Виленчик М.М. Биологические основы старения и долголетия. М.: «Мир», 1976, 158 с.

Лэмб М. Биология старения. М.: «Мир», 1980, 200 с.

МакКонки Э. Геном человека. Москва, «Техносфера», 2008, 288 с.

Маккьюсик В. Генетика человека. М.: «Мир», 1967, 200 с.

Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека. Учебно-практическое пособие. Пер. с англ. Москва, «Мир», в 3-х т., т. 1, 1989, 312 с., т. 2, 1990, 378 с., т. 3, 1990, 366 с.

Фролькинс В.В. Старение и биологические возможности организма. М.: «Наука», 1975, 272 с.

Фролькинс В.В. Старение и увеличение продолжительности жизни. М.: «Наука», 1988, 238 с.

Штерн К. Основы генетики человека. М.: «Медицина», 1965, 690 с.

Глава 17

Абелев Г.И. Что такое опухоль. Соросовский образовательный журнал, 1997, №10, с. 85-90.

Балаханов А.В. Ошибки развития. Ленинград, Изд.-во ЛГУ, 1990, 278 с.

Баранов В.С., Асеев М.В., Баранова Е.В. «Гены предрасположенности» и генетический паспорт. Ж. Природа, 1999, №3.

Бердышев Г.Д., Криворучко И.Ф. Генетика человека с основами медицинской генетики. М.: «Высшая школа», 1979, 448 с.

Бочков Н.М., Захаров А.Ф., Иванов В.И. Медицинская генетика. М.: «Медицина», 1984, 368 с.

Бочков Н.М., Чеботарев А.Н. Наследственность человека и мутагены внешней среды. М.: «Медицина», 1998, 272 с.

Георгиев Г.П. Как нормальная клетка превращается в раковую. Соросовский образовательный журнал, 1999, №4, с. 17-22.

Георгиев Г.П. Молекулярно-генетические механизмы прогрессирования опухоли. Соросовский образовательный журнал, 2000, т. 6, №11, с. 2-7.

Зильбер Л.А. Вирус – генетическая теория возникновения опухолей. М.: «Наука», 1968, 273 с.

Киселев Ф.Л., Павлиш О.А. Молекулярные основы канцерогенеза у человека. М.: «Медицина», 1990, 320 с.

Ленц В. Медицинская генетика. М.: «Медицина», 1984, 287 с.

Лильин Е.Т., Богомазов Е.А., Гофман-Кадошников П.Б. Генетика для врачей. М.: «Медицина», 1990, 255 с.

Медников Б.М. СПИД с точки зрения биолога. В кн.: Биология и современность. М.: «Просвещение», 1990, с. 149-177.

Мерфи Э.А., Чейз Г.А. Основы медико-генетического консультирования. М.: «Медицина», 1979, 398 с.

Методы генетики соматических клеток. Под ред. Дж.Шея, в 2-х томах. М.: «Мир», 1985, т. 1, 312 с., т. 2, 329 с.

Пузырев В.П. Геномные исследования и болезни человека. Соросовский образовательный журнал, 1996, №5, с. 19-27.

Пузырев В.П. Медицинские аспекты экогенетики. Соросовский образовательный журнал, 1997, №8, с. 20-26.

Спивак И.М. Наследственные заболевания с первичными и вторичными дефектами репарации ДНК. Цитология, 1999, т. 41, с. 338-379.

Справочник по клинической генетике. М.: «Медицина», 1971, 248 с.

Стивенсон А., Дэвидсон Б. Медико-генетическое консультирование. М.: «Мир», 1972, 504 с.

Шелкунов С.Н. Эпидемия СПИД-а. Соросовский образовательный журнал, 1999, №1, с. 22-28.

Эфроимсон В.П. Введение в медицинскую генетику. М., Изд.-во Мед. литературы, 1964, 484 с.

Глава 18

Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. М.: «Наука», 1984, 279 с.

Бутенко Р.Г., Гусев М.В., Киркин А.Ф. и др. Клеточная инженерия. М.: «Высшая школа», 1987, 127 с.

Глеба Ю.Ю., Сытник К.М. Клеточная инженерия. Киев: «Наукова Думка», 1984, 260 с.

Глеба Ю.Ю. Биотехнология растений. Соросовский образовательный журнал, 1998, №6, с. 3-8.

Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск, Изд-во НГУ, 2002, с. 200 – 206.

Зеленин А.В. Генная терапия. Этические аспекты и проблемы генетической безопасности. Генетика. 1999, т. 35, с. 1605 – 1612.

Лешинская И.Б. Генетическая инженерия растений. Соросовский образовательный журнал. 1996, №1, с. 32 – 39.

Першина Л.А. Методы культивирования *in vitro* в биотехнологии растений, ч. 2. Новосибирск: Изд.-во МГУ, 2000, 69 с.

Рыбчин В.Н. Основы генетической инженерии. Минск: «Высшая школа», 1986, 186 с.

Сельскохозяйственная биотехнология. Под ред. Шевелухи В.С. М.: «Высшая школа», 1998, 416 с.

Скрябин К.Г. Генно-инженерная эндокринология. Ж. ВХО им. Д.И.Менделеева, 1984, т. 29, №2, с. 75-84.

Сойфер В.Н. Международный проект «Геном человека». Соросовский образовательный журнал, 1998, №12, с. 4-11.

Фаворова О.О. Лечение генами - фантастика или реальность? Соросовский образовательный журнал, 1997, №2, с. 21-27.

Глава 19

Лопатин И.К. Разнообразие животного мира: прошлое, настоящее, проблемы сохранения. Соросовский образовательный журнал, №7, 1997, с. 18-24.

Грант В. Эволюция организмов. М., «Мир», 1980, 407 с.

Грант В. Эволюционный процесс. М., «Мир», 1991, 488 с.

Клаг У., Камингс М. Основы генетики. М.: «Техносфера», 2009, 894 с.

William S. Klug, Michael R. Cummings, Charlotte A. Spencer, Michael A. Palladino. Concepts of Genetics (10th edition). Pearson Education Inc., 2012, chapter 26, p. 735-742.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
Введение	5
1. Что такое генетика?	5
Глава I. Основные положения и этапы развития генетики	7
2. Какие этапы характеризуют историю развития генетики?.....	7
3. Какие основные теоретические и практические проблемы решаются генетикой?.....	10
Глава II. Клеточные основы наследственности	12
4. Почему клетку называют элементарной единицей жизни?.....	12
5. Что такое клеточный цикл?	14
6. Что такое кариотип?.....	16
7. Какие методы используют для идентификации хромосом?.....	17
8. Как происходит митоз?.....	19
9. Что такое мейоз?	20
10. В чём заключается генетическая сущность митоза и мейоза?	22
11. Каковы основные отличия хромосом прокариотов и эукариотов?.....	23
12. Сколько молекул ДНК содержится в хромосоме?....	25
13. Каким образом организован генетический материал в хромосомах?.....	26
14. Что такое эухроматин и гетерохроматин?	27
15. Какие виды активного хроматина существуют?	28
16. Что такое политенные хромосомы, хромосомы типа «ламповых щёток»?	29
Глава III. Менделизм	31
17. Кто является основоположником генетики?	31
18. В чем заключается сущность метода Г. Менделя?.....	32

19. Какие основные законы наследования установил Мендель?	33
20. Что является причиной проявления альтернативных признаков с точки зрения молекулярной генетики?	37
21. Существуют ли отклонения от классического менделевского расщепления?.....	38
22. Что такое анализирующее скрещивание?	39
23. Какой тип наследственности называется промежуточным?	40
24. Как установить характер расщепления признаков в F ₂ ?	41
25. Для чего используется критерий χ^2 ?	42
26. В чем различия понятий «наследственность» и «наследование»?	44

Глава IV. Наследование при неаллельном

взаимодействии генов

27. Что такое комлементарность и новообразование?	46
28. Что такое эпизгаз?	48
29. Что такое полимерия?.....	49
30. Может ли один ген влиять одновременно на несколько признаков организма?	51
31. Что такое гены-модификаторы?.....	52

Глава V. Генетика пола. Наследование признаков,

сцепленных с полом

32. Какие существуют типы определение пола?	54
33. Почему рождается одинаковое число особей мужского и женского пола?	55
34. Какую роль выполняет хромосомный аппарат в определении пола?	55
35. Что такое половой хроматин?	57
36. Что такое балансовая теория определения пола?.....	58
37. Какие признаки называются сцепленными с полом?....	59

38. Каковы особенности наследования признаков сцепленных с полом при гетерогаметности мужского или женского пола?	60
39. Какие наследственные болезни человека сцеплены с полом?.....	62
40. Какие признаки называются ограниченными полом и зависимыми от пола?.....	62
41. Как наследуются признаки при нерасхождении половых хромосом?.....	63
42. Что такое компенсация доз генов?.....	65
43. Что такое гинандроморфизм?	65

Глава VI. Сцепленное наследование и кроссинговер.....67

44. Какие признаки называются сцепленными? Как они наследуются?.....	67
45. Что такое кроссинговер? Какой опыт Моргана доказал генетическую сущность перекреста хромосом?	68
46. В чём сущность и значение хромосомной теории наследственности? Кто является её автором?.....	71
47. Кем и когда были получены цитологические доказательства кроссинговера?	71
48. Что доказывает линейное расположение генов в хромосоме?	72
49. Как создаются цитологические карты хромосом?	73
50. Как составляются генетические карты хромосом?	75
51. Существует ли соответствие между размером генома и частотой кроссинговера?	76
52. Как учитывать кроссинговер у гаплоидных организмов?.....	77
53. Что такое множественный кроссинговер?	78
54. Что такое интерференция?	79
55. Что такое соматический (митотический) кроссинговер?.....	80
56. Какие факторы влияют на кроссинговер?	82
57. Как объясняются механизмы кроссинговера?.....	83

Глава VII. Молекулярные основы наследственности.....	85
58. Какие свойства характерны для генетического материала?	85
59. Какие опыты выявили трансформирующую активность ДНК?	86
60. Какую структуру имеют нуклеиновые кислоты? На основании каких данных Уотсоном и Криком была представлена модель структуры ДНК?.....	88
61. Каковы основные различия в химическом строении РНК и ДНК?.....	91
62. Каково современное представление о гене?.....	92
63. Для чего используют цис-транс-тест?	94
64. Что является главной особенностью генома эукариот?	95
65. Каковы различия между прокариотами и эукариотами по числу и размерам репликаонов?	96
66. Какие особенности генома отличают прокариотов и эукариотов?.....	97
67. Какая часть генома эукариот является кодирующей?...	98
68. Какие элементы генома называются мобильными?.....	99
69. Какие эксперименты доказывают полуконсервативный механизм репликации ДНК?	100
70. Как происходит репликация ДНК?	102
71. Какие ферменты участвуют в репликации ДНК?.....	104
72. Каковы основные свойства генетического кода?	105
73. Каким образом информация, заложенная в ДНК, реализуется при синтезе белка?	106
74. Какие типы РНК встречаются в клетках? Каковы их функции?.....	107
75. Как осуществляется транскрипция ДНК у прокариотов и эукариотов?.....	109
76. Каковы этапы транскрипции?	110
77. Что такое сплайсинг про-иРНК?	111
78. Какую структуру имеют белки?.....	112
79. Какие функции выполняют белки?	113

80. Что такое трансляция?	114
81. Каковы этапы трансляции?	116
82. Какие основные методы используются для изучения структуры нуклеиновых кислот?	117

Глава VIII. Механизмы генетической рекомбинации у бактерий..... 119

83. Какова роль исследований по генетике микроорганизмов в развитии генетики?.....	119
84. Как устроена генетическая система микроорганизмов?.....	120
85. Как происходит рекомбинация у микроорганизмов?.....	122
86. Что такое трансформация?	123
87. Что такое трансдукция?.....	124
88. Что такое конъюгация?.....	125
89. Какие половые типы обнаружены у бактерий?	126
90. Какие мигрирующие генетические элементы (МГЭ) встречаются у бактерий?.....	127
91. Что такое бактериофаги? Какова их структура и жизненный цикл?	129
92. Каковы особенности и значение плазмид?	131

Глава IX. Нехромосомное наследование 134

93. Какие существуют доказательства цитоплазматической наследственности?	134
94. Какие критерии используются для отличия внеядерной наследственности от хромосомной?....	135
95. Что такое цитоплазматическая мужская стерильность?.....	136
96. Какую структуру имеет геном хлоропластов?	138
97. Какую структуру и функцию имеет митохондриальный геном?.....	139
98. Что такое эндосимбионты? Каковы их функции?	140

Глава X. Изменчивость генетического материала	142
99. Какие типы изменчивости существуют?	142
100. В чем суть мутационной теории? Кто является ее автором?	143
101. По какому принципу классифицируются мутации?	143
102. Можно ли классифицировать мутации по их фенотипическому проявлению?	144
103. Каковы причины возникновения спонтанных мутаций?	145
104. В чем суть закона гомологических рядов наследственной изменчивости Н.И.Вавилова?	146
105. Чем отличается наследование соматических мутаций от наследования генеративных мутаций? ..	148
106. Может ли восстанавливаться дикий генотип у мутантных форм?	149
107. Какие существуют методы учёта мутаций?	150
108. Что такое множественный аллелизм?	151
109. В чём причины возникновения генных мутаций?	152
110. Все ли повреждения ДНК реализуются в виде мутаций?	153
111. Какие изменения вызывают миссенс-мутации?	154
112. Какие изменения вызывают нонсенс-мутации?	155
113. Какие структурные изменения происходят в хромосомах?	155
114. Что такое полиплоидия?	157
115. Какие существуют формы полиплоидии? В чём разница между автополиплоидией и аллополиплоидией?	158
116. Почему полиплоидия у животных встречается редко?	159
117. Что такое полиплоидный ряд?	160
118. Как происходит мейоз у автополиплоидов?	161
119. Как экспериментально получить полиплоиды?	162

120. Как используется полиплоидия в улучшении растений?	163
121. Каковы особенности и значение гаплоидии?	164
122. Что такое гетероплоидия? Каково её значение?.....	165
123. Для чего необходимо изучение модификационный изменчивости?	166
124. От чего зависит характер модификаций?	167
125. Что такое норма реакции?	168
126. Каковы основные различия между модификациями и мутациями?	169
127. Какие виды ионизирующих излучений являются мутагенными?.....	170
128. Какие физические факторы обладают мутагенным действием?.....	171
129. Каково основное положение теории мишени?	172
130. Каково косвенные действие ионизирующих излучений на генетический аппарат?	174
131. Какие вещества относятся к химическим мутагенам?.....	174
132. Каково отличие мутагенного действия нуклеиновых кислот?	175
133. В чем заключается мутагенное действие вирусов? ...	176
134. Какие повреждения нуклеиновых кислот, проявляются в виде мутаций?.....	177
135. Каково теоретическое и практическое значение работ по искусственному мутагенезу?	178
136. Какие соединения обладают антимутагенным действием?.....	179

Глава XI. Регуляция активности генов..... 181

137. Что такое оперон? Кто предложил модель оперона?.....	181
138. Что такое индукция и репрессия генов?	183
139. Как осуществляется регуляция работы генов?.....	184

140. Как происходит регуляция генов у вирусов и прокариот?.....	185
141. Каковы пути регуляции экспрессии эукариотических генов?.....	186
142. Как осуществляется групповая регуляция генов у эукариотов?.....	187
143. Какие примеры свидетельствуют о многообразии способов реализации генетической информации? ...	189
144. Какие регуляторные элементы контролируют транскрипцию?.....	190
Глава XII. Генетика онтогенеза.....	191
145. Что является генетической основой развития?	191
146. Каковы общие закономерности изменения активности генов в онтогенезе?.....	192
147. Определяет ли каждый ген только один признак организма?	194
148. Может ли множество генов влиять на один признак?	195
149. Что такое генный баланс?	196
150. Что такое дифференцировка и детерминация?.....	197
151. Кем были получены экспериментальные данные, объясняющие механизмы дифференцировки?.....	198
152. Почему происходит избирательное размножение и гибель клеток?	199
153. Что такое апоптоз?.....	200
154. Что такое пенетрантность и экспрессивность генов?.....	202
155. Какую роль играет генотип в развитии особенностей поведения?.....	203
Глава XIII. Генетика популяций.....	205
156. Что такое популяция?	205
157. О чем гласит закон Харди-Вайнберга?	206

158. Какие факторы оказывают действие на генетическую изменчивость популяции?	208
159. Можно ли использовать закон Харди-Вайнберга для подсчёта нескольких аллелей?	209
160. Можно ли рассчитывать частоты гетерозигот по закону Харди-Вайнберга?	210
161. Наследуются ли признаки, сцепленные с полом в соответствии с законом Харди-Вайнберга?	211
162. Что такое естественный отбор?	211
163. Какова роль мутаций в изменении генетической структуры популяций?	213
164. Что такое дрейф генов?	214
165. Какое значение имеет генетическая гетерогенность природных популяций?	215
166. В чем сущность и значение генетического полиморфизма?	216
167. Что такое инбридинг?	217

Глава XIV. Генетика и эволюция.....219

168. Какие формы естественного отбора являются главными?	219
169. Можно ли генетическими методами доказать роль естественного отбора?	220
170. Что является доказательством реальности эволюции?	222
171. Каково значение генных мутаций в эволюции?	224
172. Какова роль геномных мутаций в эволюции растений?	225
173. Какую роль сыграли хромосомные перестройки в эволюции?	227
174. Существуют ли молекулярные часы эволюции?	227
175. Как происходили количественные изменения ДНК в процессе эволюции?	228
176. Какое минимальное количество генов необходимо для того, чтобы организм был жизнеспособным?	229

177. Какое значение имеет определение первичной структуры белков в изучении филогении видов?	230
178. Как определяется нуклеотидная последовательность генов?	232
179. Можно ли оценить генетические различия по гибридизации ДНК?	232
180. Что отличает геномы архей от истинных бактерий?	233
181. Что является характерной особенностью генома эубактерий?	234
182. Какие общие черты характеризуют геном эукариотов?.....	234
Глава XV. Генетические основы селекции	236
183. Какие системы отбора применяют в селекционной работе?	236
184. Что такое инбредная депрессия?	237
185. Как используется инбридинг в практических целях?.....	238
186. Что такое гетерозис, каковы причины его возникновения?.....	239
187. Как используется гетерозис в практике?	240
188. В чём трудности отдалённой гибридизации? Почему бесплодны отдалённые гибриды?.....	242
189. Как вычисляется коэффициент наследуемости?	242
190. Как наследуются количественные признаки?	244
191. Каково практическое значение отдаленной гибридизации?.....	245
Глава XVI. Генетика человека	247
192. В чем биосоциальная сущность человека?	247
193. В чем трудности изучения человека как объекта генетики?	248
194. Какое значение имеет применение генеалогического метода?.....	249

195. С какой целью используется близнецовый метод? ...	251
196. Какую информацию дает цитогенетический метод?	254
197. Что такое тельце Барра, или половой хроматин? ...	256
198. Какую информацию дает популяционно-статистический метод?	256
199. Что изучает иммуногенетика? Как осуществляется синтез антител?	258
200. Какое строение имеют молекулы иммуноглобулинов? Как определяется их специфичность?	259
201. В чем причина разнообразия синтезируемых организмом антител?.....	260
202. Как определяется система эритроцитных групп человека?	262
203. Что такое резус-фактор и как он наследуется?.....	263
204. Как характеризуется мутационный процесс у человека?	264
205. Какие факторы окружающей среды оказывают повреждающее действие на генотип человека?	265

Глава XVII. Медицинская генетика267

206. На какие основные типы подразделяются наследственные болезни человека?	267
207. Что такое генетический груз?.....	268
208. К чему приводят наследственные дефекты обмена веществ?	269
209. Какие болезни можно отнести к группе молекулярных наследственных заболеваний?.....	271
210. Какие наследственные болезни связаны с дефектами репарации?.....	272
211. Какие наследственные болезни возникают в связи с изменением числа и структуры половых хромосом?.....	272
212. Какие наследственные болезни возникают у человека в результате анеуплоидии?	274

213. Существуют ли болезни человека, связанные с дефектами митохондриальной ДНК?.....	276
214. В чем причина возникновения опухолей?	278
215. Какие свойства характерны для злокачественной опухоли?	279
216. Что такое онкогены? Какова роль протоонкогенов <i>c-onc</i> в превращении в онкогены?	280
217. Какую роль выполняют гены-супрессоры опухолей?.....	281
218. Для чего существует контроль клеточного цикла? ...	282
219. Что такое «гены предрасположенности»?	283

Глава XVIII. Биотехнология – достижения и

перспективы.....	285
220. Каковы результаты опытов по трансгенезу?	285
221. Какие генетически – инженерные работы осуществляются на уровне хромосом и геномов?	287
222. Какую роль сыграло создание молекул рекомбинантной ДНК в развитии генной инженерии?	288
223. Как создаются рекомбинантные ДНК?	289
224. Как встраивается чужеродная ДНК в геном другого организма?	290
225. Какие ферменты и векторы используются для клонирования ДНК?.....	291
226. Какие клеточные культуры используют для клонирования ДНК?.....	293
227. Как создаются геномные библиотеки? Что такое банк генов?.....	294
228. Каковы основные направления в биотехнологии растений?	295
229. С какой целью создаются трансгенные животные?.....	296
230. Как используется биотехнология микроорганизмов?	297

231. В чем значение разработки новых вакцин?	298
232. Как был создан проект «Геном человека»?	300
233. Можно ли исправить генетический дефект при помощи генной инженерии?	301
234. Для чего используется генная терапия?.....	302
235. Как осуществляется искусственный синтез генов?	304
236. В чем заключается стратегия картирования и секвенирования генома человека?	305
237. Что такое тотипотентность генома?.....	306
238. Каковы успехи и перспективы клонирования?	307
239. Какие методы используются для диагностики наследственных болезней?.....	308
240. Как используются молекулярные маркеры в криминалистике?.....	310

Глава XIX. Консервативная генетика312

241. Что изучает консервативная генетика?.....	312
242. В чем опасность потери биологического разнообразия?	313
243. Какие факторы влияют на биоразнообразие?.....	314
244. Что такое генетическое разнообразие?	315
245. Как определяется генетическое разнообразие в популяции?	316
246. Каковы критические размеры популяции?.....	317
247. Каковы причины повышающие риск вымирания видов?	318
248. Что такое генетическое эрозия?	321
249. Как сохранить генетическое разнообразие видов?....	322
250. С какой целью используются банки генов?.....	323

Рекомендуемая литература325

**ЭЛЛАДА МИРАЛИ кызы АХУНДОВА
САМИРА ДЖАФАР кызы САЛАЕВА**

**ГЕНЕТИКА
В ВОПРОСАХ И ОТВЕТАХ
(250 ВОПРОСОВ И ОТВЕТОВ)
БАКУ-2019**

Подписано в печать: 07.02.2019
Формат: 60x90 1/16. Объём: 22.
Заказ: 25. Тираж: 500.

Отпечатано в типографии



**POLYGRAPHIC
PRODUCTION**

Tel: 447-75-05, Faks: 447-75-04