

ФГБОУ ВО НОВОСИБИРСКИЙ ГАУ

АГРОНОМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра селекции, генетики и лесоводства

ХРОМОСОМНАЯ ТЕОРИЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

**Методическое пособие
для практических занятий и самостоятельной работы**



Новосибирск 2015

Кафедра селекции, генетики и лесоводства

Составитель: к.с.-х.н., доцент *И.В. Кондратьева*

Рецензент: д-р биол. наук, *проф. М.Л. Кочнева*

Хромосомная теория наследственности: метод. пособие для практических занятий и самостоятельной работы /составитель: И.В. Кондратьева / Новосиб. гос. аграр. ун-т. – Новосибирск, 2015. – 64 с.

Предназначено для подготовки студентов, обучающихся по направлению подготовки 35.03.04 Агрономия, 35.03.03 Агрохимия и агропочвоведение, 35.03.01 Лесное дело.

Утверждены и рекомендованы к изданию учебно-методическим советом агрономического факультета (протокол № 13 от 25.12. 2015 г.).

© ФГБОУ ВО НОВОСИБИРСКИЙ ГАУ, 2015

ВВЕДЕНИЕ

Открытые Г. Менделем в 1865 г. закономерности наследования нельзя было связать с какими-то конкретными структурами в гаметах, с помощью которых наследственные факторы могли бы передаваться от родителей потомкам.

После вторичного открытия законов Менделя (1900) быстро развивались исследования по формальной генетике. К этому времени и в цитологии были сделаны важные открытия, которые позволили установить связь между законами Менделя и процессами, сопровождающими деление клеток. В 1872 г. И.Д. Чистяковым открыто митотическое деление ядра. В 1875 г. немецкий биолог О. Гертвиг описал слияние яйцеклетки и спермия морского ежа. В 1887 г. В. Флемминг и Э. Ван Бенеден описали редукционное деление – мейоз. В 1888 г. В. Вальдейр ввел и широкое употребление термин «хромосома». К моменту переоткрытия законов Менделя Вейсманом была сформулирована ядерно-хромосомная гипотеза наследственности. Первое ее подтверждение получил Бовери (Германия) в 1902 г., который показал индивидуальность и дифференциальную роль хромосом в наследовании и реализации признаков.

В 1902 г. Уильям Сэттон (США), изучая мейоз у кузнечика, отметил удивительное сходство между поведением хромосом во время образования гамет и оплодотворения и передачей менделевских наследственных факторов (табл. 1).

Параллелизм в поведении генов и хромосом в процессе образования гамет и оплодотворения послужил обоснованием хромосомной гипотезы, а в дальнейшем – хромосомной теории наследственности, согласно которой гены расположены в хромосомах. У. Сэттоном были высказаны мысли и об ограниченности закона независимого наследования признаков: «если хромосомы постоянно сохраняют свою индивидуальность, то тогда все аллеломорфы, представленные в одной хромосоме, должны наследоваться вместе».

Таблица 1 - Соответствие между событиями, происходящими при мейозе и оплодотворении, и гипотезами Менделя

Мейоз и оплодотворение	Гипотезы Менделя
Диплоидные клетки содержат <i>пары гомологичных хромосом</i>	Признаки контролируются <i>парами факторов</i>
<i>Гомологичные хромосомы расходятся</i> во время мейоза	<i>Парные факторы разделяются</i> при образовании гамет
В каждую гамету попадает <i>одна из гомологичных хромосом</i>	Каждая гамета получает <i>один из пары факторов</i>
Только <i>ядро</i> мужской гаметы сливается с ядром яйцеклетки	Факторы передаются из поколения в поколение как <i>дискретные единицы</i>
При оплодотворении <i>пары гомологичных хромосом</i> восстанавливаются: каждая гамета (мужская или женская) вносит <i>одну из гомологичных хромосом</i>	Каждый организм наследует по <i>одному фактору</i> от каждой из родительских особей

Экспериментально хромосомная теория была доказана Томасом Хантом Морганом, лауреатом Нобелевской премии, и его сотрудниками на плодовой мушке *Drosophila melanogaster*. Впервые Томас Морган (1910) и Кальвин Бриджес (1916) обнаружили соответствие между поведением конкретного гена и конкретной хромосомы.

1. ХРОМОСОМЫ И НАСЛЕДОВАНИЕ ПОЛА

Хромосомная теория позволила решить важную биологическую проблему – проблему пола, причину рождения особей мужского и женского пола.

Пол – совокупность морфологических и физиологических особенностей организма, обеспечивающих половое размножение, сущность которого сводится к оплодотворению, т. е. слиянию мужских и женских половых клеток (гамет) в зиготу, из которой развивается новый организм. Половое размножение, обеспечивая рекомбинацию родительских наборов генов, создает большие возможности для приспособления организмов к изменяющимся

условиям внешней среды. Происходит накопление вредных мутаций в одном геноме и их последующая элиминация.

Пол, как и любой другой признак, наследственно детерминирован.

Исследования по цитологии половых различий показали, что у раздельнополых организмов у одного из полов по одной паре хромосом обнаруживается гетероморфизм – хромосомы неодинаковы по размеру и форме (нарушается правило гомологичности парных хромосом) или одна из хромосом диплоидного набора не имеет пары. Одна из хромосом гетероморфной пары носит название X-хромосомы, а другая Y-хромосомы. У особей другого пола эта пара представлена двумя X-хромосомами, которые тождественны единственной X-хромосоме гетероморфной пары. Данные хромосомы ответственны за определение пола и названы **половыми хромосомами**. Одинаковые у обоих полов хромосомы называются **аутосомами** (A).

У дрозофилы (*Drosophila melanogaster*) четыре пары хромосом ($2n=8$).

II, III, IV пары хромосом идентичны у обоих полов – это аутосомы, а I-я пара, состоящая из одинаковых хромосом у самки (XX), и гетероморфная у самца (XY) – это половые хромосомы.

$$\text{♀ } 2n \quad 8 = 6 A + XX - \text{гомогаметный пол}$$

$$\text{♂ } 2n \quad 8 = 6 A + XY - \text{гетерогаметный пол}$$

В мейозе у самок две X-хромосомы конъюгируют, образуя пару, и при расхождении их каждая гамета содержит одну X-хромосому. Самки образуют гаметы только одного типа. Пол, формирующий один тип гамет, называется **гомогаметным**.

У самцов в мейозе X-хромосома конъюгирует с Y-хромосомой за счет гомологичных участков. В результате такой конъюгации и последующего расхождения к разным полюсам веретена деления образующиеся мужские гаметы содержат в одном случае X-, а в другом Y-хромосому. Самцы образуют гаметы двух типов в равном соотношении.

Пол, который продуцирует гаметы двух типов, называется **гетерогаметным**.

В большинстве случаев гомогаметным является женский пол.

Механизм определения пола, связанный с присутствием или отсутствием Y-хромосомы, определяющей дифференциацию эмбриональной гонады и, в дальнейшем, фенотипический пол организма, называют генетическим (GSD). Существует механизм определения пола, основанный на контролирующей роли факторов внешней среды (ESD) или определяемый соотношением половых хромосом и аутосом (CSD).

1.1. Наследование признаков, сцепленных с полом

Помимо функции определения пола, половые хромосомы выполняют и другие функции, так как в них локализованы гены, влияющие на разные системы органов, не имеющие отношения к дифференциации пола.

Признаки, детерминируемые (контролируемые) генами, локализованными в половых хромосомах, имеют характер наследования, отклоняющийся от менделевского.

Гены половых хромосом можно разделить на три группы:

1. Гены, локализованные только в X-хромосоме и отсутствующие в Y-хромосоме. Признаки, детерминируемые этими генами, называются **сцепленными с X-хромосомой**, обычно их называют **сцепленными с полом**. Для человека таких признаков описано более 200 (дальтонизм, гемофилия и др.).

2. Гены, локализованные только в Y-хромосоме. Признаки, детерминируемые этими генами, называют **голандрическими**. У видов, самцы которых гетерогаметны, Y-хромосома всегда передается от отца к сыну, поэтому и гены передаются исключительно от отца к сыну и проявляются у самцов. Примеры голандрических признаков: у живородящей рыбки лебистуса (гуппи) темное пятно на спинном плавнике, ген ингибитор пятнистости

листьев; у человека – гены, контролирующие развитие волосяного покрова по краю ушной раковины (гипертрихоз); перепончатобразное сращение второго и третьего пальцев на ноге (синдактилия); ген SRY (Sex determining Region Y gene), индуцирующий развитие индифферентных гонад в яички, которые в дальнейшем продуцируют гормоны, необходимые для полного развития мужского генотипа.

3. Гены, аллели которых имеются как в X-, так и в Y-хромосомах, на гомологичных участках которых идет кроссинговер. Признаки, детерминируемые этими генами, называются **частично сцепленными с полом**. Например, у дрозофилы рецессивная мутация *bobbed* (*bb*) – короткие щетинки. Наследование их не отличается от признаков, гены которых локализованы в аутосомах (неполовых хромосомах).

При частичном сцеплении с полом в F₁ обнаруживается единообразие в реципрокных скрещиваниях, и такой тип наследования обнаруживается только по особенностям расщепления в F₂. В F₂ расщепление наблюдается в соотношении 3:1, но 1/4 особей с рецессивным признаком всегда будет одного пола, причем того, который обладал в исходном скрещивании рецессивным признаком (рис.1).

$P \quad \text{♀} \frac{A}{A} \times \text{♂} \frac{a}{a}$	$P \quad \text{♀} \frac{a}{a} \times \text{♂} \frac{A}{A}$
$F_1 \quad \text{♀} \frac{A}{a} ; \text{♂} \frac{A}{a}$	$F_1 \quad \text{♀} \frac{A}{a} ; \text{♂} \frac{a}{A}$
$F_2 \quad \text{♀} \frac{A}{A} \text{♀} \frac{A}{a} \text{♂} \frac{A}{a} \text{♂} \frac{a}{a}$	$F_2 \quad \text{♀} \frac{A}{a} \text{♀} \frac{a}{a} \text{♂} \frac{a}{A} \text{♂} \frac{A}{A}$
$\frac{3}{4} A : \frac{1}{4} a (\text{♂})$	$\frac{3}{4} A : \frac{1}{4} a (\text{♀})$

Рис. 1. Схема скрещивания, иллюстрирующая наследование признака, частично сцепленного с полом

Наследование, сцепленное с X-хромосомой, было обнаружено у дрозофилы Т. Морганом, изучавшим наследование белой и красной окраски глаз.

1.2. Особенности наследования признаков, сцепленных с X-хромосомой

Наследование признаков, сцепленных с X-хромосомой, имеет следующие особенности:

1. Различие результатов реципрокных скрещиваний. Наблюдаемые фенотипы и их соотношения среди сыновей и дочерей в данных скрещиваниях разные.
2. Наследование крисс-кросс («крест-накрест»), когда самцы наследуют признаки матери, а самки – признак отца.

Данные особенности наследования признаков объясняются следующим:

1. Ген расположен в половой X-хромосоме;
2. Половая Y-хромосома не содержит соответствующего аллеля, т. е.

является генетически инертной в отношении данного гена.

Если самки имеют половые хромосомы XX (гомогаметный пол), то одну из них они получают от отца, а другую от матери и передают свои X-хромосомы как дочерям, так и сыновьям. Самцы, имеющие половые хромосомы XY (гетерогаметный пол), получают свою единственную X-хромосому от матери и передают ее лишь дочерям. Такой механизм передачи половых хромосом и определяет характер наследования признаков, гены которых локализованы в X-хромосоме. Поэтому во всех случаях, когда в Y-хромосоме не содержится аллеля гена, имеющегося в X-хромосоме, у самцов будет проявляться любой из аллелей, расположенных в той единственной X-хромосоме, которую сыновья получают от матери.

Так, у дрозофилы пара аллелей W - w , определяющая соответственно красный (W) и белый (w) цвет глаз, локализована в X-хромосоме. У красноглазых самок ген может находиться либо в гомозиготном (WW), либо в

гетерозиготном (Ww) состоянии, тогда как у белоглазых самок ген будет находиться в гомозиготном (ww) состоянии.

Фенотип	красноглазые		белоглазые
Генотип	$X^W X^W$	$X^W X^w$	$X^w X^w$
Состояние гена	гомозиготное	гетерозиготное	гомозиготное

Данная схема показывает, что аллель w , находящийся у самок в гетерозиготном состоянии ($X^W X^w$), не проявляется.

У самцов дрозофилы гены, имеющиеся в X-хромосоме, но отсутствующие в Y-хромосоме, характеризуются гемизиготным состоянием, поэтому рецессивный аллель w , обуславливающий белую окраску глаз, сразу будет фенотипически проявляться, так как Y-хромосома не содержит доминантного аллеля (W), который мог бы подавить действие рецессивного аллеля (w).

Фенотип	красноглазые	белоглазые
Генотип	$X^W Y$	$X^w Y$
Состояние гена	гемизиготное	гемизиготное

1.3. Наследование признаков, сцепленных с полом, у человека

Болезни с X-сцепленным рецессивным типом наследования. При редко встречающихся болезнях с этим типом наследования женщины практически всегда гетерозиготны, т.е. они фенотипически нормальны (здоровы) и являются носителями. Чаще больными бывают мужчины.

К X-сцепленным рецессивным болезням относятся умственная отсталость с ломкой X-хромосомой, гемофилия, дальтонизм, мышечная дистрофия Дюшенна, синдром Хантера (мукополисахаридоз II типа), синдром Леша-Нихена (табл.2).

Мышечная дистрофия Дюшенна – один из примеров рецессивного летального гена и часто встречаемых дефектов. Частота встречаемости

заболевания - 3 на 10000 живорожденных мальчиков. Очень высока пенетрантность, заболевание может прослеживаться в нескольких поколениях семьи.

Характерно раннее начало заболевания в возрасте 3-5 лет, в дальнейшем приводящее к нарастающей дегенерации мышц. Процесс атрофии мышц постепенно приобретает восходящее направление: мышцы бедра, тазовый пояс, плечевой пояс руки. Внешне мышцы кажутся гипертрофированными за счет замещения мышечной ткани соединительной и жировой тканями. Затем развиваются обездвиженность, контрактуры суставов, симптомы нарушения сердечной деятельности. На самой последней стадии атрофия затрагивает мышцы лица, глотки и дыхательные мышцы. При раннем начале заболевания на втором десятилетии жизни может последовать летальный исход.

Дистрофия Дюшенна вызвана мутацией в гене, ответственном за синтез белка дистрофина, находящегося в больших количествах в области сарколеммы и поддерживающего, по-видимому, целостность мембран. Структурные изменения в сарколемме приводят к дегенерации цитоплазматических компонентов, усиленному входу калия внутрь волокон, что вызывает гибель миофибрилл. Установлена повышенная активность ряда мышечных ферментов, особенно креатинфосфокиназы (в 10-100 раз). По биохимическим показателям крови, гистологической картине биоптата мышц возможно выявить гетерозиготное носительство патологического гена.

Если репродукция у больных нарушена (мышечная дистрофия Дюшенна), то в родословных отмечается следующее (рис. 2):

1. Больные – только мальчики.
2. Около $\frac{2}{3}$ случаев «происходит» от матерей-носителей, $\frac{1}{3}$ за счет новых мутаций в X-хромосоме матери.
3. У больных мальчиков могут быть больные братья и дяди по матери.
4. Новые мутации являются спорадическими или изолированными случаями.

5. Сестры больных братьев при унаследованных случаях имеют 50%-ю вероятность быть тоже носителями патологического аллеля.
6. Сестры-носители передают ген 50% сыновей (они больные) и 50% дочерей (они носители).

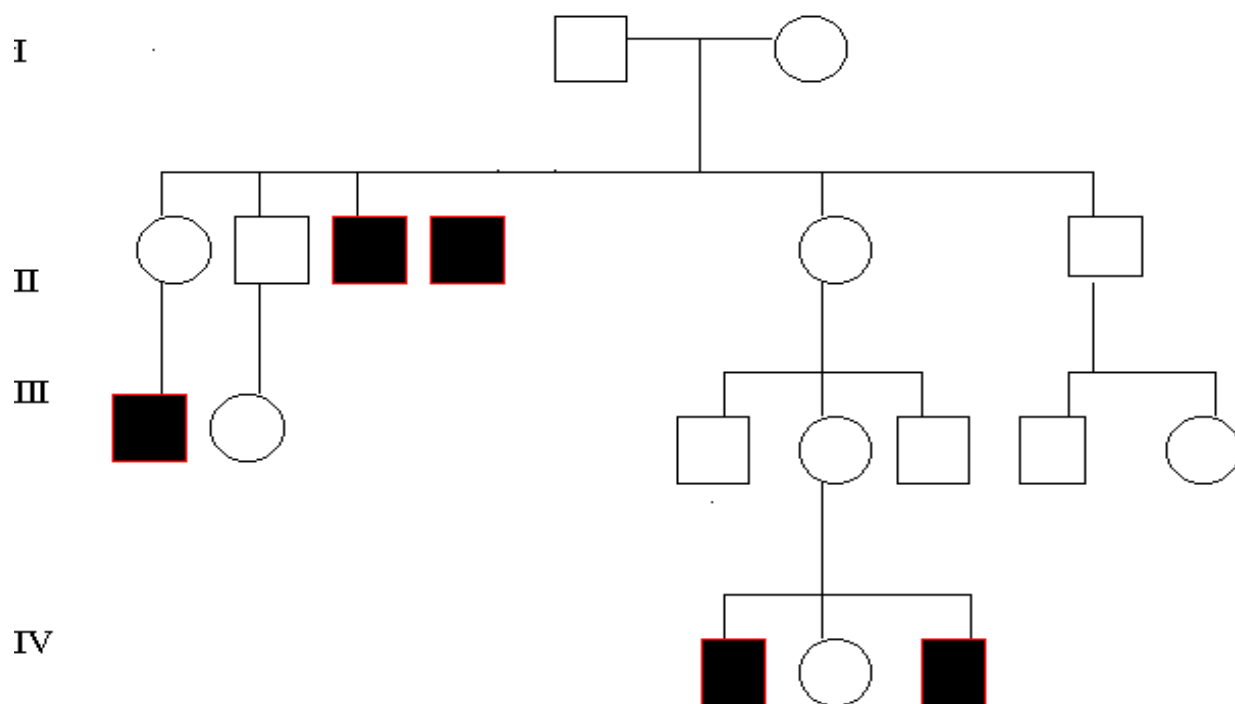


Рис. 2. Родословная с X-сцепленным рецессивным типом наследования болезни (патология нарушает репродукцию – миодистрофия Дюшенна).
 Обозначения на родословных: □ - лицо мужского пола; ○ - лицо женского пола

Если репродукция при болезни не нарушена (гемофилия, недостаточность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы), то наследование характеризуется следующим (рис. 3):

1. Доля унаследованных случаев выше, чем $\frac{2}{3}$.
2. Больные мужчины передают патологический аллель только всем своим дочерям.
3. Все фенотипически нормальные дочери больных мужчин являются носителями.

4. В браке женщины-носителя с больным мужчиной 50 % дочерей – больные, 50 % – носители, 50 % сыновей – больные, 50 % здоровые.
5. Иногда гетерозиготные женщины могут быть больными в связи гетерохроматинизацией хромосомы с нормальным аллелем случайно во всех или почти во всех клетках.

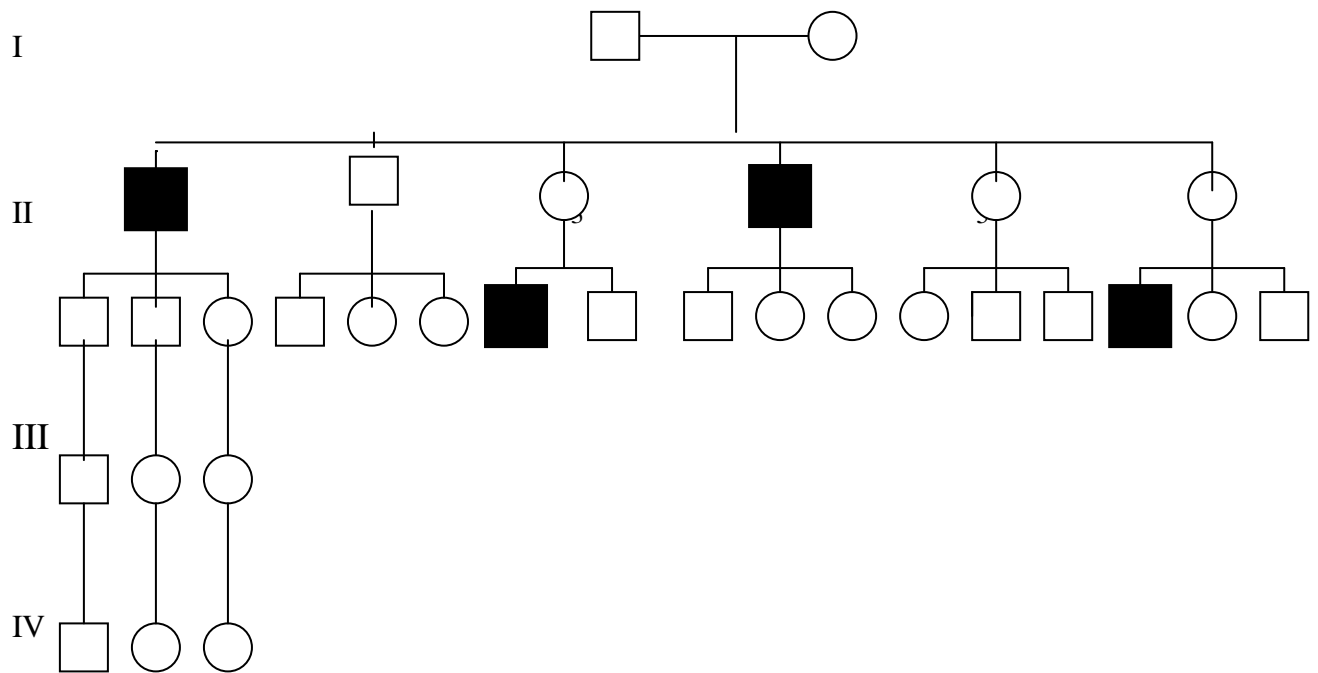


Рис. 3. Родословная с X-сцепленным рецессивным типом наследования болезни (репродукция не нарушена – гемофилия)

Свертываемость крови при повреждении кровеносного сосуда обеспечивается тринадцатью факторами свертываемости (I -XIII). Факторы коагуляции постоянно существуют во внутренней среде организма в неактивной форме, представляя собой неактивированные ферменты или кофакторы ферментов. Процесс коагуляции крови представляет собой ряд последовательных ферментативных реакций. Конечным этапом данного процесса является переход растворимого фибриногена в нерастворимый фибрин с агрегацией тромбоцитов. Для нормального протекания процесса коагуляции необходимо функционирование внутренней системы

(неактивированные компоненты) и внешней системы, действие которой вызвано повреждением стенки сосуда или ткани (рис. 4).

Открыты генетические дефекты практически по всем факторам, заключающиеся либо в снижении синтеза фактора, либо в синтезе структурно измененного белка. Мутация гена, контролирующего фактор VIII (антигемофилический глобулин), приводящая к неактивности этого белка, обуславливает развитие **гемофилии А**. **Гемофилия В** возникает вследствие мутационного дефекта фактора IX (плазменного тромбопластинового компонента).

Гемофилия А – рецессивная мутация, сцепленная с X-хромосомой. Она возникает в результате нарушения гуморального фактора, необходимого для первой стадии свертывания крови – антигемофилического глобулина (фактор VIII). У нормальных индивидов активность этого белка в плазме варьирует от 40 до 300% относительно среднего значения в популяции, принятого за 100 %. У больных гемофилией активность фактора VIII резко снижена или даже полностью отсутствует. У гетерозигот, благодаря инактивации X-хромосомы, определенная часть клеток продуцирует активный фактор VIII, способный обеспечивать свертывание крови и проявлять специфические иммунологические свойства, остальные клетки продуцируют ПРМ (перекрестно реагирующий материал), сохраняющий иммунологические свойства, но утративший способность участвовать в свертывании крови. Таким образом, у гетерозигот активность свертывания крови должна быть снижена приблизительно вдвое по сравнению с нормой.

Частота гемофилии – 1 на 7000 - 10000 мужчин.

Известным случаем наследования гемофилии служит генеалогическая линия, охватывающая несколько королевских семей в Европе, которые восходят к английской королеве Виктории, являвшейся гетерозиготной по гену гемофилии. Трое из ее девяти детей унаследовали этот аллель: сын королевы Виктории страдал гемофилией А, а две дочери были носительницами аллеля гемофилии. Через внучек королевы Виктории рецессивный ген попал в

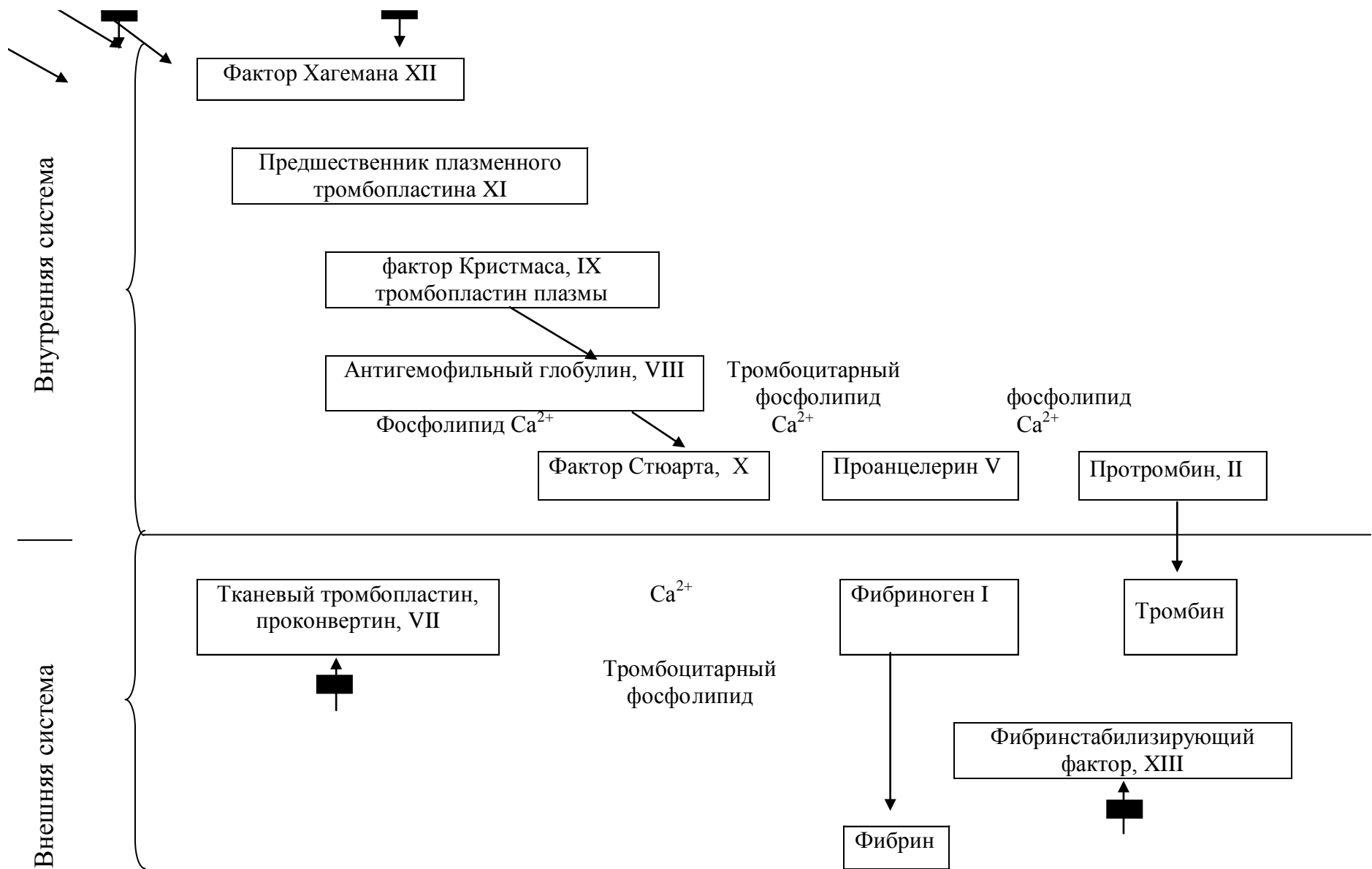


Схема Факторы системы свертывания крови и их генетические дефекты

испанский и русский королевские дома. Среди унаследовавших данное заболевание царевич Алексей – сын последнего русского царя Николая II и Александры Федоровны (внучка королевы Виктории, передавшая ген гемофилии в четвертом поколении бывшему наследнику царского престола). Аномалия проявляется чаще у мужчин, а передача происходит через здоровых носительниц их сыновьям. Среди детей мужчины, имеющего патологический рецессивный признак, сцепленный с X-хромосомой, все сыновья остаются здоровым, а все дочери оказываются носительницами при условии, что мать не обладает данным признаком и не является гетерозиготной носительницей. Затем гетерозиготные дочери передадут ген гемофилии половине своих сыновей. Передача гена, находящегося в X-хромосоме, от отца к сыну невозможна.

Проявление гемофилии у женщины возможно только при условии ее гомозиготности по данному рецессивному гену, т. е. при получении гена гемофилии от каждого из родителей. Это возможно, и такие случаи действительно наблюдались, когда больной гемофилией мужчина женился на женщине – носительнице гена гемофилии. Как и в случае других редких рецессивных признаков, гомозиготность по гену гемофилии более вероятна в случае родственного брака.

Вероятность появления гомозиготы по гемофилии:

частота гемофилии у мужчин $1 \cdot 10^{-4}$ (1/10000),

частота женщин-носительниц $2 \cdot 10^{-4}$ (1/5000),

$$1 \cdot 10^{-4} \cdot 2 \cdot 10^{-4} = 2 \cdot 10^{-8}.$$

Вероятность того, что женщина будет гомозиготной $0,5 \cdot 2 \cdot 10^{-8} = 10^{-8}$.

Известны редкие случаи гемофилии у женщин, которые на самом деле являются гетерозиготными, но у которых тем не менее проявился рецессивный признак.

Лечение гемофилии А осуществляется методом заместительной белковой терапии. Фактор VIII при активности 30-40 % от средней нормы останавливает кровотечение. Такой уровень может быть достигнут

инъекциями этого фактора, концентрат которого готовят из крови человека. Для приготовления достаточных количеств требуемого препарата необходимо большое количество донорской крови. Получение чистого препарата фактора VIII возможно методами генетической инженерии: соответствующий ген клонирован, достигнута его экспрессия (в составе плазмиды) в культуре трансформированных клеток.

Еще одним примером X-сцепленного наследования является нарушение цветового зрения, или **дальтонизм**. Задолго до появления генетики, в конце XVIII- начале XIX в., было установлено, что наследование цветовой слепоты подчиняется определенным закономерным правилам. Ход наследования дальтонизма описан в 1876 г. Горнером. Объяснение наследования цветовой слепоты было дано в 1908 г. Донкастером.

Распространение цветовой слепоты среди мужчин и женщины различно. Дальтонизмом страдают 5-9 % мужчин, среди женщин только 0,4 %.

Способность воспринимать цвета определяется тремя генами X-хромосомы, изменения в которых приводят к нарушениям выработки соответствующих пигментов, что выражается в нарушении воспринимать зеленый (отсутствие или редукция пигмента хлоролаба), красный (эритролаба) или голубой (цианолаба) цвета. Чаще всего встречаются нарушения восприятия зеленого, и как следствие этого – красный и зеленый не могут быть различены – Deutan typ. Нарушение способности воспринимать красный цвет Rot-Shens – Proton-Typ. Среди красно-зеленых дальтоников 75 % составляет Deutan typ и 25 % Proton-Typ. Неспособность воспринимать голубой цвет – Triton typ встречается редко. Наряду с генами X-хромосомы необходимы и другие гены – аутосомный ген, дефект которого приводит к полному дальтонизму.

Болезни с X-сцепленным доминантным типом наследования. В случае сцепленного с X-хромосомой доминантного наследования ген проявляется и у мужчин, и у женщин, причем и те и другие передают заболевание потомству точно так же, как и в случае аутосомно-доминантного

наследования. На первый взгляд, эти два типа родословных сходны, однако на самом деле между ними имеется одно существенное различие. При доминантном наследовании, сцепленном с X-хромосомой, женщина, унаследовав от одного из родителей патологический аллель, является гетерозиготной и передает данный патологический признак половине сыновей и половине дочерей, а мужчина характеризуется гемизиготным состоянием гена и передает такой признак всем дочерям и не передает его ни одному из сыновей.

Одним из наиболее хорошо изученных доминантных признаков, сцепленных с X-хромосомой, является витамин D резистентный рахит (не поддающийся лечению витамином D), или так называемый **гипофосфатемический рахит**. Если рассматривать только состояние костной системы, то получается родословная, не позволяющая сделать сколько-нибудь определенные выводы о характере наследования. Если же в качестве признака, по которому проводится анализ наследования, избрать гипофосфатемию (низкий уровень фосфата в крови), то характер наследования становится совершенно ясным. При всех посемейных исследованиях генетический анализ оказывается тем точнее, чем меньше промежуточных звеньев между первичным действием гена и изучаемым фенотипическим признаком.

Основные характеристики родословных при этом типе наследования следующие (рис. 5):

1. Поражаются и мужчины, и женщины, но больных женщин в 2 раза больше, чем мужчин.
2. Больные женщины в среднем передают патологический аллель 50 % сыновей и 50 % дочерей.
3. Больной мужчина передает патологический аллель всем дочерям и не передает сыновьям, которые получают от отца только Y-хромосому.
4. В среднем женщины (они гетерозиготны) болеют менее тяжело, чем мужчины (они гемизиготны). Болезнь более вариабельна по клиническим проявлениям у гетерозиготных женщин.

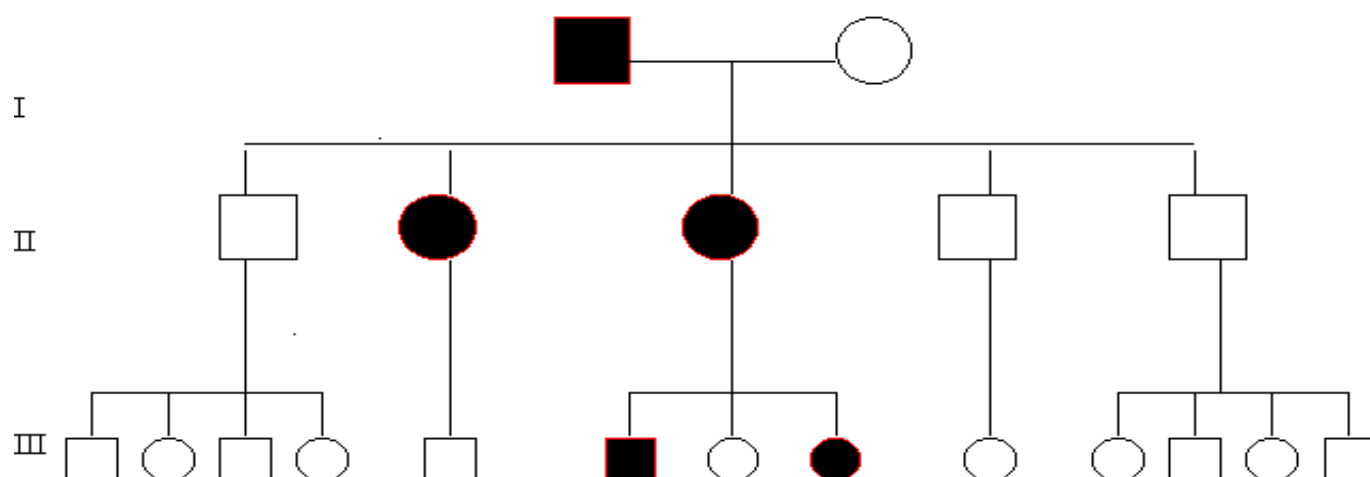


Рис. 5. Родословная с X-сцепленным доминантным типом наследования (витамин D резистентный рахит)

Если болезнь тяжелая и летальна у гемизигот (недержание пигмента, ротолицепальцевой синдром, фокальная кожная гипоплазия), то все мальчики погибают. Больными бывают только девочки.

Таблица 2 - X-сцепленные признаки у человека

Признаки	Состояние
Цветовая слепота, дайтанопия	Врожденное невосприятие зеленого цвета
Цветовая слепота, протанопия	Врожденное невосприятие красного цвета
Болезнь Фабри	Нехватка галактозидазы, поражение сердца и почек, ранняя смерть
Нехватка Г-6-ФДГ	Нехватка глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, приводит к тяжелой анемии
Гемофилия А	Классическая форма несвертываемости крови, связанная с нехваткой фактора свертываемости крови VIII
Гемофилия В	Болезнь Кристмаса; обусловлена нехваткой фактора свертываемости крови IX
Синдром Хантера	Болезнь накопления мукополисахаридов, вызванная нехваткой фермента идуронатсульфатазы, что приводит к низкорослости, клешнеобразной форме пальцев, грубым чертам лица, медленно прогрессирующему слабоумию и

Ихтиоз	глухоте
Синдром Леша-Нихена	Нехватка фермента стероидной сульфатазы приводит к сухости и шелушению кожи, особенно на конечностях
Мышечная дистрофия Дюшенна	Нехватка гипоксантин-гуанинфосфорибозил-1-трансферазы приводит к накоплению в крови и тканях мочевой кислоты, задержке умственного развития, параличу и поражению губ и пальцев, ранней смерти
	Нехватка белка дистрофина приводит прогрессирующей дегенерации мышечной ткани и мышечной слабости, иногда связана с умственной отсталостью, исход летальный

Y-сцепленный тип наследования. Для Y-сцепленного наследования характерно то, что признак передается всем мальчикам (рис. 6).

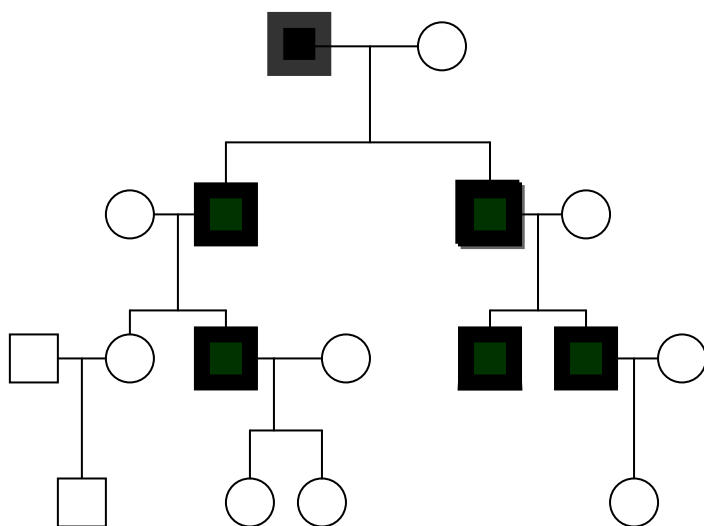


Рис. 6. Родословная с Y-сцепленным типом наследования

В Y-хромосоме локализовано несколько генов: детерминирующий развитие семенников, отвечающий за сперматогенез (фактор азооспермии), за проявление антигена гистонесовместимости, контролирующей интенсивность роста тела, конечностей и зубов, определяющий оволосение ушной раковины. Патологические мутации, затрагивающие формирование семенников или сперматогенез, наследоваться не могут вследствие стерильности индивидов.

1.4. Признаки, ограниченные полом и зависимые от пола

Кроме признаков, сцепленных с полом, гены которых находятся в X- и Y-хромосомах, существуют признаки, **ограниченные полом и зависимые от пола (или контролируемые полом)**.

К признакам, ограниченным полом, относятся признаки, которые проявляются только у одного пола, несмотря на то, что гены, определяющие развитие этих признаков, имеются у обоих полов, находятся как в половых хромосомах, так и в аутосомах. Понятие «ограниченные полом признаки» не связано с механизмом их наследственной передачи.

Примерами таких признаков могут служить содержание жира в молоке крупного рогатого скота, яйценоскость у кур и т.д. У человека это гены, определяющие ширину таза (проявляются только у женщин), возраст полового созревания у девочек, количество и распределение волосяного покрова у мужчин. Гены этих признаков расположены в аутосомах обоих полов.

Признаками, зависимыми от пола, называются признаки, характер доминирования которых зависит от пола, они по-разному проявляются при одном и том же генотипе у мужчин и женщин. Например, раннее облысение у мужчин наблюдается при генотипе *HH* и *Hh*, у женщин – только при генотипе *HH*. Даже при появлении признака частичного облысения у женщин (*HH*) облысение проявляется в меньшей степени и в более позднем возрасте. Женщины генотипа *Hh* будут иметь нормальный фенотип, т. е. у мужчин ген (*H*) доминирует, а у женщин нет. Только в гомозиготном состоянии и доминантные и рецессивные гены у обоих полов проявляются одинаково. Если в семье отец имеет генотип *HH* (лысый), а мать – *hh* (норма), то дети будут иметь генотип *Hh*, причем сыновья с признаками раннего облысения, а дочери с нормальными волосами. Проявление зависимых от пола признаков определяется соотношением мужских и женских половых гормонов в крови. Половые гормоны женской особи препятствуют проявлению действия доминантного аллеля в гетерозиготном состоянии (*Hh*). Такой же характер наследования имеет рогатость у овец. К признакам, зависимым от пола, у

человека относится и тип певческого голоса (бас, баритон, тенор – у мужчин; сопрано, меццо-сопрано, контральто – у женщин).

Пример решения задачи

Задача. Отец и сын – дальтоники, а мать различает цвета нормально. Определить генотипы родителей и ребенка. Правильно ли будет сказать, что в этой семье сын унаследовал свой недостаток от отца?

Решение:

1. Дальтонизм – рецессивная мутация, сцепленная с X-хромосомой.
2. У человека женский пол гомогаметный (XX), а мужской гетерогаметный (XY).
3. Запишем генотип отца.

Так как отец дальтоник, то его единственная X-хромосома несет рецессивный аллель (d). Генотип отца - $X^d Y$. Ген находится в гемизиготном состоянии.

3. Запишем генотип сына.

Так сын тоже дальтоник, то его генотип будет точно таким, как у отца – $X^d Y$.

4. Определим генотип женщины.

Так как женщина различает цвета нормально, то в одной из X-хромосом будет локализован доминантный аллель (D). Рождение сына дальтоника указывает на локализацию во второй X-хромосоме рецессивного аллеля (d), т. е. женщина является носителем. Ген находится в гетерозиготном состоянии. Генотип женщины $X^D X^d$.

Схема скрещивания

Фенотип	Норма		Дальтонизм	
Генотипы	♀ $X^D X^d$	х	♂ $X^d Y$	
Гаметы	X^D, X^d		X^d, Y	
F ₁	♀ $X^D X^d$	♀ $X^d X^d$	♂ $X^D Y$	♂ $X^d Y$
Фенотипы	Норма, носительница	Дальтонизм	Норма	Дальтонизм

Приведенная схема скрещивания показывает, что сын унаследовал свой недостаток от матери, а не от отца.

Задачи для решения

1. Если женщина, отец которой страдал гемофилией, вышла замуж за здорового мужчину, то какова вероятность того, что у ребенка будет гемофилия? Предположим теперь, что отец мужа также был болен гемофилией, какова вероятность в этом случае?

2. Женщина с нормальным зрением, оба родителя которой имели нормальное зрение, выходит замуж за мужчину с нормальным зрением. От этого брака родилась дочь с нормальным зрением и сын-дальтоник. И дочь, и сын вступили в брак с нормальными в отношении зрения людьми. У дочери родилось два сына, один из которых оказался дальтоником. Все дети сына – три мальчика и две девочки – были нормальными в отношении зрения. Составьте родословную этой семьи. Каковы генотипы всех лиц, упомянутых в задаче? Какое зрение может быть у правнуков, если в дальнейшем все партнеры в браках будут иметь нормальное зрение?

3. При скрещивании белоглазых самок дрозофилы с красноглазыми самцами получено 895 самцов с белыми глазами и 882 самки с красными глазами. Кроме того, в потомстве от этого скрещивания обнаружены две самки с белыми глазами и один самец с красными глазами. Как можно объяснить появление необычных самок и самцов? Как проверить правильность вашего предположения?

4. У одного двудомного цветкового растения встречается иногда рецессивный ген «узкие листья», локализованный в X-хромосоме. Гомозиготное широколистное растение было оплодотворено пыльцой узколистного. Выращенное из полученных семян женское растение обладало широкими листьями и было скрещено с узколистным мужским. Какими будут мужские и женские потомки от этого скрещивания и от дальнейших

скрещиваний этих потомков с гомозиготными широколистными растениями? Система определения пола у растения такая же, как у дрозофилы и у человека.

5. Пыльцой мужского растения дремы с зелеными листьями опыляют цветки женских растений с желто-зелеными листьями. В F_1 женские растения имеют зеленые листья, а мужские желто-зеленые. В обратном скрещивании все гибридные растения были зелеными. Как это можно объяснить? Какое потомство от этих скрещиваний можно ожидать в F_2 ? Определите генотипы исходных растений.

6. У человека отсутствие потовых желез проявляется как рецессивный, сцепленный с полом признак. Альбинизм обусловлен аутосомным рецессивным геном. У одной супружеской пары, нормальной по этим признакам, родился сын с обеими указанными аномалиями. Укажите вероятные генотипы отца и матери. Какова вероятность того, что их следующим ребенком будет нормальная девочка? Определите соотношение фенотипов среди особей мужского и женского пола.

7. У канареек сцепленный с полом ген B определяет зеленую окраску оперения, b – коричневую. Наличие хохолка зависит от аутосомного гена C , его отсутствие – c . Зеленого хохлатого самца скрещивают с коричневой самкой без хохолка. Определите, какое потомство можно ожидать: а) в F_1 ; б) в F_2 ; в) от возвратного скрещивания гибридов F_1 с материнской и отцовской формами?

8. У кур встречается рецессивный сцепленный с полом летальный ген, который вызывает гибель цыплят до вылупления. Нормальная самка, скрещенная с гетерозиготным по летальному гену самцом, дала 120 живых цыплят. Какое количество среди них самцов? Самок?

9. У человека есть наследственное аллергическое заболевание – геморрагический диатез, вызываемый рецессивным геном. Аллели этого гена находятся в X- и Y-хромосоме. Определите, какими будут дети и внуки, если родители: а) жена и все ее предки здоровы, а муж болен; б) муж и все его предки здоровы, а жена больна?

10. В Северной Каролине изучали появление в некоторых семьях лиц, характеризующихся недостатком фосфора в крови. Это явление было связано с заболеванием специфической формой рахита, не поддающегося лечению витамином D. В потомстве от браков 14 мужчин, больных этой формой рахита, со здоровыми женщинами родились 21 дочь и 16 сыновей. Все дочери страдали недостатком фосфора в крови, а сыновья были здоровы. Какова генетическая обусловленность данного заболевания?

11. У мужчины по краю ушной раковины развит волосяной покров. У его отца, деда и прадеда также был по краю ушной раковины развит волосяной покров, этот признак никак не сказывался на их умственных способностях. У двух сыновей мужчины по краю ушной раковины развит волосяной покров, а у дочери края ушной раковины лишены волосяного покрова. Составьте родословную семьи и определите характер наследования признака, если известно, что со стороны супруги мужчины в родословной признак волосатых ушей никогда не проявлялся.

12. Гипертрихоз наследуется как сцепленный с Y-хромосомой признак, который проявляется лишь к 17 годам жизни. Одна из форм ихтиоза (утолщение кожи) наследуется как рецессивный сцепленный с X-хромосомой признак. В семье, где женщина нормальна по обоим признакам, а муж является обладателем только гипертрихоза, родился мальчик с признаками ихтиоза. Определите вероятность проявления у этого мальчика гипертрихоза. Определите вероятность появления в этой семье детей без обеих аномалий и какого они будут пола.

13. У мужчин аутосомный ген лысости S выступает как доминантный, а у женщин он рецессивен. Женщина, отец которой и брат были лысыми, выходит замуж за лысого мужчину. Какое потомство можно ожидать от этого брака?

14. У овец породы «меринос» бараны рогатые, ярки – комолые. При скрещивании ярки породы меринос с баранами тифлисской породы, где оба пола являются комолыми, в первом поколении все самки были комолые, а

самцы рогатые, а во втором поколении наблюдалось расщепление: у самок – 13 комолых, 3 рогатых; у самцов – 12 рогатых, 4 комолых.

При скрещивании ярок породы меринос с баранами породы шотландские черные, где оба пола несут рога в первом поколении, все самки были комолыми, а самцы рогатыми, а в F_2 наблюдалось следующее расщепление, причем только у самок: 3 части комолых и 1 часть рогатых. Все потомки мужского пола были рогатыми. Как можно объяснить такой необычный характер наследования комолости и рогатости у овец? Как вы думаете, будет ли при таком типе наследования иное расщепление при реципрокном скрещивании или нет? Напишите генотипы всех особей, принимавших участие в скрещиваниях.

Контрольные вопросы

1. Дайте объяснение хромосомному определению пола.
2. Какой характер наследования могут иметь признаки, гены которых локализованы в половых хромосомах?
3. Какие признаки называются сцепленными с полом? Приведите пример. Особенности наследования признаков, сцепленных с полом. Чем они определяются?
4. На чем было основано предположение Т. Моргана, объясняющее различие результатов реципрокного скрещивания красноглазых и белоглазых мух. Приведите схему скрещивания.
5. Какое наследование называется крисс-кросс. Особенностью какого наследования оно является? Приведите схему скрещивания, поясняющую ваш ответ.
6. Объясните следующие термины: гомогаметность, гетерогаметность, гемизиготность. У каких организмов гетерогаметен мужской пол, а у каких женский?

7. Какие признаки, наследование которых сцеплено с полом, вам известны у человека?
8. Как наследуется гемофилия? Сын и отец страдают гемофилией. Каковы наиболее вероятные генотипы родителей и ребенка?
9. Если у самца дрозофилы гены A и Z локализованы в аутосоме и находятся в гетерозиготном состоянии, а ген локализован в X-хромосоме, то какие типы гамет может образовать этот самец?
10. Опишите типы детерминации пола.
11. Как определяется пол у человека и дрозофилы? Какие имеются различия в механизмах детерминации пола у человека и дрозофилы?
12. У человека $2n = 46$ как у особей женского, так и мужского полов. Имеются ли различия между полами в хромосомном наборе? Покажите схематически, в какой момент определяется пол у человека.
13. Как определяется пол у дрозофилы? Что такое половой индекс? Какой пол будет у мух с набором половых хромосом X^0 и XXY ?
14. Приведите схему с изображением диплоидного набора хромосом, поясняющую, почему соотношение особей мужского и женского пола близко к соотношению 1:1 (на примере человека).
15. Опишите типы детерминации пола у растений.
16. Объясните понятия «признак, ограниченный полом», «зависимый от пола признак». Приведите примеры.
17. Наследование признаков при первичном нерасхождении половых хромосом.
18. Наследование признаков при вторичном нерасхождении половых хромосом.
19. В каком случае вторичное нерасхождение хромосом достигает 100 %?

Тема семинара: «Пол и наследование признаков, сцепленных с полом. Генетика определения пола»

Вопросы к семинару по дисциплине Генетика

1. Прогамный, эпигамный и сингамный типы определения пола.
2. Численное соотношение полов. Факторы, изменяющие численное соотношение полов.
3. Регуляция пола.
4. Ранняя диагностика пола.
5. Механизм дозовой компенсации генов. Гипотеза Лайон.

Ключевые термины и понятия

Аутосомы

Гемизиготность

Гомогаметный пол

Голандрические признаки

Гетерогаметный пол

Дозовая компенсация

Крисс-кросс

Нерасхождение половых хромосом

Половые хромосомы

Соотношение полов

Сцепление с полом

Признаки, зависящие от пола

Признаки, ограниченные полом

Признаки, частично сцепленные с полом

2. СЦЕПЛЕННОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ И КРОССИНГОВЕР

Изучение генетики любого вида показывает существование сотен признаков, каждый из которых наследуется закономерно. Хорошо известно, что количество пар хромосом сравнительно невелико, а у некоторых видов оно очень мало. Например, у дрозофилы изучено наследование около 500 генов, а число пар хромосом равно четырем. Из этого следует, что каждая хромосома должна нести целую группу генов, и гены, локализованные в одной хромосоме, должны передаваться вместе. Объединение множества генов в одной хромосоме определяет характер наследования признаков, контролируемых данными генами. Такое наследование называется **сцепленным**, а под **сцеплением генов** понимается совместная передача их из поколения в поколение в противоположность независимому комбинированию.

Явление сцепленного наследования было обнаружено в 1906 г. В. Бэтсоном и Р. Пеннетом в опытах с душистым горошком. Скрещивая растения, различающиеся по двум парам признаков: пурпурная окраска цветков и удлинённая пыльца (*PPLL*) × красная окраска цветков и округлая пыльца (*ppll*), - Бэтсон и Пеннет не обнаружили в F_2 ожидаемого расщепления в соотношении 9 : 3 : 3 : 1, характерного для обычного менделевского наследования при дигибридном скрещивании, которое обусловлено случайным распределением генов, находящихся в разных нехомологичных хромосомах. Тем не менее эти же признаки дают менделевское расщепление, если каждую пару признаков рассматривать отдельно.

P	<i>PPLL</i>	×	<i>ppll</i>
	Пурпурные цветки, округлая пыльца		Красные цветки, удлинённая пыльца
F_1	<i>PpLl</i>		
	Пурпурные цветки, удлинённая пыльца		

Таблица 3 - Соотношение фенотипов в F₂

Фенотипы F ₂	Наблюдаемые результаты	Ожидаемые результаты (H ₀ = 9 : 3 : 1 : 1)
Пурпурные цветки, округлая пыльца <i>P_L_</i>	4831 (69,5 %)	3910 (56 %)
Пурпурные цветки, удлинённая пыльца <i>P_ll</i>	390 (5,6 %)	1304 (18,75 %)
Красные цветки, округлая пыльца <i>ppL_</i>	393 (5,6 %)	1304 (18,75 %)
Красные цветки, удлинённая пыльца <i>ppll</i>	1338 (19,3 %)	434 (6,25 %)

В эксперименте особи с родительскими фенотипами (*P_L_* и *ppll*) обнаруживались с большей частотой, а особи с рекомбинантными фенотипами (*P_ll* и *ppL_*) с меньшей частотой, чем ожидалось (табл. 3). Данное отклонение от независимого наследования признаков можно объяснить, предположив, что гены, контролирующие окраску цветков и форму пыльцевых зерен, локализованы в одной хромосоме, т. е. сцеплены, и гаметы при этом образуются с разными частотами.

Понимание сущности данного явления стало возможным лишь в результате работ Т. Моргана и его сотрудников А. Стертеванта, Г. Меллера, К. Бриджеса и др. с дрозофилой. Морган установил, что материальной основой сцепления генов хромосома. Она представляет собой отдельную материальную и функциональную единицу при редукционном делении и, следовательно, все гены, находящиеся в одной хромосоме, будут связаны между собой субстратом хромосомы, ее организацией и поведением в мейозе.

Совокупность всех генов, локализованных в одной хромосоме, вследствие чего они наследуются сцеплено (совместно), образует **группу сцепления**. Локализация генов в одной хромосоме (группе сцепления) исключает возможность их независимого наследования, свободной комбинации и обуславливает совместную передачу потомству родительского

сочетания аллелей. Гены одной группы сцепления наследуются независимо от генов другой группы сцепления.

Сцепление генов может быть **полным** и **неполным** (частичным), что определяется степенью связи аллелей двух генов в мейозе.

При **полном сцеплении** генов полностью исключается комбинация родительских аллелей, в результате чего гибрид образует только два типа гамет с исходными, «родительскими» сочетаниями аллелей сцепленных генов.

Неполное сцепление генов - результат кроссинговера между сцепленными генами, что приводит к образованию рекомбинантных типов гамет наряду с гаметами родительского типа, причем гамет рекомбинантного типа образуется меньше 50 %.

Полное сцепление между двумя генами встречается довольно редко. У организмов, в клетках которых кроссинговер в норме не происходит, например, в половых клетках самцов дрозофилы, самок тутового шелкопряда, наблюдается полное сцепление. Кроме того, полное сцепление может имитироваться явлением плейотропии, или псевдоаллелизма.

Формула генотипа при сцепленном наследовании записывается в следующем виде: дигетерозиготу $AaBb$ можно представить в хромосомной форме $\frac{AB}{ab}$ или $\frac{Ab}{aB}$.

Сцепление доминантных или рецессивных аллелей друг с другом AB/ab называется **фазой притяжения**, а сцепление доминантных аллелей с рецессивными Ab/aB **фазой отталкивания**. Фаза сцепления определяет результат скрещивания в F_2 (частоту встречаемости разных фенотипов).

Таким образом, локализация генов в хромосомах определяет характер наследования признаков, детерминированных данными генами. В анализирующем скрещивании фенотип потомства прямо отражает типы гамет, формируемые гетерозиготным родителем (табл.1).

Опыт I. Гены A и B локализованы в негомологичных хромосомах и сцепление между ними отсутствует.

При локализации в разных, негомологичных хромосомах гены комбинируются случайно, независимо друг от друга. При независимом расщеплении аллелей двух генов, обусловленном независимым распределением двух пар хромосом, в анализирующем скрещивании следует ожидать равное соотношение четырех генотипов (1:1:1:1). Два из них содержат те же сочетания аллелей, что и родители (AB и ab), а два – новые, рекомбинантные сочетания аллелей (Ab и aB). Если в потомстве родительские типы и рекомбинантные типы представлены в равном отношении, то значит, пары генов Aa и Bb в мейозе дигетерозиготного родителя ($AaBb$) расходятся независимо и могут быть названы несцепленными. В результате мейоза дигетерозигота $AaBb$ образует четыре типа гамет с равной частотой (0,25), каждая из которых содержит различные комбинации аллелей двух этих генов. Поэтому, если гены находятся в независимо расходящихся разных хромосомах, то частота рекомбинации равна 50 % ($50/100 = 0,5$, или 50 %). Обратное утверждение не всегда справедливо.

Опыт II. Гены A и B локализованы в одной хромосоме, полное сцепление.

Абсолютная связь между двумя генами приводит к тому, что в потомстве от анализирующего скрещивания следует ожидать появления лишь двух генотипов в соотношении 1:1. При сцеплении генов и отсутствии между ними кроссинговера формируется только два типа гамет – некроссоверные (нерекомбинантные) гаметы родительских типов. Полное сцепление наблюдается только при очень близком расположении генов.

Опыт III. Гены A и B локализованы в одной хромосоме, неполное сцепление.

Между двумя сцепленными генами происходит кроссинговер и образуется четыре разных генотипа, как и при независимом наследовании, но наблюдается отклонение от соотношения 1:1:1:1. При неполном сцеплении генов рекомбинантные типы гамет, имеющие новые аллельные комбинации, образуются с меньшей частотой ($< 50\%$), чем родительские типы гамет ($> 50\%$).

%). Отклонение от ожидаемого при независимом наследовании расщепления свидетельствует о сцеплении генов.

С увеличением расстояния между генами доля рекомбинантных гамет по этим генам увеличивается. При больших межгенных расстояниях доля рекомбинантных гамет приближается к 50 % и к соотношению родительских и кроссоверных типов гамет, равному 1 : 1 : 1 : 1.

2.1. Кроссинговер

Кроссинговер - это взаимный (реципрокный) обмен участками гомологичных хромосом, происходящий в результате разрыва и соединения участков хроматид и приводящий к рекомбинации сцепленных генов. Термин ввели в 1912 г. Морган и Каттел.

Еще в 1892 г. Рюккерт обнаружил, что гомологичные хромосомы соединяются друг с другом в различных точках по всей своей длине на одной из стадий мейоза, образуя образные фигуры (хиазмы). Это наблюдение натолкнуло его на мысль о возможности обмена материалом между хромосомами.

В 1909 г. Ф. Янсенс, изучая мейоз у земноводных, обнаружил в диплотене профазы I хиазмы (визуальное проявление кроссинговера) и высказал предположение, что хромосомы в мейозе во время синапсиса способны обмениваться участками. Кроссинговер обычно происходит в мейозе у всех организмов - и у самок, и у самцов во всех парах гомологичных хромосом.

Генетическое значение кроссинговера раскрыл Т. Морган. Морган предположил, что хиазмы как раз и являются точками генного обмена между хромосомами. **Кроссинговер приводит к рекомбинации сцепленных генов.** Во время кроссинговера происходит разделение исходных родительских аллелей, составляющих группу, и образуются новые сочетания аллелей. Данный процесс называется генетической рекомбинацией, а потомков, полученных с участием рекомбинантных гамет, имеющих новое сочетание

родительских аллелей, называют **рекомбинантами**. Кроссинговер рассматривается как важнейший механизм, обеспечивающий комбинативную изменчивость. Схема кроссинговера показана на рис. 7.

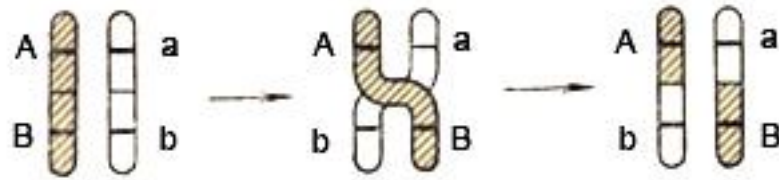


Рис. 7. Схема кроссинговера

В результате происходящего обмена образуются кроссоверные хромосомы (Ab и aB), которые при расхождении дают **кроссоверные гаметы** (Ab и aB).

Сцепление генов изучается с помощью анализирующего скрещивания. В анализирующем скрещивании подсчитывается число особей, у которых гены находятся в исходных комбинациях (**некроссоверы, нерекомбинанты**) и число особей с новой комбинацией генов (**кроссоверы, рекомбинанты**).

Частота кроссинговера измеряется отношением числа особей, у которых обнаруживается кроссинговер (кроссоверов), к общему числу особей в потомстве анализирующего скрещивания и выражается в процентах.

Частоту кроссинговера определяют по формуле:

$$rf = \frac{\text{Число кроссоверов}}{\text{Общее число особей от анализирующего скрещивания}} \times 100 (\%)$$

По частоте кроссинговера можно определить расстояние между сцепленными генами. Чем чаще осуществляется кроссинговер, тем дальше друг от друга гены расположены в хромосоме; чем реже кроссинговер, тем они ближе друг к другу. Таким образом, частота рекомбинации отражает относительное расположение генов в хромосоме. Частоты рекомбинации постоянны для каждой пары генов и зависят от того, какая именно пара генов изучается.

Частота кроссинговера между двумя генами, выявляемая в опыте, не может быть более 50 %, так как это значение соответствует вероятности нормального, т. е. без кроссинговера, расхождения хромосом.

Вывод о том, что вероятность кроссинговера есть функция расстояния между генами по длине хромосомы, позволил составить **генетические карты хромосом**.

2.2. Линейное расположение генов в хромосоме

Генетическое картирование сводится к определению частоты рекомбинации между генами. Для осуществления картирования необходимо изучить расщепление хотя бы по трем генам. Для этого проводится либо три скрещивания (изучаются пары генов): $\frac{AB}{av} \times \frac{av}{av}$, $\frac{BC}{vc} \times \frac{vc}{vc}$, $\frac{AC}{ac} \times \frac{ac}{ac}$, либо одно скрещивание $\frac{ABC}{avc} \times \frac{avc}{avc}$.

Для проведения экспериментального скрещивания необходимы следующие условия:

1. Родитель, дающий кроссоверные гаметы, должен быть гетерозиготным по всем исследуемым локусам.
2. В потомстве должны точно определяться рекомбинантные фенотипы, поскольку генотипы гамет недоступны для прямого анализа. Каждый фенотипический класс потомства должен соответствовать по своим признакам либо родительским, либо рекомбинантным гаметам.
3. Для выявления всех кроссоверных фенотипов и картирования генов нужно проанализировать достаточное количество потомков.

Рассмотрим результаты скрещивания, в котором родительские формы различаются по трем признакам ($\frac{ABC}{ABC} \times \frac{abc}{abc}$).

При локализации генов в негомологичных хромосомах (независимое наследование) тригетерозигота образовывала бы восемь типов гамет ($2n = 2^3$

=8) с равной частотой, соотношение фенотипов в анализирующем скрещивании соответствовало 1:1:1:1:1:1:1:1.

При полном сцеплении трех генов в анализирующем скрещивании ожидали получить генотипы только двух типов в соотношении 1:1.

При неполном сцеплении будет наблюдаться отклонение от соотношения 1:1:1:1:1:1:1:1.

$$\begin{array}{c}
 \text{P} \quad \text{♀} \quad \frac{ABC}{ABC} \times \text{♂} \quad \frac{abc}{abc} \\
 \\
 \text{F}_1 \quad \frac{ABC}{abc} \\
 \\
 \text{F}_a \quad \frac{ABC}{abc} \times \frac{abc}{abc}
 \end{array}$$

Типы гамет, формируемые гибридом F₁, и их соотношение:

	♀ Соотношение гамет	♂ Гаметы	Соотношение зигот
Родительские комбинации, некроссоверные	$\left\{ \begin{array}{l} ABC \ 143 \\ abc \ 150 \end{array} \right.$	<i>abc</i>	$\begin{array}{l} ABC / abc \ 143 \\ abc / abc \ 150 \end{array}$
Одиночный кроссовер на участке А - В	$\left\{ \begin{array}{l} Abc \ 37 \\ aBC \ 42 \end{array} \right.$		$\begin{array}{l} Abc / abc \ 37 \\ AbC / abc \ 42 \end{array}$
Одиночный кроссовер на участке В – С	$\left\{ \begin{array}{l} ABc \ 70 \\ abC \ 65 \end{array} \right.$		$\begin{array}{l} ABc / abc \ 70 \\ abC / abc \ 65 \end{array}$
Двойные кроссоверы	$\left\{ \begin{array}{l} AbC \ 8 \\ ABc \ 6 \end{array} \right.$		$\begin{array}{l} AbC / abc \ 8 \\ aBc / abc \ 6 \end{array}$
Итого:	521		521

Всего получено восемь различных фенотипов, как и ожидалось при трехфакторном скрещивании, но наблюдается отклонение от соотношения 1:1:1:1:1:1:1:1. Родительских форм получено больше, чем рекомбинантов, что свидетельствует о неполном сцеплении рассматриваемых генов. Возникновение рекомбинантных фенотипов возможно только в результате

кроссинговера. На участке $A-B-C$ происходят два **одинокных кроссинговера** и один **двойной кроссинговер**. В результате каждого реципрокного обмена образуется два класса рекомбинантов с одинаковой частотой.

Частота одинокных кроссверов на участках A и B и B и C зависит от частоты рекомбинации на соответствующих участках. При одинокном кроссинговере происходит изменение расположения аллелей крайнего локуса, при кроссинговере на участке A и B меняются местами аллели локуса $A-a$, при кроссинговере на участке B и C меняются местами аллели локуса $C-c$. Двойные кроссоверы образуются с самой малой частотой и выявляются по изменению расположения среднего локуса $B-b$.

Для определения частоты рекомбинации между генами A и B необходимо к одинокным кроссверам на участке $A-B$ прибавить двойные кроссоверы. Для определения частоты рекомбинации между генами B и C необходимо к одинокным кроссверам на участке $B-C$ также прибавить двойные кроссоверы. Прибавление двойных кроссоверных фенотипов объясняется тем, что каждый двойной кроссинговер является результатом кроссинговера как на участках $A-B$, так и $B-C$.

Частота перекрестов, определяемая непосредственно по сцеплению между генами A и C без учета передачи гена $B-b$ будет заниженной:

$$rf_{AB} = \frac{37 + 42 + 6 + 8}{521} \cdot 100 = 17,85 \%;$$

$$rf_{BC} = \frac{70 + 65 + 8 + 6}{521} \cdot 100 = 28,6 \%;$$

$$rf_{AC} = \frac{37 + 42 + 70 + 65 + (8 + 6) \times 2}{521} \cdot 100 = 46,45 \%.$$

Без учета двойных кроссверов частота рекомбинации между генами A и C будет меньше действительной:

$$rf_{AC} = \frac{37 + 42 + 70 + 65}{521} \cdot 100 = 41,07 \%, \text{ что на } 5,38\% \text{ меньше частоты,}$$

получаемой с учетом двойных рекомбинантов.

В рассмотренной выше схеме скрещивания:

$$rf AB = 17,85 \%;$$

$$rf BC = 28,6\%.$$

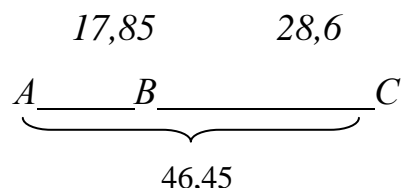
Расстояние между генами A и C может быть равно либо сумме расстояний $rf AC = rf AB + rf BC$, либо разности данных расстояний

$$rf AC = rf BC - rf AB.$$

В рассматриваемом примере $rf AC = 17,85 + 28,6 = 46,45\%$, т. е. частота рекомбинации между генами A и C равна сумме частот рекомбинации между генами A и B , B и C . Этот принцип справедлив и для четырех, пяти, шести или любого числа точек в пределах группы сцепления. Объяснить наблюдаемую **аддитивность** можно, только признав линейное расположение генов внутри хромосомы.

Линейное расположение генов в группах сцепления явилось важнейшим аргументом в пользу хромосомной теории наследственности. Линейное расположение генов в группах сцепления согласуется с фактами, что хромосомы - это линейные образования, частично состоящие из ДНК, которая тоже имеет линейную структуру.

Исходя из линейной организации генетического аппарата и функциональной зависимости процесса рекомбинации от физического расстояния, создается основа для построения **генетической карты**.



Впервые карта для трех генов X-хромосомы была составлена А. Стертевантом в 1913 г., а позже более подробная, включающая пять генов. В результате его совместной работы с Кальвином Бриджесом к 1923 г. было установлено, что сцепление и кроссинговер характерны не только для X-хромосомы, но и для аутосом; что гены дрозофилы распадаются на четыре группы сцепления, точно соответствующие числу пар хромосом данного вида.

2.3. Генетическая интерференция

А. Стертевант и Т. Морган обнаружили, что одновременно происходящие кроссинговеры не являются независимыми.

Если два одиночных кроссинговера происходят независимо, то вероятность совпадения двух кроссинговеров будет равна произведению вероятности для каждого отдельного участка.

Исходя из расстояния между генами $AB=17,85\%$, $BC=28,6\%$, теоретически ожидаемая частота двойного кроссинговера будет равна произведению вероятностей одинарных:

$$rf_{\text{ожидаемое}} = \frac{rf_{AB} \cdot rf_{BC}}{100} = \frac{17,85 \cdot 28,6}{100} = 5,12 \, \%.$$

Наблюдаемая частота двойного кроссинговера $2,69\%$, что значительно ниже теоретически ожидаемой:

$$rf_{\text{наблюдаемое}} = \frac{8 + 6}{521} \cdot 100 = 2,69\%.$$

Несовпадение теоретически ожидаемой частоты двойных рекомбинантов с наблюдаемой частотой связано с явлением **интерференции (I)**. Если обмен в данной точке снижает вероятность обмена в соседней точке, то интерференция положительная ($C < 1$). В случае повышения вероятности обмена в соседней точке место имеет отрицательная интерференция, например, у хлебной плесени ($C > 1$), но, как правило, интерференция положительная.

Влияние, оказываемое интерференцией, можно установить, вычислив **коэффициент коинциденции** (или совпадения). Он вычисляется отношением частоты наблюдаемых двойных кроссинговеров к теоретически ожидаемой:

$$C = \frac{rf_{\text{фактическая (двойных перекрестов)}}}{rf_{\text{теоретическая (двойных перекрестов)}}}.$$

Коэффициент совпадения выражает действительную частоту одновременного возникновения двух хиазм.

В рассматриваемом примере коэффициент коинциденции равен 0,52:

$$C = \frac{2,69}{5,12} = 0,52.$$

Если гены расположены близко, например, на расстоянии 10 – 15 ед. карты, то интерференция полная, $I = 1$, $C = 0$. Двойной перекрест не происходит, и образование одной хиазмы полностью препятствует образованию второй. Данное обстоятельство учитывается при построении генетических карт, используется частота рекомбинации не очень далеко расположенных генов.

Если гены расположены сравнительно далеко и разделены центромерой, то $I = 0$, $C = 1$. Это означает, что одна хиазма не оказывает никакого влияния на образование второй. Степень интерференции сильно варьирует у разных видов, в разных хромосомах одного и того же организма и даже в различных участках одной и той же хромосомы. Например, возле центромеры всех хромосом дрозофилы $C = 0$, полная интерференция наблюдается на расстоянии 10 ед. карты, через центромеру $C = 1$. У *Aspergillus nidulans* для всех районов всех хромосом интерференция отсутствует или даже в слабой степени отрицательная. У мыши интерференция гораздо сильнее, чем у дрозофилы или кукурузы.

2.4. Картирование

Геномный анализ охватывает исследование как структурных генов, так и некодирующих последовательностей генома. Важной предпосылкой для выполнения геномного анализа служит наличие детализированных генетических карт исследуемых видов.

Под картированием генов понимают определение участка хранения генетической информации, обуславливающей данный признак, на хромосоме и выявление линейной локализации отдельных генов по отношению друг к другу.

Картирование генов может проводится разными методами, такими как анализ сцепления, гибридизация *in situ* с мечеными радио- или нерадиоактивными зондами, гибридизация соматических клеток и т.д. В связи

с этим принято выделять генетические карты, цитогенетические карты индивидуальных хромосом, физические карты. Для полной идентификации отдельных элементов генома, т. е. для определения границ, структур и нуклеотидной последовательности, необходимо совмещение всех типов карт.

Генетическое картирование – это картирование, основанное на методах классической генетики: определении групп сцепления, частоты рекомбинации между генными локусами и построении генетических карт, где единицей измерения служат проценты рекомбинации, или **сантиморганы (сМ)**. Генетическая карта основана на установлении генетических расстояний, измеряемых в сантиморганах между сцепленными генами (по частоте рекомбинации между генными локусами), а также в выяснении порядка расположения генов.

Цитогенетическое картирование осуществляется с применением методов цитогенетики, когда для локализации каких-либо нуклеотидных последовательностей и определения их взаимного расположения используются цитологические препараты.

Физическое картирование – это обширная группа методов, позволяющая строить карты генома (обычно их называют физическими) высокого уровня разрешения и определять расстояния между локализуемыми нуклеотидными последовательностями с точностью от нескольких десятков тысяч пар нуклеотидов (п.н.) до одной нуклеотидной пары.

2.4.1. Генетическое картирование

До недавнего времени изучение геномов как человека, так и других млекопитающих, было возможно только путем генетического анализа – построения генетических карт, или карт сцепления.

Генетическая карта, или карта сцепления (linkage map) представляет собой схему взаимного расположения генов на хромосоме (в определенной группе сцепления), включающую данные об относительном удалении генов

друг от друга (генетические расстояния в условных единицах). На карте указывается расположение центромеры, и один из концов хромосомы принимается за нулевую точку.

Первым шагом на пути построения генетических карт является формирование групп сцепления генов и исследование их взаимного расположения. Основным методом построения карт сцепления является классический генетический анализ, т.е. анализ наследования признаков в родословной, а также изучение частоты рекомбинации генных локусов в мейозе.

Т. Морган установил, что по частоте рекомбинаций между генами можно оценить межгенное расстояние.

Единица измерения расстояния на генетической карте – **сантиморган** (сМ). 1 сМ соответствует приблизительно 1 млн п.н. и означает вероятность расхождения двух локусов в процессе рекомбинации в мейозе, равную 1 %. Генетическое расстояние между двумя локусами в 1 сМ означает, что кроссинговер происходит между ними один раз на 100 мейозов. С увеличением расстояния между двумя локусами возрастает вероятность расхождения этих локусов в процессе кроссинговера.

Общая длина, в частности, генома крупного рогатого скота составляет около 3 тыс. сМ. Из сопоставления этой величины с размером гаплоидного набора молекул ДНК следует, что 1 сМ эквивалентен 1 млн п. н. Карта генетического сцепления составляет около 2809 сМ для мужчин и 4782 сМ для женщин. Меньший «размер» мужского генома объясняется тем, что частота рекомбинации в сперматогенезе меньше, чем в оогенезе. Средняя длина генома человека в единицах генетического расстояния составляет около 3300 сМ. Сопоставив эту величину с размером гаплоидного генома человека, оцениваемым примерно в 2,91 млрд п.н., можно заключить, что на 1 сМ генетической карты приходится в среднем немногим менее 1 млн.п.н. ДНК на физической карте генома.

Приблизительность таких расчетов связана с тем, что частота рекомбинаций, а значит, длина 1 сМ могут варьировать в различных частях генома, в гомологичных участках геномов разных видов, в одном и том же участке генома у особей разного пола одного вида. Существуют горячие точки рекомбинаций и районы генома, где рекомбинация подавлена, например, центромерные и теломерные участки, блоки конститутивного гетерохроматина. Исходя из этого, генетическое расстояние дает только приблизительную информацию о физическом расстоянии, выраженном в парах нуклеотидов.

При изучении длинных участков хромосомы вероятность рекомбинации не является более мерой генетического расстояния. Чем отдаленнее гены, тем выше вероятность необнаруженных кроссоверов между этими генами, что в конечном итоге приводит к недооценке частоты рекомбинаций и уменьшает межгенное расстояние. Таким образом, расстояние на генетической карте не всегда соответствует непосредственно измеренным процентам кроссинговера, и поэтому частота перекреста между двумя генами не может прямо определяться по карте, за исключением только близко расположенных генов, исключаяющих возможность двойного кроссинговера.

При картировании генов в группе сцепления с помощью гибридологического анализа необходимо принимать во внимание две противоположные тенденции:

1. Между сцепленными локусами может произойти более чем один обмен, причем четные кроссинговеры не будут выявлены, поскольку не изменяют состояние сцепленных аллелей, в результате чего процент рекомбинации будет меньше.
2. Наличие положительной интерференции уменьшает частоту перекрестов между генами, находящимися вблизи от затрагиваемой одиночным кроссинговером области.

В этой связи используют две статистические функции для установления генетических расстояний:

- функцию Холдейна (учитывает первое обстоятельство):

$$rf(d) = \frac{1}{2}(1 - e^{-2d}).$$

- функцию Касамби (учитывает оба обстоятельства).

Генетические карты хромосом большинства биологических объектов имеют вид прямой, а бактерий и вирусов – замкнутого кольца.

Первая генетическая карта составлена А. Стертевантом в 1913 г. для X-хромосомы *Drosophila melanogaster*.

Первый ген человека был локализован на X-хромосоме в 1911 г., а первый аутосомный ген - только в 1968 г. К середине 70-х годов на хромосомах человека было локализовано менее 100 генов, значительная часть которых была локализована в X-хромосоме.

Генетические карты составлены для многих генетических объектов:

- насекомых – несколько видов дрозофилы, комнатная муха, комар, таракан, шелкопряд;
- млекопитающих – мышь, человек, крыса, кролик, крупный рогатый скот, овца, свинья;
- птиц – курица;
- растений – кукуруза, томаты, рис, горох, ячмень, пшеница, хлопчатник;
- микроорганизмов – дрожжи, нейроспора, аспергилл, хламидомонада, кишечная палочка, сальмонелла, холера, многие виды вирусов, эукариот и бактериофагов.

Построение генетических карт является не только показателем высокой генетической изученности данного объекта, но и условием успешной разработки многих фундаментальных проблем.

Они служат для изучения генетической рекомбинации – кроссинговера или нерцепрокной рекомбинации, изучение их механизмов, их количественных особенностей, влияния на них внешних и генотипических факторов.

При изучении некоторых аспектов мутагенеза выявляются закономерности распределения индуцированных мутаций по длине хромосом.

Исследования в области изучения регуляции действия генов привели к открытию у бактерий оперонов – групп генов, подвергающихся общей регуляции.

Локализация нескольких десятков генов позволяет выявить закономерности в распределении генетически активного материала по длине хромосомы. Так, выявлено неслучайное распределение по хромосомам томата как спонтанных, так и индуцированных мутаций. Большая часть генов (55,5 %) оказывается локализованной в хромосомах 1, 2, 4, 8, 11, тогда как в хромосомах 5 и 12 выявлено очень мало генов. Наблюдается и неслучайное распределение генов по длине хромосом. Во-первых, имеется тенденция генов концентрироваться в тесные группы. Во-вторых, для большинства генов наблюдается тенденция к скоплению около центромеры.

Построение генетических карт является базой для медицинской генетики и генетики сельскохозяйственных видов. Наличие детализированных генетических карт служит важной предпосылкой для выполнения геномного анализа. Сравнительное картирование генов позволяет исследовать закономерности эволюции групп сцепления, хромосом и отдельных генных ассоциаций. При сравнении генетических карт человека и мыши отмечено сходство в расположении гомологичных генов в X-хромосоме, которая, как считают, является эволюционно наиболее стабильной.

Сравнение генетических карт разных видов показывает, что в геномах изученных видов сохраняются крупные ассоциации генов, представляющие, по-видимому, остатки предкового генома.

Достижения молекулярной генетики, усовершенствование методов гибридизации *in situ* с мечеными радио- или нерадиоактивными зондами способствовали интенсивному развитию работ по картированию геномов сельскохозяйственных видов во второй половине восьмидесятых годов XX в.

2.4.2. Цитогенетическое картирование

Цитогенетическая карта – система элементов генома, упорядоченная относительно цитогенетически идентифицируемого рисунка хромосом. Цитогенетические карты показывают локализацию маркера с точностью до определенной хромосомы, плеча или хромосомного сегмента. Этот тип карт показывает линейный порядок маркеров в хромосоме. По своей разрешающей способности они занимают промежуточное положение между генетическими картами и собственно физическими картами.

Методы дифференциального окрашивания позволяют идентифицировать на препарате как отдельную хромосому, так и её любой участок, выявляя так называемые бэнды. На метафазных хромосомах малой степени спирализации идентифицируется около 750 бэндов, на прометафазных хромосомах 2500 - 3000. Цитогенетические карты основываются на расположении генов без определения их вариабельности, тогда как возможность построения генетических карт зависит от наличия аллельного полиморфизма локусов.

Определение хромосомной, а в большинстве случаев и субхромосомной локализации маркеров проводят с использованием гибридов соматических клеток между различными видами млекопитающих или непосредственной гибридизации *in situ* уникальных молекулярных зондов на митотические хромосомы. К основным методам формирования цитогенетических карт относятся также хромосомный сортинг (проточная цитометрия), микродиссекции и микроклонирование определенных геномных фрагментов и сравнительное генетическое картирование (сравнительная цитогенетика).

Метод гибридизации соматических клеток позволяет установить присутствие локуса данного гена в определенной хромосоме, или, максимум, в ее фрагменте, доступном для цитологического выявления. Физический порядок генов в хромосоме, расстояние между ними выявить этим методом практически невозможно. Определены группы синтенных генов – генов, размещенных в одной и той же хромосоме.

Суть метода гибридизации соматических клеток сводится к получению гибридных клеточных линий, в геноме которых встречаются многочисленные (лучше единичные) хромосомы вида, для которого создается карта.

Для межклеточного слияния подбираются соответствующие клеточные партнеры. Один должен быть приспособлен к жизни в условиях *in vitro* (постоянная клеточная линия) и, кроме того, нести мутацию (например, гипоксантинфосфорибозилтрансферазы или тимидинкиназы) для селекции клеток после гибридизации. Гибридные клоны получают путем искусственного слияния культивируемых соматических клеток разных видов, в частности клеток человека и различных грызунов: китайского хомячка, мыши, крысы. Гибридные клетки отбираются и клонируются. Во время делений гибридных клеток происходит элиминация хромосом картируемого вида, накопление клонов гибридных клеток, содержащих разное число хромосом картируемого вида. Полученные клоны, содержащие немногочисленные хромосомы этого вида (лучше всего одну), исследуются на одновременное присутствие видоспецифичных биохимических маркеров и соответствующей хромосомы. Обнаружение белков человека, специфических мРНК или последовательностей ДНК в таких клонах позволяет определить хромосомную принадлежность соответствующих генов. Можно создавать панели гибридных клеток, каждая из линий которых содержит только одну из 23 хромосом человека, что позволяет картировать любой ген по наличию или отсутствию его продукта.

Молекулярно-цитологический метод – **гибридизация *in situ*** позволяет определить положение локуса данного гена в определенном фрагменте метафазной хромосомы.

Идентификация локуса гена (или анонимной нуклеотидной последовательности) с помощью метода гибридизации ДНК *in situ* включает в себя следующие этапы:

- клонирование ДНК картируемого гена или его фрагмента с известной последовательностью нуклеотидов для приготовления зонда;
- мечение

зонда с использованием радиоактивных веществ (например, трития) или нерадиоактивных флюорохромов (например, биотина);

- одновременная денатурация зонда и хромосом на препарате метафазных хромосом;
- гибридизация между денатурированным меченым зондом и денатурированными хромосомами;
- проявление и выявление в препаратах метафазных хромосом сигнала метки зонда, указывающего место, в котором зонд присоединился к хромосоме;
- идентификация хромосомы, на которой проявился сигнал.

Идентификация хромосомы возможна после дифференциального окрашивания по длине и выявления поперечной исчерченности хромосом. Окрашенные фрагменты – это гетерохроматиновые участки хромосом с повторяющимися последовательностями ДНК, а неокрашенные – это эухроматиновые участки с кодирующими последовательностями. Для очень немногих хромосом возможна их идентификация на основании размера и морфологии.

В 90-е годы метод гибридизации *in situ* получил развитие в модификациях: FISH (гибридизация *in situ* с использованием флюоресцентной метки) и PRINS (метод, сочетающий гибридизацию *in situ* на метафазных хромосомах специфических праймеров с последующей ПЦР, включающей меченый биотином нуклеотид в продукт амплификации). Этот подход стал основным методом для построения цитогенетических карт. Разрешение этого метода составляет от 1 до 3 млн п.н., поэтому гибридизация *in situ* является методом картирования с низким уровнем разрешения.

2.4.3. Физическое картирование

К методам физического картирования относят рестрикционное картирование, RH-картирование, клонирование в YAC (от англ. yeast artificial

chromosome), ВАС (от англ. bacterial artificial chromosome), космидах, плаزمидах и других векторах, контиг-картирование на их основе, а также секвенирование ДНК. Использование искусственных хромосом создает основу для проведения физического картирования как на хромосомном, так и на субхромосомном уровне.

Основой физического картирования генома является построение физических карт, т.е. определение порядка расположения физических маркеров вдоль молекулы ДНК. В качестве физических маркеров могут выступать сами гены, анонимные фрагменты ДНК (D-сегменты), точки расщепления ДНК рестриктазами и т. п.

На физической карте расстояния выражаются в парах нуклеотидов, определяемых с помощью рестрикционных карт перекрывающихся длинных фрагментов ДНК.

Рестрикционная карта – вид физической карты, на которой указаны расстояния между соседними сайтами расщепления ДНК определенной рестриктазой, а также порядок следования сайтов рестрикции для одной или нескольких рестриктаз. При анализе крупных геномов или отдельных хромосом строят макрорестрикционные карты, на которых указан порядок следования сайтов рестрикции крупнощепляющих рестриктаз.

Важным свойством ДНК является высокая чувствительность 3-, 5-фосфодиэфирной связи углеводно-фосфатного остова к ферментативному воздействию. Ферментами, осуществляющими расщепление ДНК на отдельные фрагменты, являются рестриктазы или эндонуклеазы рестрикции.

Рестриктазы – это ферменты, способные расщеплять двухцепочечные молекулы ДНК в определенных специфических участках, так называемых сайтах рестрикции, или палиндромах, длиной в 4-7, реже 8-12 пар нуклеотидов. Эти ферменты впервые выявлены в бактериальных клетках, где они играют защитную роль, уничтожая чужеродную ДНК.

Чем чаще расположены сайты рестрикции, тем короче фрагменты ДНК после рестрикции. В настоящее время известно более 500 различных типов рестриктаз бактериального происхождения.

В зависимости от частоты встречаемости сайтов рестрикции рестриктазы стали делить на три группы: «мелкощепящие», имеющие сайт узнавания 4-5 п.н., который встречается в геноме с большой частотой; «среднещепящие» и «редкощепящие», сайт узнавания которых 8-12 п.н. (Not I).

Для получения карт высокого уровня разрешения используется стратегия картирования с помощью радиационных гибридов (RH- картирование, radiation hybrids mapping). Идея использования для картирования совместной сегрегации генов в облученных клеточных гибридах принадлежит Госсу и Харрису (1975). Метод заключается в следующем: донорные клетки подвергают воздействию высоких доз гамма-облучения, способного вызывать разрывы хромосом и приводить к различным хромосомным перестройкам.

В качестве облучаемого партнера используют как диплоидные клетки человека, так и гибридные клетки, содержащие отдельные хромосомы человека. Вероятность разрыва между двумя сцепленными генами тем больше, чем больше расстояние между ними. Затем летально облученные клетки донора гибридизируют с нормальной необлученной клеточной линией грызуна, в образовавшихся гибридах фрагменты хромосом человека оказываются встроенными в хромосомы грызуна, что обеспечивает стабильную сегрегацию гибридных хромосом в митозе и сохранение встроенных фрагментов. Количество встроенных фрагментов может составлять до 30% генома клетки реципиента. Для формирования панели радиационных гибридов соматических клеток (RH-панели) отбирается минимальное количество клонов, в которых представлены все последовательности генома человека с 6 - 7-кратным перекрытием генома. Затем методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводится скрининг RH-панели с использованием маркеров с уже известной локализацией и на их основе формируется так называемая рабочая рамка маркеров. Локализация

новых детектируемых маркеров устанавливается относительно маркеров рабочей рамки.

ДНК, изолированная из панели независимых клонов радиационных гибридов, обеспечивает картирование STS-маркеров и анализ расстояния между ними в геноме человека. Частота вызванных радиацией разрывов между двумя маркерами используется как мера расстояния и положение маркера определяется тем же способом, что и при построении карт сцепления.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фундаментом хромосомной теории наследственности являются факты, доказывающие хромосомный механизм определения пола, наследование признаков, сцепленных с полом, первичное и вторичное нерасхождение половых хромосом, сцепленное наследование и кроссинговер. Развитие генетики опирается на хромосомную теорию, и все последующие достижения генетики развивают эту теорию. Использование различных методов локализации генов позволяет определить их расположение на хромосоме, в конкретном участке хромосомы и нуклеотидную последовательность геномов. Картирование генов является условием успешной разработки многих фундаментальных и прикладных проблем генетики.

Совокупность полученных школой Моргана заключений была изложена в виде принципов, впоследствии получивших название хромосомной теории наследственности.

Основные положения хромосомной теории:

1. Гены находятся в хромосомах.
2. Гены, локализованные на одной хромосоме, наследуются сцеплено и образуют группы сцепления, число которых равно числу пар хромосом.
3. Гены на хромосомах расположены линейно.
4. Между гомологичными хромосомами возможен перекрест, в результате которого происходит рекомбинация генов, являющаяся важным источником новых форм для естественного и искусственного отбора. Сила сцепления зависит от расстояния между генами.
5. Сцепление генов и перекрест – закономерные биологические явления.

Таблица 4. Отличие результатов независимого наследования признаков от сцепленного наследования

Опыт I. Независимое расщепление	Опыт II. Полное сцепление	Опыт III. Неполное сцепление
$AABB \times aabb$ $(\frac{A}{A} \frac{B}{B} \times \frac{a}{a} \frac{b}{b})$	$\frac{a^+b^+}{ab} \times \frac{ab}{ab}$ F_1	$\frac{a^+b^+}{ab} \times \frac{ab}{ab}$ F_1
$F_1 AaBb$		
Ожидаемое кол-во, %	Ожидаемое кол-во, %	Ожидаемое кол-во, %
$AaBb \times aabb$		
родительские типы $\left\{ \begin{array}{l} AaBb \\ aabb \end{array} \right.$	родительские типы $\left\{ \begin{array}{l} \frac{a^+b^+}{ab} \\ \frac{ab}{ab} \end{array} \right.$	родительские типы $\left\{ \begin{array}{l} \frac{a^+b^+}{ab} \\ \frac{ab}{ab} \end{array} \right.$
25	50	83
25	50	
рекомбинантные – типы $\left\{ \begin{array}{l} Aabb \\ aaBb \end{array} \right.$	рекомбинантные – типы $\left\{ \begin{array}{l} \frac{a^+b}{ab} \\ \frac{ab}{ab} \\ \frac{a^+b^+}{ab} \\ \frac{ab}{ab} \end{array} \right.$	рекомбинантные – типы $\left\{ \begin{array}{l} \frac{a^+b}{ab} \\ \frac{ab}{ab} \\ \frac{a^+b^+}{ab} \\ \frac{ab}{ab} \end{array} \right.$
25	0	
25	0	17

Пример решения задачи

Задача. От скрещивания растений кукурузы, имеющих окрашенный алейрон и гладкий эндосперм, с растениями с неокрашенным алейроном и морщинистым эндоспермом в F_1 все растения имели семена с окрашенным гладким эндоспермом. В F_2 получилось расщепление:

окрашенных гладких семян	4152
неокрашенных морщинистых	4166
окрашенных морщинистых	149
неокрашенных гладких семян	152

Как расположены гены: в одной паре хромосом или разных? Если в одной хромосоме, то на каком расстоянии друг от друга? Приведите схему скрещивания.

Решение:

1. В анализирующем скрещивании наблюдается появление четырех фенотипических классов, но соотношение их не соответствует формуле 1:1:1:1. Особей родительских фенотипов получилось значительно больше – 4152 и 4166 (>50 %), а рекомбинантных – 149 и 152, значительно меньше (<50 %). Отклонение от соотношения 1:1:1:1, характерного для независимого наследования признаков, указывает на сцепленное наследование двух признаков. Гены, определяющие окраску и форму эндосперма, расположены в одной хромосоме. Рекомбинантные особи: окрашенные морщинистые (149) и неокрашенные гладкие (152) – образовались в результате кроссинговера.

1. Запишем схему скрещивания

Фенотипы родительских форм	Окрашенный алейрон, гладкий эндосперм	x	Неокрашенный алейрон, морщинистый эндосперм
Генотипы родительских форм	$\frac{AB}{AB}$	x	$\frac{ab}{ab}$
Гаметы	\underline{AB}		\underline{ab}
Генотип F_1	$\frac{AB}{ab}$		
Фенотип	Окрашенный алейрон, гладкий эндосперм		

3. Проводим анализирующее скрещивание:

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

Гибрид $F_1 \frac{AB}{ab}$ формирует четыре типа гамет:

\underline{AB} и \underline{ab} – некроссоверные и \underline{Ab} и \underline{aB} – кроссоверные, а анализатор $\frac{ab}{ab}$ формирует один тип гамет \underline{ab} .

Результат анализирующего скрещивания:

	$\frac{AB}{ab}$	$\frac{ab}{ab}$	$\frac{Ab}{ab}$	$\frac{aB}{ab}$
Fa	Некроссоверные особи		Кроссоверные особи	
	окрашенные гладкие	неокрашенные морщинистые	окрашенные морщинистые	неокрашенные гладкие
	4152	4166	149	152

5. Определим расстояние между генами A и B по формуле:

$$rf = \frac{\text{Число кроссоверов}}{\text{Общее число особей от анализирующего скрещивания}} \times 100(\%);$$

$$rf_{AB} = \frac{149 + 152}{8619} \cdot 100 = 3,49\%.$$

Частота рекомбинации между генами A и B равна 3, 49 %.

Задачи на сцепленное наследование

Полное сцепление

1. У человека катаракта и полидактилия – сцепленные доминантные аутосомные признаки. Одна молодая женщина унаследовала катаракту от своей матери, а полидактилию от отца. Муж ее нормален по обоим признакам.

Каких детей можно ожидать от этого брака? Какое потомство можно ожидать в семье, где родители гетерозиготны по обоим генам, если известно, что матери обоих супругов болели только катарактой, а отцы только полидактилией.

2. У томатов красная окраска плода доминирует над желтой, опушенность растений – над отсутствием опушения. Гены, контролирующие эти признаки, сцеплены. От скрещивания гибридных по обоим признакам, генотипически одинаковых растений, получено 124 растения трех фенотипов.

В другом опыте тоже скрещивались гибридные, генотипически одинаковые между собой растения, и в потомстве получено тоже 124 растения, но двух фенотипов.

Доказать полученные результаты и определить, сколько растений приходится на каждый фенотип.

3. В F_2 от скрещивания нормальной самки дрозофилы с самцом, имеющим черное тело и загнутые кверху крылья, было получено 87 чернотелых мух с загнутыми кверху крыльями и 269 нормальных. Как наследуются признаки? Объясните полученные результаты, определите генотипы исходных мух, генотип и фенотип гибридов F_1 .

Неполное сцепление

1. В анализирующем скрещивании от дигетерозиготы $AaBb$ получено следующее потомство:

AB	243
Ab	762
AB	758
ab	237
Всего	2000

Каков характер наследования генов? Если гены сцеплены, то каково расстояние между ними? Определите генотип дигетерозиготы. Какое соотношение фенотипов было бы в потомстве анализирующего скрещивания, если бы исходно скрещивали гомозиготные особи $AABB$ и $aabb$?

2. Высокое растение томата с шаровидными плодами, скрещенное с карликовым растением, имеющим грушевидные плоды, дало 81 высокое шаровидное, 79 карликовых грушевидных, 22 высоких грушевидных и 17

карликовых шаровидных потомков. Другое высокое растение с шаровидными плодами, скрещенное с карликовым растением, имеющим грушевидные плоды, дало 21 высокое грушевидное, 18 карликовых шаровидных, 5 высоких шаровидных и 4 карликовых грушевидных потомка. Каковы генотипы двух исходных высоких растений с шаровидными плодами? Какое потомство дали бы они при скрещивании друг с другом и в каком соотношении?

3. У кукурузы в 3-й хромосоме локализованы гены, определяющие характер листовой пластинки (доминантный – нормальные листья, рецессивный ген – скрученные листья) и высоту растений (доминантный ген – нормальная высота, рецессивный ген – карликовость). Гибридные по обоим признакам растения скрещивались с линией анализатором. В потомстве из 800 растений 36 растений имели нормальные листья и нормальную высоту.

Определите генотип гибрида и рассчитайте расстояние между генами.

4. Растение китайской примулы с коротким пестиком и кремовой окраской цветков, скрещенное с растением с длинным пестиком и красной окраской цветков, дало в F_1 растения с коротким пестиком и кремовыми цветками, которые были возвратно скрещены с растением, имеющим длинный пестик и красные цветки. Результаты этого скрещивания приведены ниже:

1697 с коротким пестиком и кремовыми цветками

195 с коротким пестиком и красными цветками

234 с длинным пестиком и кремовыми цветками

1558 с длинным пестиком и красными цветками

Всего 3684

Как наследуются признаки? Определите генотипы исходных растений.

5. У кукурузы мучнистость эндосперма доминирует над восковидностью, фиолетовая окраска проростков – над зеленой. Гены, контролирующие эти признаки, локализованы в 9-й хромосоме, расстояние между ними – 12% кроссинговера. Какой фенотип и генотип будут иметь растения F_1 от скрещивания гомозиготных растений с мучнистым эндоспермом и зеленой окраской проростков с растением, имеющим восковидный эндосперм

и фиолетовые проростки? Какое расщепление по фенотипу можно ожидать в F₂ этого скрещивания?

6. Бэтсон, Пеннет и Сондерс в 1905 г. скрестили две формы душистого горошка: растение с синими цветками и продолговатой пыльцой с растениями, имеющими красную окраску цветков и округлую пыльцу. В результате этого скрещивания все растения имели синие цветки и продолговатую пыльцу. В F₂ было обнаружено четыре типа потомков: 1528 растений с синими цветками и продолговатой пыльцой, 106 растений с синими цветками и округлой пыльцой, 117 растений с красными цветками и продолговатой пыльцой, 381 растение с красными цветками и округлой пыльцой. Как наследуются изучаемые признаки? Определите расстояние между генами, если они сцеплены.

7. Из популяции выделены две разные самки *Drosophila*, которые гетерозиготны по аутосомным сцепленным генам *b* (*blak*) – черное тело, *d* (*dachs*) – угловатые лапки и *c* (*curved*) – загнутые крылья. Эти гены расположены на хромосоме в последовательности *d-b-c*, причем *b* ближе к гену *d*, чем ген *c*. Внизу показан генотип каждой из самок и возможные генотипы гамет. Укажите классы некросоверных гамет, гамет с одиночным и двойным кроссинговером. К какому из этих классов относится наименьшее число формируемых самками гамет? К какому классу относится наибольшее число гамет?

Самка А			Самка В		
$\frac{ab^{+}}{++c}$			$\frac{d^{++}}{+bc}$		
↓			↓		
Гаметы					
(1) <i>dbc</i>	(5) <i>d++</i>		(1) <i>db+</i>	(5) <i>dbc</i>	
(2) <i>+++</i>	(6) <i>+bc</i>		(2) <i>++c</i>	(6) <i>+++</i>	
(3) <i>++c</i>	(7) <i>d+c</i>		(3) <i>d+c</i>	(7) <i>d++</i>	
(4) <i>db+</i>	(8) <i>+b+</i>		(4) <i>+b+</i>	(8) <i>+bc</i>	

8. У кукурузы окрашенный алейрон доминирует над неокрашенным, гладкие семена над морщинистыми, крахмалистый эндосперм над восковым.

Растения F_1 , полученные от скрещивания линии, гомозиготной по окрашенному алейрону, морщинистым семенам и крахмалистому эндосперму, с линией, гомозиготной по аллельным генам, затем были скрещены с растениями, гомозиготными по всем рецессивным генам. В результате получено следующее потомство (данные Гетчинсона, по Синнот и Денн):

Окрашенные, морщинистые, крахмалистые	2538
Бесцветные, гладкие, восковые	2708
Окрашенные, гладкие, восковые	116
Бесцветные, морщинистые, крахмалистые	113
Окрашенные, морщинистые, восковые	601
Бесцветные, гладкие, крахмалистые	626
Окрашенные, гладкие, крахмалистые	4
Бесцветные, морщинистые, восковые	2

На основе этих данных определите расстояние между указанными генами и их взаимное расположение. Рассчитайте коэффициент коинциденции и интерференции.

9. Кастл в опыте на крысах обнаружил, что расстояние между генами *Cu* и *s* равно 43,5 % кроссинговера, между *Cu* и *b* – 45,2 %, между *s* и *b* – 7 %. Постройте генетическую карту. Соблюдается ли в этом случае аддитивность? Если нет, то почему? Какие данные нужно иметь, чтобы более точно определить расстояние между генами *Cu* и *b*.

10. Проведите картирование семи генов, локализованных во второй хромосоме кукурузы, на основании частот перекреста между ними (*rf*).

al – *albescens* – бледно-желтый эндосперм;

lg – *liguleless* – отсутствие лигулы и ушек листа;

gl₂ – *glossy leaf* – восковая кутикула изменена, поверхность листа лоснящаяся, не смачивающаяся;

R₂ – *colored aleuron* – красная или пурпурная окраска алейрона;

v₄ – *virescent seedling* – проростки светло-желтые, быстро зеленеющие;

H_t – устойчивость к гельминтоспориозу;

$d_5 - dwarf$ – карликовые растения, листья широко-толстые.

Перекрест	Частота рекомбинантов rf, (% cM)	Перекрест	Частота рекомбинантов rf (% cM)
1. al / lg	7	12. gl_2 / R_2	19
2. al / gl_2	26	13. gl_2 / H_t	49
3. al / R_2	45	14. gl_2 / d_5	4
4. al / H_t	42	15. gl_2 / v_4	48
5. al / d_5	30	16. R_2 / d_5	15
6. al / v_4	48	17. R_2 / v_4	34
7. lg / gl_2	19	18. R_2 / H_t	49
8. lg / R_2	38	19. v_4 / H_t	38
9. lg / H_t	49	20. v_4 / d_5	47
10. lg / d_5	23	21. H_t / d_5	48
11. lg / v_4	49		

Контрольные вопросы

1. Кем и каким образом было впервые обнаружено явление сцепления генов?
2. Опишите явление полного сцепления генов. В чем заключается отличие полного сцепления генов от независимого наследования признаков?
3. Опишите явление неполного сцепления генов. В чем заключается отличие неполного сцепления генов от независимого наследования?
4. В чем заключается различие между сцеплением с полом и сцепленным наследованием?
5. Каким образом было осуществлено цитологическое доказательство кроссинговера?
6. Какие принципы положены в основу доказательства линейного расположения генов? Каковы результаты одиночного и двойного кроссинговера?
7. Что такое интерференция и коэффициент коинциденции?
8. Что такое генетическая карта? Как она строится?
9. Как определить расстояние между генами?

10. Что такое цитогенетическая карта? Как она строится?
11. Каковы необходимые условия проведения скрещиваний для успешного картирования генов?
12. Проведите сравнение генетической и цитогенетической карт.
13. Какие факторы могут оказывать влияние на перекрест хромосом?
14. Сформулируйте положения хромосомной теории наследственности.

Ключевые термины и понятия

Генетическая карта

Группа сцепления

Двойной кроссинговер

Интерференция

Картирование генов

Коэффициент коинциденции

Кроссинговер

Кроссоверные гаметы

Некроссоверные гаметы

Неполное сцепление

Одиночный кроссинговер

Полное сцепление

Рекомбинанты

Сила сцепления

Соматический кроссинговер

Сцепление

Хиазма

Хромосомная теория наследственности

Цитогенетическая карта

Частота рекомбинации

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Айяла Ф.А Современная генетика: в 3-х т.: пер. с англ./ Ф.А. Айяла, Дж. Кайгер – М.: Мир, 1987. – Т.1.- 295 с.
2. Бочков Н.П. Медицинская генетика (руководство для врачей) /Н.П. Бочков, Захаров А.ф., Иванов В.И.: АМН СССР. – М., Медицина, 1984. – 368 с.
3. Бочков Н.П. Клиническая генетика: учеб.– М.: Медицина, 1997. – 288 с.
4. Глазко В.И. Словарь терминов / В.И. Глазко, Глазко Г.В.
5. Глазер В.М. Задачи по современной генетике: учеб. пособие/ В.М. Глазер, А.И. Ким, Н.Н.Орлова и др. под ред. М.М. Асланяна. – М.: КДУ, 2005. – 224 с.
6. Клаг У. Основы генетики / У.Клаг, М. Каммингс. – М.: Техносфера, 2007.- 895 с.
7. Кушев В.В. Механизмы генетической рекомбинации. – Л.: Наука, 1971. – 246 с.
8. Маккьюсик В. Генетика человека. – М.: Мир, 1967. – С. 64-67.
9. Уильямс У. Генетические основы и селекция растений. М.: Колос, 1968. – 448 с.
10. Харченко П.Н. ДНК-технологии в развитии агробиологии / П.Н. Харченко, В.И. Глазко. – М.: «Воскресенье», 2006. – 480 с.
11. Цильке Р.А. Прикладная генетика: курс лекций / Новосиб. гос. аграр. ун-т. – Новосибирск, 2006. – 390 с.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1.ХРОМОСОМЫ И НАСЛЕДОВАНИЕ ПОЛА.....	4
1.1 Наследование признаков, сцепленных с полом.....	6
1.2.Особенности наследования признаков, сцепленных с X-хромосомой...8	
1.3.Наследование признаков, сцепленных с полом у человека.....9	
1.4.Признаки, ограниченные полом и зависимые от пола.....20	
Пример решения задачи.....	21
Задачи для решения.....	22
Контрольные вопросы.....	25
Вопросы к семинару.....	27
Ключевые термины и понятия.....	27
2. СЦЕПЛЕННОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ И КРОССИНГОВЕР.....	28
2.1. Кроссинговер.....	32
2.2. Линейное расположение генов в хромосоме.....	34
2.3. Генетическая интерференция.....	38
2.4. Картирование.....	39
2.4.1. Генетическое картирование.....	40
2.4.2. Цитогенетическое картирование.....	45
2.4.3. Физическое картирование.....	47
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	51
Пример решения задачи.....	53
Задачи на сцепленное наследование	54
Контрольные вопросы.....	59
Ключевые термины и понятия.....	61
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.....	62

Хромосомная теория наследственности

Составитель
Кондратьева Инесса Витальевна

Методическое пособие
для практических занятий и самостоятельной работы

Редактор Т.К. Коробкова
Компьютерная верстка

Подписано в печать	2015 г.
Формат 60x84 ¹ / ₁₆ . Объем	уч.-изд. л., усл. печ. л.
Бумага офсетная. Заказ №	. Тираж 100 экз. Изд. №

Отпечатано в издательстве
Новосибирского государственного аграрного университета
630039, Новосибирск, ул. Добролюбова, 160, каб. 106