

ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД  
“ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ”  
МІНІСТЕРСТВА ОСВІТИ І НАУКИ, МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ

О. К. Фролов, В. В. Копійка, Є. Р. Федотов, Т. М. Сіліна

ГЕНЕТИКА ЛЮДИНИ, ІМУНОГЕНЕТИКА  
ТА ЕВОЛЮЦІЙНА ІМУНОЛОГІЯ  
Методичні вказівки  
до великого практикуму  
для студентів біологічного факультету  
освітньо-кваліфікаційного рівня «спеціаліст», «магістр»

Затверджено  
вченою радою ЗНУ  
Протокол № 1 від 27.09.2011 р.

Запоріжжя 2011

УДК: 575 (075. 8)

ББК: Е04я73

Фролов О. К., Копійка В. В., Федотов Є. Р., Сіліна Т. М. Генетика людини, імуногенетика та еволюційна імунологія: методичні вказівки до великого практикуму для студентів біологічного факультету освітньо-кваліфікаційного рівня «спеціаліст», «магістр». – Запоріжжя: Сору Art, 2011. - 42 с.

Великий практикум «Генетика людини, імуногенетика та еволюційна імунологія» є складовою частиною процесу підготовки фахівців напряму «Біохімія та імунологія» у вищих навчальних закладах.

Структура методичних вказівок включає: цільові установки, перелік питань для обговорення, навчальні завдання.

Методичні вказівки до великого практикуму «Медична генетика, імуногенетика та еволюційна імунологія» складені згідно навчальної та робочої програм ДВНЗ «Запорізький національний університет». Вони призначені для студентів денної та заочної форм навчання спеціальності «Біологія».

Рецензент

зав. кафедри загальної та прикладної екології і зоології

Запорізького національного університету,

д-р біол. н., професор

В. Д. Бовт

Відповідальний за випуск

д-р мед. н., професор кафедри імунології та біохімії

Запорізького національного університету

О. К. Фролов

## ВСТУП

Розвиток теоретичної та практичної біології людини та тварин характеризується постійно зростаючим застосуванням генетичних та імунологічних методів, що пов'язано з рядом обставин. По-перше, в наш час накоплені знання про закономірності індивідуального розвитку організму, в ході якого реалізується генетична програма зиготи, контроль та регуляцію якої здійснює імунна система. По-друге, сучасні тенденції у зміні структури захворюваності свідчать про зростання відносного значення спадкової схильності патології, при якій крім спадкової обтяженості виступає імунологічна недостатність морфогенетичної функції імунітету. Остання полягає в контролі та регуляції метаболізму, проліферації та диференціровки клітин всіх тканин, в тому числі й лімфоїдної.

У зв'язку з актуальністю проблеми основною метою великого практикуму «Генетика людини, імуногенетика та еволюційна імунологія» є ознайомлення студентів з генетичними аспектами нормології та патології людини, зокрема зі спадковими факторами імунореактивності, які надаються у філогенетичному та онтогенетичному аспектах. При цьому засвоєння методів генетики людини дозволить студентам отримати навички їх практичного застосування у встановленні спадкової схильності при формуванні фізіологічних та патологічних ознак, в реалізації яких провідну роль відіграє морфогенетична функція імунітету.

Структура методичних вказівок включає цільові установки щодо тематики лабораторного заняття, перелік питань для обговорення, навчальні завдання.

Лабораторні роботи до великого практикуму «Генетика людини, імуногенетика та еволюційна імунологія» сформовані у три тематичні блоки:

1) до розділу «Генетика людини» входять лабораторні заняття з тем «Генетика людини. Генеалогічний метод», «Біохімічні методи», «Близнюковий метод», «Популяційно-статистичний метод», «Цитогенетичний метод», «Задачі медико-генетичного консультування»;

2) до розділу «Імуногенетика» - тема «Ізоантигенний поліморфізм за еритроцитарними та лейкоцитарними антигенами»;

3) розділ «Еволюційна імунологія» складають теми «Філогенез клітинного імунітету. Імунітету безхребетних» та «Філогенез гуморальної відповіді у безхребетних і хребетних тварин».

## ГЕНЕТИКА ЛЮДИНИ. ГЕНЕАЛОГІЧНИЙ МЕТОД

МЕТА: засвоїти генеалогічний метод, встановити його роздільну здатність; навчитися складати родовід, проводити генеалогічний аналіз.

### ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ:

1. Донаукова уява про механізми успадкування.
2. Наслідування і медицина у середні віка і епоху Відродження.
3. Формальна генетика Г. Менделя, Гальтона.
4. Генетика людини у першу половину 20 століття. Євгеніка.
5. Сучасна генетика людини, медична генетика.
6. Класифікація методів генетики людини.
7. Генеалогічний метод (ГМ). Історія розробки, роздільна здатність.
8. ГМ. Складання родоводу: символи, правила, труднощі.
9. ГМ. Генеалогічний аналіз: аутомомне успадкування і зчеплене з статтю. Пенетрантність і експресивність.

### НАВЧАЛЬНІ ЗАВДАННЯ

ЗАВДАННЯ 1. Типи успадкування зовнішніх фенотипічних ознак.

Ознайомитись та занести до лабораторного журналу домінантні та рецесивні ознаки людини.

#### Домінантні та рецесивні ознаки людини

Ознаки	Домінантні	Рецесивні
Колір очей	Карі	Блакитні
Гострота зору	Короткозорість	Нормальний
Ямочки на щоках	Є	Відсутні
Мочка вуха	Вільно висить	Зрошена
Гостра верхівка вуха (Дарвінівський бугорок)	Є	Відсутня
Виступаючі зуби і щелепи	Маються	Відсутні
Щілина між різцями	Є	Відсутня
Волосся	З дрібними завитками	В'ються, хвилясті або прямі
	В'ються	Прямі
	Жорсткі, прямі, "їжак"	Прямі, м'які
Посідіння волосся	У віці 25 років	Після 40 років
Облисіння	У чоловіків	У жінок
Біле пасмо волосся над лобом	Мається	Відсутнє
Волохаті брови	Є	Низькі
Лице	Кругле	Продовгувате
Нижня губа	Товста і відвисаюча	Нормальна
Здатність загибати язик назад	Є	Відсутня
Здатність згортати язик	Є	Відсутня

трубочкою		
Колір шкіри	Смагливий	Білий
Веснянки	Є	Відсутні
Зріст	Нормальний	Пропорційна карликовість
Схильність до ожиріння	Мається	Відсутня
Кисть	3 6 або з 7 пальцями (полідактилія)	3 5 пальцями
Арахнодактилія	Мається	Ні. Пальці нормальні
Превалювання руки	Праворукість	Ліворукість
Голос (у жінок)	Сопрано	Альт
Голос (у чоловіків)	Бас	Тенор
Абсолютний музикальний слух	Мається	Відсутній
Спадкова глухота	Відсутня	Мається

ЗАВДАННЯ 2. Складання генеалогії свого роду за зовнішніми ознаками.

Використовуючи умовні позначення, запропоновані у 1931 році ХХ століття Г. Юстом, скласти родовід сім'ї за будь-якою фенотипічною ознакою.

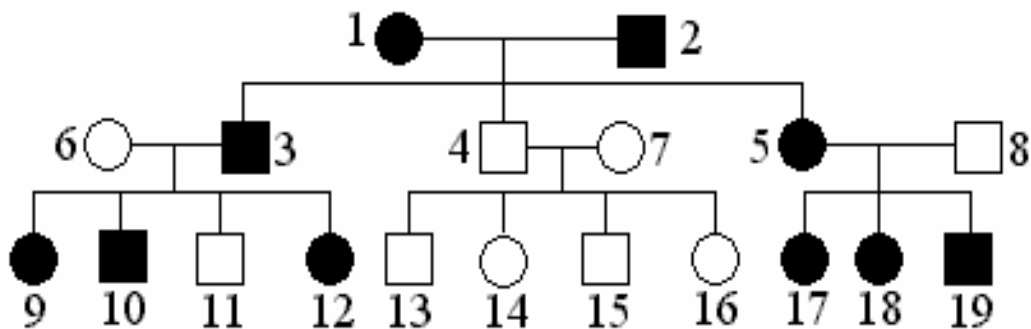
	пробанд		бездітний шлюб
	жіноча стать		позашлюбний зв'язок
	чоловіча стать		аборт
	подружжя		мертвонароджений
	шлюб між родичами		викидень
	двічі жонатий		померлі
	сибси		помер до 1-го року
	монозиготні близнюки		стать не вияснена
	дизиготні близнюки		інтерсекс
	гетерозиготний носій		хворі

**ЗАВДАННЯ 3. Складання родоводу.**

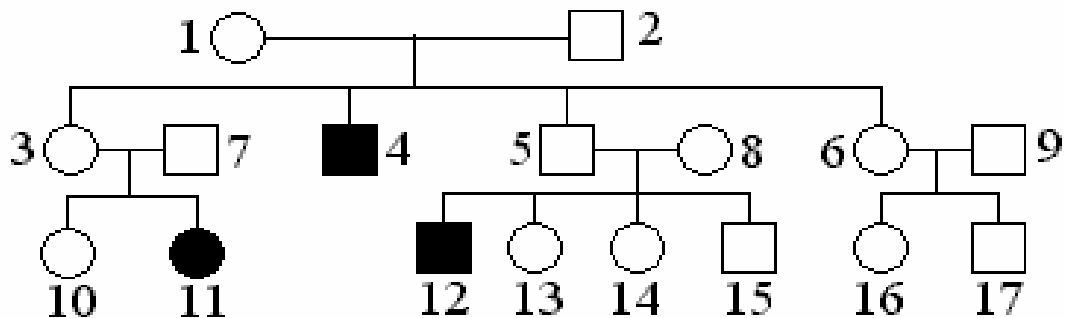
- 1) Пробанд – жінка-правша. Її дві сестри – правші, два брата- лівші, мати – правша, у неї два брати і сестра, всі правші. Бабця і дід – правші. Батько пробанда – лівша. Його сестра і брат – лівші, інші два брати і сестра – правші. Складіть родовід.
- 2) Пробанд – здорова жінка. Її сестра також здорова, а два брати страждають дальтонізмом. Мати і батько пробанда – здорові. Чотири сестри матери пробанда – здорові, чоловіки їх також здорові. Про двоюрідних сибсів з боку матери пробанда відомо: у одній сім'ї один хворий брат, дві сестри і брат здорові; в двох інших сім'ях по одному хворому братові й по одній здоровій сестрі; у четвертій сім'ї – одна здорова сестра. Бабуся пробанда з боку матери здорова, дід страждав дальтонізмом. З боку батька пробанда хворих дальтонізмом не виявлено. Складіть родовід, визначте вірогідність народження дитини з дальтонізмом у пробанда, якщо вона вийде заміж за здорового чоловіка.

**ЗАВДАННЯ 4. Аналіз родоводу.**

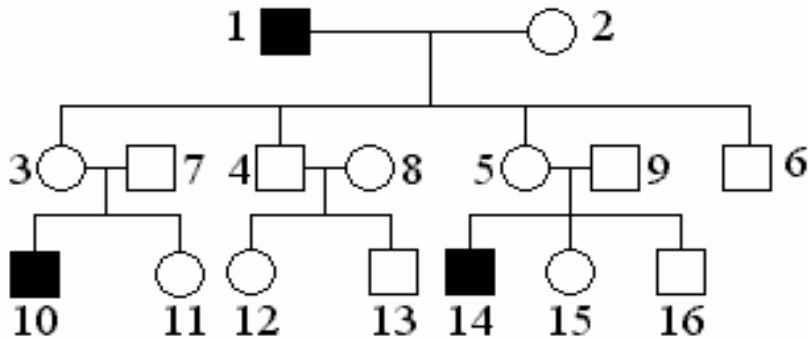
- 1) Проведіть аналіз родоводу сім'ї з короткозорістю. Визначте тип успадкування ознаки, генотипи всіх членів родоводу.



- 2) Проведіть аналіз родоводу сім'ї з вродженою глухотою. Визначте тип успадкування ознаки, генотипи членів родоводу. Визначте вірогідність народження хворих дітей від браку 11 і 12. Яка вірогідність народження здоровою 3-ої дитини від браку 3 і 7.



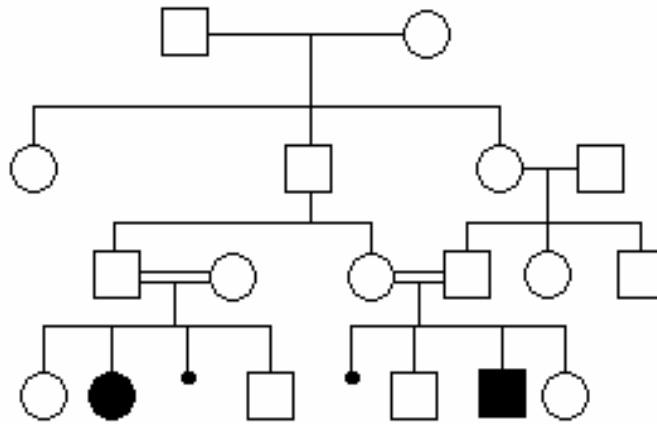
3) Проаналізуйте родовід сім'ї з гемофілією. Визначте тип успадковування ознаки, генотипи членів родоvodu.



4) На схемі приведений родовід сім'ї, в якій спостерігалася фенілкетонурія.

а) Визначте тип успадковування ознаки.

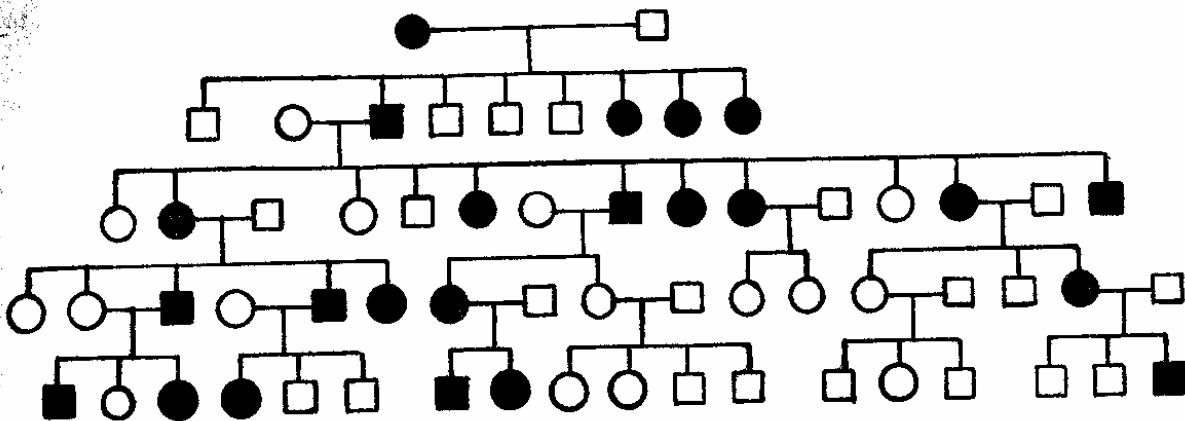
б) Вкажіть членів сім'ї – носіїв гена мутанта.



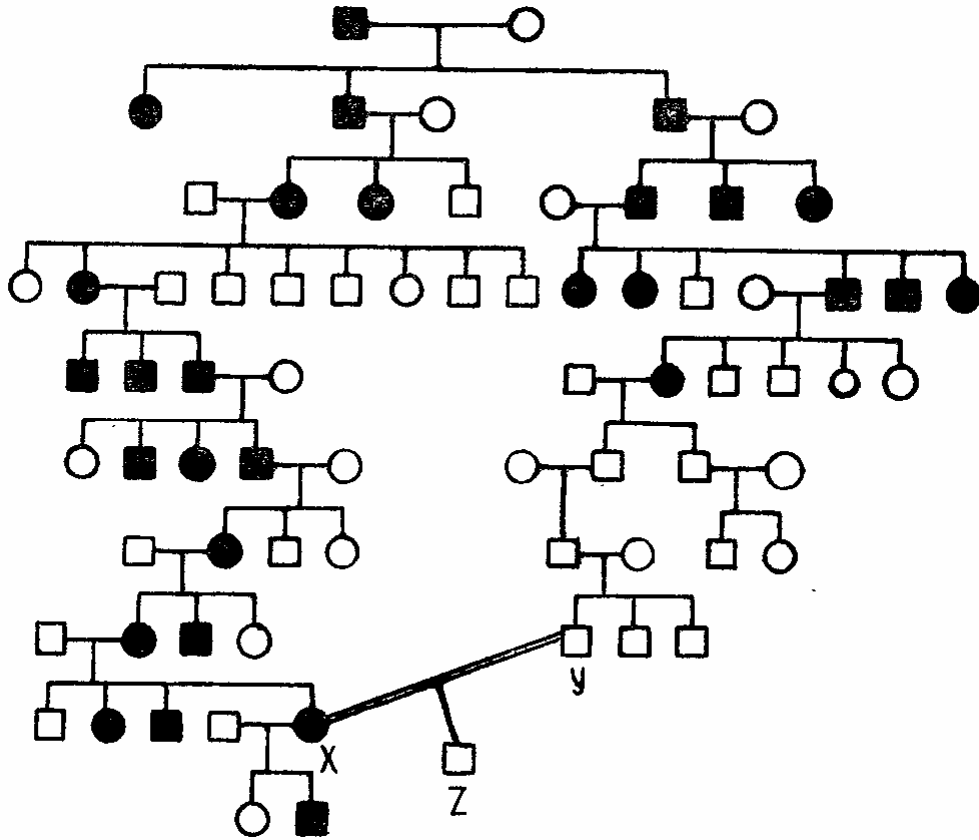
### ЗАВДАННЯ 5. Аутосомно-домінантне успадковування.

Ознайомитись із запропонованими родоводами моногенного аутосомно-домінантного успадковування. Скласти родовід з прикладом аутосомно-домінантного успадковування з коротким описом.

1)



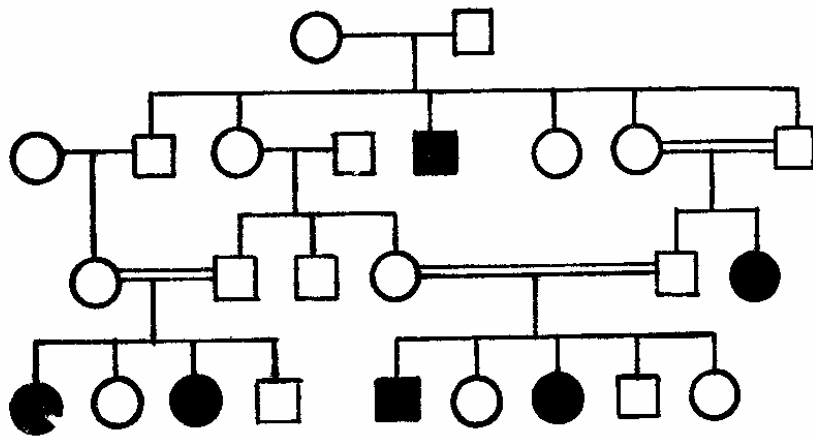
2)



ЗАВДАННЯ 6. Аутосомно-рецесивне успадкування.

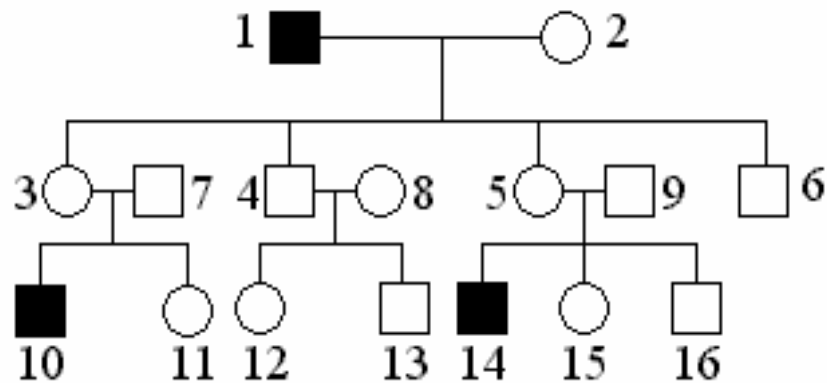
Ознайомитесь із запропонованими родоводами моногенного аутосомно-рецесивного успадкуваннями. Скласти родовід з прикладом аутосомно-рецесивного успадкування з коротким описом.

1)



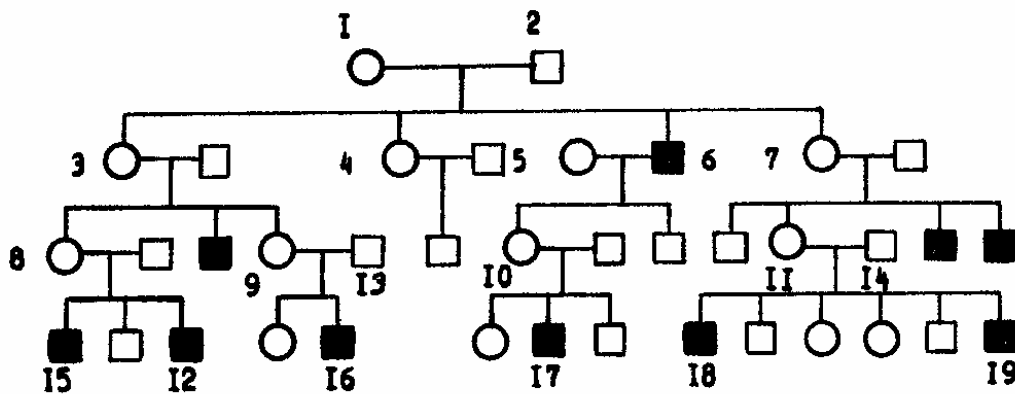


2)



ЗАВДАННЯ 7. Успадковування, зчеплене з статтю.

Ознайомитись із запропонованим родоводом успадковування, зчепленого зі статтю.



Провести генетичну консультацію:

1) У людини ген, що визиває одну з форм кольорової сліпоты, або дальтонізм, локалізований у Х-хромосомі. Стан хвороби опосередковується рецесивним геном, стан здоров'я – доміантним.

Дівчина, що має нормальний зір, батько якої мав кольорову сліпоту, виходить заміж за нормального чоловіка, батько якого також страждав кольоровою сліпотою. Який зір чекати у дітей від цього браку?

2) Потемніння зубів може визначатися двома доміантними генами, один з яких розташований в аутосомах, а інший – в Х-хромосомі.

У сім'ї батьків, що мають темні зуби, народилися дочка і хлопчик з нормальним кольором зубів. Визначте імовірність народження у цій сім'ї наступної дитини також без аномалій, якщо вдалося встановити, що темні зуби матері обумовлені лише геном, зчепленим з Х-хромосомою, а темні зуби батька – аутосомним геном, за яким він гетерозиготний.

3) У людини класична гемофілія успадковується як зчеплена з Х-хромосомою рецесивна ознака. Альбінізм обумовлений аутосомним рецесивним геном. У однієї подружньої пари, нормальної за цими двома

ознаками, народився син з обома аномаліями. Яка імовірність того, що у другого сина у цій сім'ї проявляться також обидві аномалії одночасно?

## БІОХІМІЧНІ МЕТОДИ

МЕТА: засвоїти біохімічні методи, які використовуються у генетиці людини, встановити їх роздільну здатність; навчитися проводити біохімічний аналіз.

### ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ:

1. Біохімічний метод у генетиці людини, його роздільна здатність.
2. Групи захворювань, що можуть бути досліджені за допомогою біохімічних методів.

### НАВЧАЛЬНІ ЗАВДАННЯ

ЗАВДАННЯ 1. Генетичні аномалії, клінічні прояви, частота серед новонароджених, тип наслідування основних груп порушень, пов'язаних з біохімічними процесами у організмі людини (обговорення матеріалів для самостійної роботи, презентацій).

Теми рефератів:

- 1) Захворювання, обумовлені порушенням амінокислотного обміну. Приклади захворювань, механізм розвитку патології, клінічні прояви.
- 2) Захворювання, обумовлені порушенням вуглеводного обміну. Приклади захворювань, механізм розвитку патології, клінічні прояви.
- 3) Захворювання, обумовлені порушенням ліпідного обміну. Приклади захворювань, механізм розвитку патології, клінічні прояви.
- 4) Захворювання, обумовлені порушенням стероїдного обміну. Приклади захворювань, механізм розвитку патології, клінічні прояви.
- 5) Захворювання, обумовлені порушенням пуринового та піримідинового обміну. Приклади захворювань, механізм розвитку патології, клінічні прояви.
- 6) Захворювання, обумовлені порушенням обміну речовин у сполучній тканині, м'язах та кістках. Приклади захворювань, механізм розвитку патології, клінічні прояви.
- 7) Захворювання, обумовлені порушенням структури гема та порфірина. Приклади захворювань, механізм розвитку патології, клінічні прояви.
- 8) Захворювання, обумовлені порушенням обміну речовин у еритроцитах та порушенням їх структури. Приклади захворювань, механізм розвитку патології, клінічні прояви.
- 9) Аномалії обміну металів. Приклади захворювань, механізм розвитку патології, клінічні прояви.
- 10) Захворювання, що характеризуються дефектом транспорту різних речовин. Приклади захворювань, механізм розвитку патології, клінічні прояви.
- 11) Захворювання, опосередковані аномаліями структури та функції ферментів та білків плазми. Приклади захворювань, механізм розвитку патології, клінічні прояви.

Розглянути класифікацію спадкових хвороб обміну речовин у людини, обумовлених мутаціями домінантних та рецесивних генів, локалізованих в аутосомах та в статевих хромосомах. Записати:

Порушення обміну речовин	Приклад захворювання	Тип успадкування
Амінокислотний		
Ліпідний		
Вуглеводний		
Сполучної тканини		
Транспортних систем		
Гормонів та їх транспорту		
Металів		

Коротко описати фенотипічну характеристику деяких генних хвороб.

**ЗАВДАННЯ 2.** Експрес діагностика фенілкетонурії.

Тест з 10%-м розчином хлориду заліза ( $\text{FeCl}_3$ ). Застосовується для визначення у сечі фенілпіровиноградної кислоти та її похідних при фенілкетонурії.

При додаванні хлорного заліза до кислої сечі з'являється зелене фарбування, інтенсивність і стійкість якого відповідає концентрації фенілпіровиноградної кислоти та її похідних у сечі. Чуттєвість тесту – 5-10мг%. Для експрес діагностики фенілкетонурії випускають індикаторні папірці, просочені забуференим розчином хлорного заліза (феністікс, ріофан), за допомогою яких можна у мокрих пелюшках хворої дитини встановити надлишкову кількість кетокислоти і тим самим виявити наявність хвороби.

Провести експрес діагностику запропонованих біологічних зразків на наявність фенілкетонурії у обстежених осіб. Скласти схему генетичних блоків при фенілкетонурії та їх генокопій.

## **БЛИЗНЮКОВИЙ МЕТОД**

**МЕТА:** засвоїти близнюковий метод, встановити його роздільну здатність; навчитися проводити близнюковий аналіз.

**ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ:**

1. Близнюковий метод (БМ). Характеристика явища близнюковості.
2. БМ. Етапи виконання. Правила складання вибірки і методи встановлення зиготності.
3. БМ. Визначення конкордантності й аналіз долі успадкування і середовища.

## НАВЧАЛЬНІ ЗАВДАННЯ

ЗАВДАННЯ 1. Морфо-фізіологічне порівняння моно- і дизиготних близнюків.

Заповнити таблицю.

Ознака	Монозиготні близнюки	Дизиготні близнюки
1. Кількість статевих клітин, що приймають участь в утворенні		
2. Приживання шкірного трансплантата (приживання, відторгнення)		
3. Групи крові системи АВО (однакові, різні)		
4. Стать (однакова, різна)		
5. Позазародкові органи (спільні, індивідуальні)		
6. Імовірність конкордантності при сумісному проживанні а) кіррю; б) туберкульозом (наближується до 100%, великі відмінності)		

ЗАВДАННЯ 2. Розташування плаценти та плідних оболонок у близнюків.

Схематично замалювати особливості розташування плаценти та плідних оболонок у дизиготних та монозиготних близнюків (в тому числі у останніх - в залежності від стадії дроблення яйцеклітини).

ЗАВДАННЯ 3. Рівень успадкованості морфо-фізіологічних та психологічних ознак.

Ознайомитись з рівнем успадковування морфо-фізіологічних та психологічних ознак у приведеній в методичних вказівках таблиці, зробити відповідні висновки.

### Успадкованість ознак

Ознаки	Успадкованість
Склад тіла	0,81
Зріст у положенні сидячи	0,76
Маса	0,78
Головний індекс	0,75
Індекс інтелектуальності за Біне	0,68
Індекс інтелектуальності за Отісом	0,80
Вербальні здібності	0,68
Арифметичні здібності	0,68
Здібності до природничих наук	0,34
Здібності до історії та літератури	0,45
Орфографічні здібності	0,53
Швидкість постукування ногою	0,50

#### ЗАВДАННЯ 4. Коефіцієнт успадкованості.

Розрахувати коефіцієнти успадкованості за формулою Хольцингера та зробити висновок про внесок факторів навколишнього середовища та спадковості у формуванні патологічних станів та певних фізіологічних ознак.

Конкордантність близнюків при різних захворюваннях та фізіологічних ознаках

Хвороба/ознака	Однояйцеві близнюки	Двойцеві близнюки	Коефіцієнт успадкованості
Скарлатина	54,6	47,1	
Дифтерія	50,0	37,1	
Вітряна віспа	92,8	89,1	
Ангіна	51,5	39,7	
Кір	98	94	
Коклюш	97	93	
Свинка	82	74	
Пневмонія	32,3	18,4	
Поліомієліт	35,7	6,1	
Туберкульоз	52,8	20,6	
Групи крові АВО	100,0	64,0	
Форма грудної клітки	96,0	60,0	
Заяча губа	53	5	
Клишоногість	32	3	

#### ЗАВДАННЯ 5. Роль успадкованості та середовища при захворюваннях близнюків.

Розрахувати коефіцієнти успадкованості за формулою Хольцингера.

Частота захворювань другого близнюка (%) у випадку захворювання одного з них.

Хвороби	Однояйцеві близнюки	Двойцеві близнюки	Коефіцієнт успадкованості
Апендицит	29,0	16,0	
Гіпертонія	25,0	9,4	
Ішемічна хвороба серця	67,0	43,0	
Крововилив у мозок	22,4	10,8	
Інфаркт міокарду	19,6	15,5	
Уроджений стеноз ворота воротаря	67	3	
Уроджений вивих стегна	41	3	
Ревматоїдний артрит	37	7	
Доброякісна пухлина	20	12,7	

Пухлини однакового типу	59,0	25,0	
Паралітичний поліомієліт	36,0	6,0	
Хвороба Дауна	79,0	7,0	
Шизофренія	86,0	14,0	
Маніакальний депресивний психоз	67	5	
Епілепсія	67	3	
Цукровий діабет	65	18	
Бронхіальна астма	47	24	
Ендемічний зоб	71	70	
Рахіт	88	22	
Екзема	28,6	8	
Виразкова хвороба шлунку та дванадцятипалої кишки	50	14	

Зробити висновок про роль спадковості та факторів навколишнього середовища у формуванні патологій, наведених у таблиці.

**ЗАВДАННЯ 6.** Роль спадковості та чинників середовища в розвитку нормальних ознак людини

Зробіть висновок про відносну роль спадковості та чинників середовища в розвитку вказаних у таблиці нормальних ознак людини (вказаний відсоток дискордантності близнюків).

Близнюки	Дискордантність (%) за наступними ознаками						
	Початок ходіння (вік)	Колір			Форма		Папілярні лінії
		Око	Волосся	Шкіра	Волосся	Ніс	
MZ	33	0	3	0	0	2	0
DZ	70	72	77	55	21	80	60

## ПОПУЛЯЦІЙНО-СТАТИСТИЧНИЙ МЕТОД

**МЕТА:** Вивчити закон Харді-Вайнберга та його застосування в популяційно-статистичному методі.

### ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ:

1. Формулювання закону Харді-Вайнберга.
2. Роздільна здатність популяційно-статистичного методу.
3. Етапи популяційно-статистичних досліджень.

## НАВЧАЛЬНІ ЗАВДАННЯ

### ЗАВДАННЯ 1. Визначення ознак ідеальної популяції.

Запишіть до лабораторного зошита ознаки ідеальної популяції.

### ЗАВДАННЯ 2. Рішення задач за підрахунком генотипів в популяціях людини.

Визначення вірогідності настання генетично обумовлених подій. Завдання цього типу має велике значення. Зазвичай їх доводиться виконувати при медико-генетичному консультуванні для визначення вірогідності народження в даній сім'ї дитини зі спадковою патологією. У цих випадках крім знання законів спадковості й загальних методів виконання генетичних завдань, потрібно використовувати основні положення теорії вірогідності:

1. Вірогідність настання події не залежить від попередніх аналогічних подій (вірогідність прийнято виражати в долях одиниці або відсотках). Наприклад, вірогідність народження хлопчика в конкретній сім'ї можна вважати близькою до 50 %, оскільки співвідношення сперматозоїдів з «X» або з «Y» хромосомами складає 1:1 (або 50:50 %). Але якщо в цій сім'ї вже народився хлопчик, то вірогідність народження у нього брата також складає 50%..

2. Для обчислення вірогідності настання двох (або більше) однакових подій, не залежних одна від одної, потрібно перемножити їх вірогідність. Наприклад, щоб обчислити вірогідність того, чи будуть обидві дитини в даній сім'ї хлопчиками, потрібно перемножити вірогідність народження кожного хлопчика, тобто  $\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$  (25 %).

3. Для обчислення вірогідності того, трапитися або одна, або інша з декількох незалежних подій, потрібно скласти їх вірогідність. Наприклад, вірогідність мати в сім'ї двох дітей різної статі (тобто хлопчика і дівчинку) дорівнює  $\frac{1}{4} + \frac{1}{4} = \frac{1}{2}$ . За другим правилом множення вірогідність того, що в сім'ї спочатку народиться хлопчик, а потім дівчинка складає  $\frac{1}{4}$ , а вірогідність того, що першою буде дівчинка, а потім хлопчик – теж  $\frac{1}{4}$ .

Перераховані правила дозволяють визначити вірогідність появи певних генотипів при різних типах схрещувань.

Задача 1. Спадкова хвороба обумовлена рецесивним алелем а. З чотирьох дідусів і бабусь дитини всі були здорові, але дідусь дитини з боку матері і бабуся з боку батька були гетерозиготними за геном а. Яка імовірність того, що дитина буде хвора на спадкову хворобу?

Задача 2. Якими будуть нащадки від батьків, якщо батько страждає мігренню (М - домінуюча ознака), а мати не має цього захворювання. У батька нормальний слух (С), мати теж має нормальний слух, але є гетерозиготною за цим захворюванням. Яка імовірність захворювання дітей обома хворобами або однією з них? При яких генотипах у них можуть народитися нормальні діти?

### ЗАВДАННЯ 3. Генетична структура популяцій. Рішення задач.

Задача 1. При дослідженні груп крові за системою М в популяції з 4200 осіб 1218 - мають групу MM, 882 - групу NN, а 2100 - групу MN. Потрібно визначити частоту всіх трьох генотипів у популяції.

Задача 2. У популяції з 32 510 осіб виявлено 36 хворих певним рецесивним захворюванням. Визначити частоту цього захворювання.

Задача 3. Альбіноси народжуються з частотою 1 на 20 000 осіб. Необхідно визначити частоту рецесивного алелю альбінізму та частоту гетерозиготних носіїв альбінізму.

Задача 4. У популяції людини особи з карими очима зустрічаються у 51% (або 0,51), з блакитними – у 49% (0,49). Карі очі домінують над блакитними. Визначити частоту гомозиготних та гетерозиготних осіб з карими очима.

Задача 5. Носіями лямблій є 32% практично здорових осіб. Клінічно виражений лямбліоз реєструється у 4%. Інтактними є 64% людей, у їх кишківнику лямблій відсутні.

Формула Харді-Вайнберга дає можливість не тільки давати оцінку генетичному складу популяції людини. Це правило також можна використовувати і для вирішення питання про роль генетичних особливостей у виникненні схильності до тої чи іншої придбанної ознаки, наприклад, при оцінці характеру взаємовідношень, які складаються між тими чи іншими видами паразитів та людини.

Популяція складається з 64% гомозигот ЛЛ, 4% гомозигот лл та 32% гетерозигот Ll. Необхідно визначити частоту p (алеля L) та частоту q (алеля l).

Задача 6. У популяції з 84 000 осіб виявлено 210 хворих рецесивним захворюванням. Встановити частоту гетерозигот.

Задача 7. У районі з населенням у 280 000 осіб виявлено 7 хворих на хворобу Шпильмайера-Фохта (юнацька форма амавротичної ідіотії). Це рецесивне захворювання (aa). Необхідно визначити частоту генотипу aa, вирахувати кількість хворих на 1 000 000 населення.

Задача 8. У районі з населенням у 50 000 осіб виявлено 12 хворих на муковісцидоз (рецесивна форма захворювання aa). Визначити частоту генотипу aa, розрахувавши кількість хворих на 100 000 населення.

Задача 9. З 27 312 дітей, які народилися у місті, виявлено 32 дитини з рецесивною формою захворювання aa. Визначити частоту генотипу aa серед новонароджених (виразити її десятковою дріб'ю). Встановити, на яку кількість новонароджених приходиться одна дитина з генотипом aa.

Задача 10. Серед 26 000 дітей виявлено 11 гомозигот, хворих рецесивним захворюванням. Визначити: а) розповсюдженість захворювання; б) генетичну структуру популяції.

Задача 11. У популяції Аляски спадкова метгемоглобінемія зустрічається з частотою 0,09%. Це рецесивна форма захворювання. Необхідно: 1) визначити частоту алелей A та a у цій популяції; 2) визначити частоту гетерозиготних носіїв у цій популяції.



Задача 12. Розподіл людей за групами крові MN серед населення США у 80-ті роки XX століття було наступним: 29,16% мали групу крові MM, 49,58% - MN та 21,26% - NN.

На основі розрахунків за формулою Харді-Вайнберга можна виявити, одним або багатьма генами визначається та чи інша ознака. Якщо частота розподілу гомозигот та гетерозигот у популяції відповідає розрахунковій, це свідчить, що дана ознака або властивість визначається одним геном або однією парою алелей.

Визначити, чи відповідає розрахунковій частота розподілу гомо- та гетерозигот у наведеному прикладі населення США за еритроцитарними антигенами крові системи MN.

Задача 13. Фенілкетонурія - генне рецесивне захворювання, яке характеризується відсутністю ферменту, який перетворює фенілаланін у тирозин. Визначення кількості не тільки хворих на фенілкетонурію, але й гетерозиготних носіїв має профілактичну мету, так як у гетерозигот активність даного ферменту значно знижена (майже на 50%) порівняно зі здоровими особами.

Частота зустрічаємості фенілкетонурії - приблизно 1 хворий на 40 000 населення. Привести склад популяції з 40 000 осіб (вказати кількість гомо- та гетерозиготних осіб).

Задача 14. У людини ген «резус позитивний» є доміантним по відношенню до гена «резус негативний». У обстеженій по цьому показнику популяції 972 людини були резус позитивними, а 378 - резус негативними.

1. Яка частота рецесивного алеля?
2. Яка частота доміантного алеля?
3. Скільки осіб (%) є доміантними гомозиготами?
4. Скільки осіб гетерозиготними за цими алелями?
5. У іншій обстеженій популяції 91% людей були резус позитивними. Який відсоток серед них були гетерозиготними по даному гену?

Задача 15. У людини відсутність пігментації шкіри, волосся і райдужної оболонки очей (альбінізм) обумовлена рецесивним алелем; нормальна пігментація – доміантним. У обстеженій за цією ознакою популяції серед 20000 людей виявлено 412 альбіноси.

1. Який відсоток людей є гомозиготними рецесивами по даному гену?
2. Яка частота рецесивного алеля?
3. Яка частота доміантного алеля?
4. Скільки осіб (%) є доміантними гомозиготами?
5. Скільки осіб гетерозиготні по даному алелю?

Задача 16. Галактоземія (нездатність засвоювати молочний цукор) успадковується за аутосомно-рецесивним типом. Частота хворих галактоземією 1:70000. Визначите генотипічну структуру популяції.

## **ІЗОАНТИГЕННИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ЗА ЕРИТРОЦИТАРНИМИ ТА ЛЕЙКОЦИТАРНИМИ АНТИГЕНАМИ**

**МЕТА:** Вивчити ізоантигенний еритроцитарний та лейкоцитарний поліморфізм і його біологічне значення.

### ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ:

1. Устадковування груп крові за системою АВО, Rh.
2. Ізоантигенний поліморфізм за еритроцитарними та лейкоцитарними антигенами.
3. Біологічне значення поліморфізму за еритроцитарними антигенами та за HLA-системою.
4. Генетична схема HLA-системи.
5. Схема H-2 локусу миші.
6. Програма «HLA і хвороби» у медико-генетичній службі.

### **НАВЧАЛЬНІ ЗАВДАННЯ**

**ЗАВДАННЯ 1.** Генотипічна та фенотипічна характеристика груп крові людини за системою АВО.

Розібрати механізми успадковування 4-х груп крові людини, їх генотипічну та фенотипічну характеристику. Заповнити таблицю можливих генотипів та фенотипів груп крові системи АВО.

Група крові	Можливий генотип	Фенотип	
		антигени на еритроцитах	антитіла у сироватці крові

**ЗАВДАННЯ 2.** Стрілками позначити можливі генетично детерміновані варіанти трансфузій. Вказати причини труднощів при лабораторному визначення груп крові людини.

**II (A)**

**I (O)**

**IV (AB)**

**III (B)**

ЗАВДАННЯ 3. Механізми успадковування груп крові системи АВО.

Рішити ситуаційні задачі. Визначити та записати можливі генотипи батьків та варіанти можливих фенотипів та генотипів їх дітей.

Група крові батька та матері	Варіанти можливих генотипів батьків	Групи крові дітей	Варіанти можливих генотипів дітей
О х О			
О х А			
О х В			
О х АВ			
А х В			
А х АВ			
В х АВ			
АВ х АВ			

ЗАВДАННЯ 4. Генотипічна та фенотипічна характеристика груп крові людини системи Rh.

Розібрати генетичні механізми успадковування резус-фактора у людини. Заповнити таблицю можливих генотипів та фенотипів груп крові системи Rh.

Група крові	Можливий генотип	Фенотип	
		еритроцити	сироватка крові

ЗАВДАННЯ 5. Стрілками вказати можливі за Rh-фактором варіанти гемотрансфузій від донора до реципієнта.

**Донор Rh (+)**

**Реципієнт Rh (-)**

**Реципієнт Rh (+)**

**Донор Rh (-)**

ЗАВДАННЯ 6. Механізми успадковування Rh-фактора та імовірність розвитку Rh-конфлікту.

Впишіть до таблиці генотипи батьків та можливі фенотипи та генотипи їх дітей. Відмітьте варіанти розвитку Rh-конфлікту.

Мати		Батько		Діти можливі фенотипи та генотипи	Rh-конфлікт
фенотип	генотипи	фенотип	генотипи		
Rh (+)		Rh (+)			
Rh (+)		Rh (-)			
Rh (-)		Rh (+)			
Rh (-)		Rh (-)			

### ЗАВДАННЯ 7. Механізм розвитку Rh-конфлікту.

Складіть та занесіть до лабораторного зошита схему механізму розвитку імунологічного конфлікту за Rh-фактором. Вкажіть наслідки Rh-конфлікту для плоду та варіанти профілактичних заходів щодо нього.

### ЗАВДАННЯ 8. Рішення ситуаційних задач.

Задача 1. У людини групи крові визначаються трьома алелями одного локусу. Гени прийнято записувати  $I^A$ ,  $I^B$  и  $I^0$ . Батьки мають II і III групи крові. Які групи крові можна чекати у дітей?

Задача 2. Мати із II групою крові має дитину з I групою крові. Встановіть можливі групи крові батька.

Задача 3. У матері I група крові, у батька IV. Чи можуть діти успадкувати групу крові одного з своїх батьків?

### ЗАВДАННЯ 9. Рішення задач по успадковуванню груп крові за системами ABO, Rh.

Задача 1. Чоловік з резус-негативною кров'ю IV групи одружився на жінці з резус-позитивною кров'ю III групи. У батька дружини була резус-негативна кров I групи. У сім'ї є дві дитини: перша - з резус-негативною кров'ю III групи, друга - з резус-позитивною кров'ю I групи. Судово-медична експертиза встановила, що одна з них - позашлюбна. За якою ознакою можна виключити батьківство?

Задача 2. Обидва батьки резус-позитивні (Rh), але батько блакитноокий, а мати - кароока. У них народилося п'ятеро дітей, з яких четверо – резус-позитивні, але 2 - блакитнооки, а 2 - карооки. Одна дитина - блакитноока і резус-негативна (rh). Визначте генотипи батьків (позитивний резус-фактор і карі очі - домінантні не зчеплені ознаки).

Задача 3. Резус позитивна жінка з кров'ю II групи, батько якої мав резус-негативну кров I групи, вийшла заміж за резус-негативного чоловіка з I групою крові. Яка імовірність того, що дитина успадкує обидві ознаки батька?

Задача 4. Чоловік з нормальним згортанням крові 4-ої групи і Rh(-) одружився на жінці, яка має кров з нормальним згортанням 1-ої групи та Rh(+). Відомо що батько цієї жінки страждав гемофілією і був Rh(-). Які фенотипи можна чекати у дітей цього подружжя і з якою відносною частотою?

### ЗАВДАННЯ 10. Генетична схема HLA-системи.

Занести до лабораторного зошита генетичну схему HLA-системи.

### ЗАВДАННЯ 11. Генетична схема H-2 системи.

Занести до лабораторного зошита генетичну схему H-2 системи.

### ЗАВДАННЯ 12. Програма «HLA і хвороби» у медико-генетичній службі (обговорення матеріалів для самостійної роботи, презентацій).

Коротко описати генетичні аспекти та фенотипічну характеристику деяких хвороб, пов'язаних з представленістю генів HLA.



**ЗАВДАННЯ 3.** Імунологія репродукції. Імунологічні фактори у розвитку безпліддя.

Дати характеристику основних імунологічних механізмів при розвитку безпліддя. Зверніть увагу на значення генетичних відмінностей між подружжям за антигенами гістосумісності системи HLA для фізіологічної вагітності.

**ЗАВДАННЯ 4.** Ситуаційні завдання за підрахунками ризику захворювань у конкретного подружжя.

Легенда сім'ї 1. Одружуються дівчина, хвора на цукровий діабет, і короткозорий хлопець. Які у них можуть бути діти? Чи народжуватимуться у них цілком здорові онуки, якщо вони одружаться на особах, які не мають цих ознак? Яка імовірність народження онуків, хворих одним або двома захворюваннями, гетерозиготних за цими ознаками? Цукровий діабет - рецесивна ознака, короткозорість - домінантна.

Легенда сім'ї 2. Глаукома у людини успадковується декількома шляхами. Одна форма визначається домінантним аутосомним геном, інша – рецесивним, теж аутосомним. Яка імовірність народження дитини з аномалією у випадку, якщо батьки страждають різними видами глаукоми і мати гетерозиготна?

Легенда сім'ї 3. Основні симптоми волосо-зубо-кісткового синдрому (аутосомно-домінантний тип успадковування): гіпоплазія емалі зубів, зуби мілкі, курчаче волосся, довгі загнуті вії, затримка прорізування зубів, розшарування нігтів, легко виникають переломи кісток тощо.

До медико-генетичної консультації звернулося подружжя з питанням, яка дитина у них може народитися, якщо мати здорова, а у чоловіка та дочки волосо-зубо-кістковий синдром. Батьки матері та всі інші родичі здорові. Відомості про біологічних батьків чоловіка відсутні (він усиновлений). Фенотип чоловіка: волосся курчаче, нігті розшаровуються, зуби мілкі, емаль зубів тонка. Фенотип дочки: волосся курчаче, довгі загнуті вії, зуби мілкі, широко розставлені, прорізувались із значним запізненням.

Зобразити родовід та проаналізувати його. Чи можливо дати подружжю однозначну відповідь? Якщо ні, то чому? Чим можна пояснити різну ступінь проявлення захворювання у батька та дочки? Враховуючи фенотип хворих на волосо-зубо-кістковий синдром, чи можлива пренатальна діагностика при цій хворобі?

Легенда сім'ї 4. Дружина здорова (здорові і її батьки), у чоловіка іхтіоз. Батьки чоловіка: батько здоровий, у матері іхтіоз. З трьох дітей у цій сім'ї дочка та старший син здорові, у молодшого сина діагностовано іхтіоз. Старший син (про банд) одружується і його хвилює питання, чи будуть його діти хворими на іхтіоз (його майбутня дружина здорова).

## ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ МЕТОД

МЕТА : Освоїти цитогенетичний метод генетики людини та встановити його роздільну здатність.

### ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ:

1. Становлення поглядів на природу спадковості.
2. Методи визначення статевого хроматину X.
3. Флуоресцентний метод визначення Y-хроматину.
4. Аналіз каріотипу при G-забарвленні.
5. Аналіз каріотипу хворого з синдромом Дауна.
6. Аналіз мутагенезу за сестринськими хроматидними обмінами.
7. Методичні прийоми отримання препаратів хромосом з культури лімфоцитів.
8. Аналіз каріотипу 45, XX, робертсонівська транслокація 13-15.

### НАВЧАЛЬНІ ЗАВДАННЯ

ЗАВДАННЯ 1. Ознайомитись з принципом та роздільною здатністю цитогенетичних методів дослідження у генетиці людини.

Принцип цитогенетичного методу. Цитогенетика вивчає генетичні структури за допомогою мікроскопу: хроматин інтерфазного ядра та хромосоми в період ділення. Хроматин інтерфазного ядра аналізується зв'язаний з статевими хромосомами та нестатевими. Аналіз нестатевого хроматину дає інформацію о стану метаболічної активності ядра та клітини. Так, хроматизація та гіперхроматизація свідчить про зниження синтетичної активності ядра упритул до його інактивації. Активний стан ядра співпадає з мілкодисперстним хроматином, відсутністю хромоцентрів, наявністю ядерця. Аналіз статевого хроматину X та Y дозволяє проводити експрес аналіз набору хромосом: ауто- та статевих хромосом. Найбільш інформативним у цитогенетиці є аналіз хромосом ядер, що діляться. У цитогенетиці використовують два підходи до аналізу хромосом: ана-тілофазний та метафазний. Ана-тілофазний реєструє хромосомні аберації за наявністю фрагментів та мостів. Він більш оперативний, ніж метафазний, але менш точний. Тому основним є метафазний метод хромосомного аналізу.

Роздільна здатність цитогенетичних методів:

- 1) вивчення функціонального стану клітин та їх популяцій (аналіз глибок ядра, частоти асоціацій акроцентричних хромосом);
- 2) вивчення спонтанного та індукованого мутагенезу (за частотою мостів та фрагментів у метафазному методі, числом сестринських хромосомних обмінів (інтерфазний метод) та числом хромосомних і геномних мутацій при метафазному методі);
- 3) вивчення каріотипу людини в нормі та при патології (діагностика хромосомних хвороб – метафазний метод);
- 4) популяційно-статистичні дослідження (аналіз інтерфазного ядра метафазним методом – C-фарбування).

**ЗАВДАННЯ 2.** Проаналізувати основні етапи метафазного методу хромосомного аналізу в імуноцитогенетиці.

2.1. Взяття крові з антикоагулянтами.

2.2. Постановка культури лімфоцитів. Даний етап схожий з методом РБТЛ. У залежності від кількості взятої крові на аналіз і мети експерименту ставлять культури лімфоцитів із цільної крові, із лейкомаси, одержаної осадженням еритроцитів, або із лімфоцитів, виділених на фікол-верографіновому градієнті. Для стимуляції проліферації лімфоцитів застосовують ФГА, КонА, МЛ та інші мітогени. Час культивування для культур з ФГА дорівнює 50-54 години, коли лімфоцити діляться перший раз. При цьому їх цитогенетична характеристика співпадає стану до культивування як в організмі.

2.3. Зупинка мітозів колхіцином. За 2 год. до закінчення культивування додають колхіцин (0,5 мкг/мл), що заважає створенню веретена поділу і зупиняє мітози на стадії метафази.

2.4. Гіпотонічний шок. Культуральне середовище при допомозі центрифугування замінюють на 0,56% розчин КСІ 37 °С на 15-20 хв. У цей час лімфоцити набрякають і вільні хромосоми рівномірно розташовуються по цитоплазмі клітини.

2.5. Фіксація культури. Гіпотонічний розчин замінюють на охолоджений до +4 °С фіксатор. Час фіксації 20-30 хв.

2.6. Приготування препаратів хромосом. Фіксатор замінюють на нову порцію, залишаючи 0,3 мл, у якому суспендують клітини і наносять їх на охоложене вологе предметне скло. При висиханні клітини розпластуються і хромосоми розташовуються у одній площині у вигляді метафазних пластинок. Препарати фарбують 15% розчином Романовського-Гімзи.

2.7. Мікроскопія препаратів. На малому збільшенні відшуковують метафази з рівномірно розподіленими без накладок хромосомами і аналізують на великому збільшенні відповідно Денверської номенклатури.

**ЗАВДАННЯ 3.** Складання і аналіз каріотипу людини.

З розрізаного набору хромосом складіть каріотип людини згідно Денверської системи класифікації і порівняйте його з ідеограмою здорової людини. Визначите:

1) загальне число хромосом;

2) статеві хромосоми і аутосоми;

3) стать;

4) нормальний каріотип або патологія. Запишіть його формулу.



## Денверська номенклатура хромосом людини

Групи хромосом	Номер і центральний індекс пари гомологічних хромосом	Морфологія хромосом
A	1 (49), 2 (38), 3 (47).	1. Найбільша метацентрична 2. Найбільша метацентрична 3. Велика метацентрична
B	4; 5 (29)	Великі субметацентричні хромосоми (центромера сильно зсунута до кінця)
C	6 (37) -X- 12 (29)	Середні субметацентричні
D	13,14,15 (18)	Акроцентричні великі. Короткі плечі є вторинними перетяжками, що часто мають супутники
E	16 (40), 17 (34), 18 (29)	Маленькі субметацентричні
F	19; 20 (46)	Маленькі метацентричні
G та Y	21; 22 (18)	Маленькі акроцентричні. Короткі плечі є вторинними перетяжками, що часто мають супутники (окрім Y-хромосоми)

Примітка: У дужках приведений центромірний індекс ( ЦІ) у відсотках, розрахований за формулою:

$$\text{ЦІ} = \frac{\text{ДОВЖИНА КОРОТКОГО ПЛЕЧА} \times 100}{\text{ДОВЖИНА ВСІЄЇ ХРОМОСОМИ}}$$

При розподілі хромосом слід враховувати їх розміри, положення центрмери (центромірний індекс), наявність супутників. Розподіл хромосом проводять у порядку зменшення від великих до дрібних з розподілом на 7 груп:

Група А: 1, 3 пари. Великі метацентричні хромосоми. 2 – найбільша пара субметацентричних хромосом

Група В: 4-5 пари. Великі субметацентричні хромосоми.

Група С: 6-12 пари. Середні субметацентричні хромосоми.

Група D: 13-15 пари. Великі акроцентричні хромосоми, що мають супутників.

Група E: 16-18 пари. Дрібні субметацентричні хромосоми; 16-17 пар мають вторинну перетяжку поблизу центрмери.

Група F: 19-20 пари. Дрібні метацентричні хромосоми.

Група G: 21-22 пари. Дрібні акроцентричні хромосоми, на короткому плечі мають супутник.

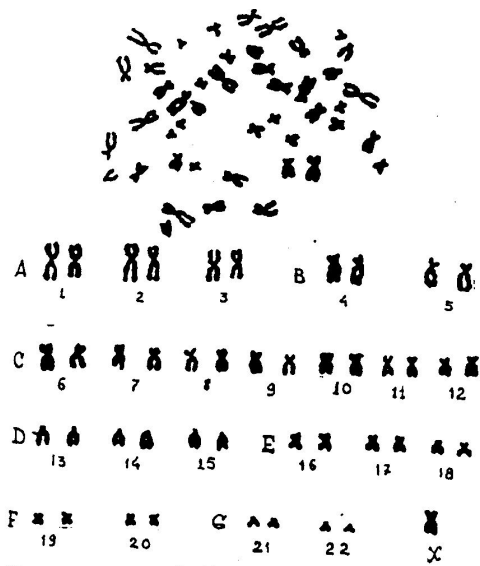
X-хромосома відноситься до групи С, схожа з 6-ою і 7-ою парами.

Y-хромосома - маленька акроцентрична, схожа по розмірах і формі з хромосомами 21-ої і 22-ої пар, але відрізняється від них відсутністю супутників і наявністю вторинної перетяжки в середині короткого плеча.

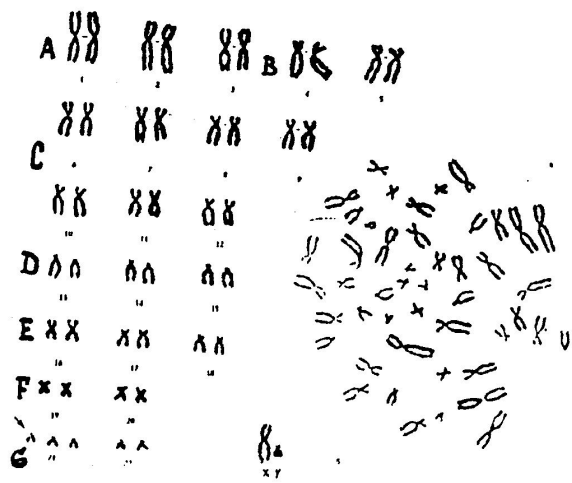
При роботі слід спочатку виділити хромосоми, що належать до груп А і В, далі знайти хромосоми груп D, G, E і F. В останню чергу слід виділити хромосоми групи С і статеві хромосоми.

**ЗАВДАННЯ 4. Аналіз каріотипів людини з аномальним числом хромосом.**

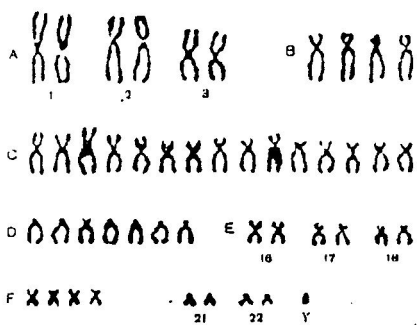
Розглянути і проаналізувати каріограми людини. Звернути увагу на групи хромосом із зміненим числом. Записати каріотип і відповідний діагноз.



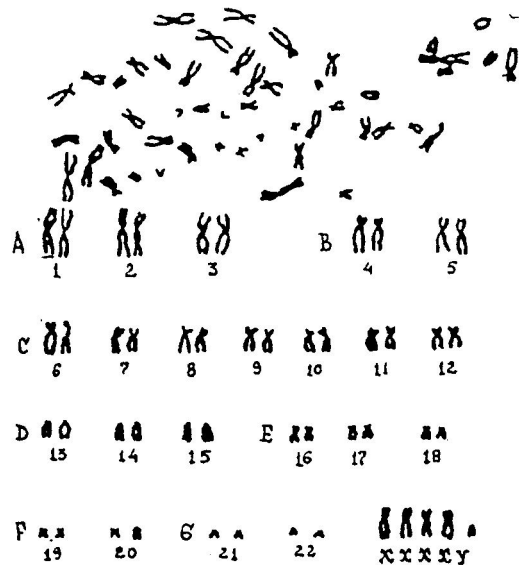
Каріограма 1. Каріотип.....  
Діагноз.....



Каріограма 2. Каріотип.....  
Діагноз.....



Каріограма 3. Каріотип.....  
Діагноз.....

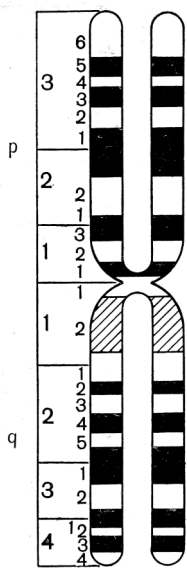


Каріограма 4. Каріотип.....  
Діагноз.....

**ЗАВДАННЯ 5.** Каріотип людини, враховуючи Денверську та Паризьку номенклатури при G-фарбуванні.

На мікрофотографіях знайти пари метафазних хромосом із умовним їх замалюванням.

Характеристика хромосом при диференційному фарбуванні згідно Паризької номенклатури. При визначенні хромосом використовують 4 критерії: 1) порядковий номер хромосоми; 2) буквенне позначення плеча (р – мале, q – велике); 3) номер ланки (вони нумеруються від центромери - 1, 2, 3, 4 - у залежності від розміру плеча); 4) номер сегменту в даній ланці хромосоми (вони також нумеруються від центромери – 1, 2, 3, 4 – у залежності від числа ланок і G-дисків). Наприклад, 1 р 3 5 вказує, що хромосома – перша, коротке плече, ланка третя, сегмент п'ятий. Ланки (райони) та сегменти нумеруються послідовно від центромери у бік теломери незалежно у кожному плечі хромосоми. Сегменти у районі центромери зазначаються цифрою 1, дистальний сегмент – 2 і т. д. При описуванні каріотипу людини вказується загальна кількість хромосом та набір статевих хромосом після коми, далі відмічається тип аберації, якщо вона є, яка хромосома лишня, якої не достає, структурні зміни.



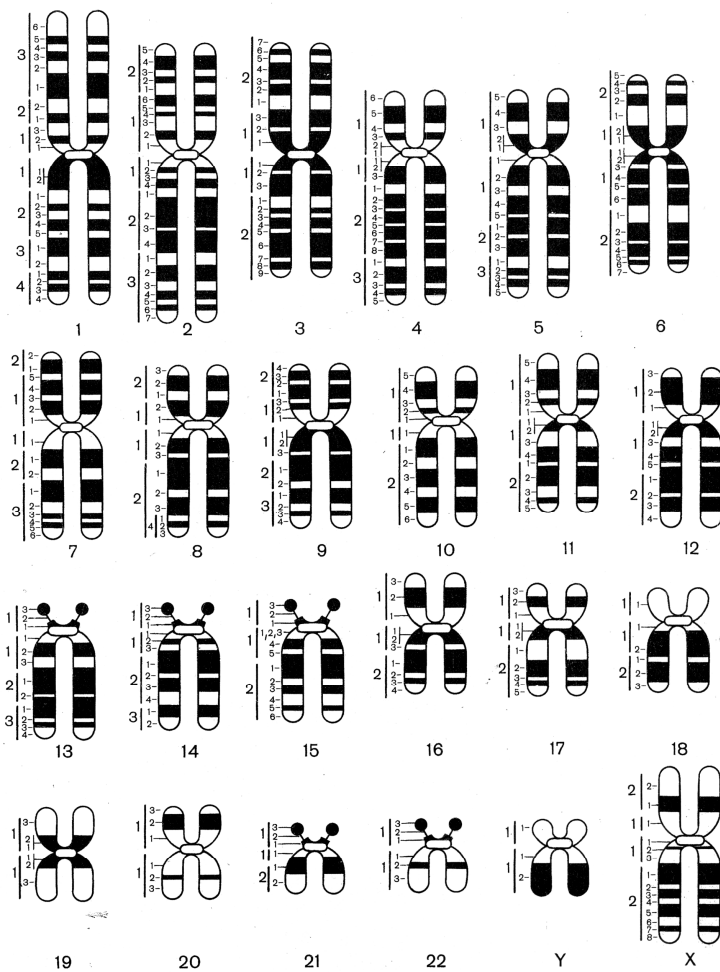
Цитологічна схема аутосоми 1 людини після диференціального фарбування Q-, G- та R-методами, згідно Паризької номенклатури:

- р – коротке плече;
- q – довге плече;
- великі цифри – сегменти, які виявляються при будь-якому ступені диференціровки;
- малі цифри – лінійна диференціровка при максимальному виявленні;
- - негативні або блідо пофарбовані Q- та G-полос; позитивне – R-полос;
- - позитивне фарбування Q- та G-полос; негативне – R-полос;
- ▨ - варіабельне фарбування (по А. Ф. Захарову).

**ЗАВДАННЯ 6.** Познайомтесь з найбільш розповсюдженими методами диференційного фарбування хромосом (G, Q, C) з аналізом відповідних мікрофотографій.

6.1. Q-фарбування. У 1969 році Касперсон запропонував фарбувати хромосоми акридином та деякими іншими похідними акридину. Найбільш стабільне фарбування дає акридин-іприт. Хромосоми виглядають як флуоресцюючі різного ступеню. Рисунок кожної гомологічної хромосоми суворо специфічний. Виділяють сегменти, які не світяться, сегменти з слабким, середнім та дуже інтенсивним світінням.

6.2. G-фарбування. Варіант фарбування хромосом за Гімза. Це найбільш розповсюджений метод диференційного фарбування у цитогенетиці. Існує багато модифікацій методу, які



багато модифікацій методу, які полягають у післяфіксаційних передобробках препаратів перед фарбуванням їх слабким розчином Гімза (2% на фосфотно-сольовому буфері за Сорренсоном з рН 6,8). Пропонувались передобробки: 1) у SSG (стандартний сольовий буфер: фізрозчин 0,85% NaCl); у розчині сольового буфера при 60°C; 3) інкубація ФСБ Сорренсона (рН 6,8) з додаванням трипсину та ін. Фарбування при G-методі виявляє зафарбовані сегменти не залежно від виду передобробки. Рисунок G-дисків повторює Q-дисків. Суттєва відмінність полягає у щільному фарбуванні також гетерохроматинових великих районів у хромосомі 1, 16 та більшості центромерних районів. G-фарбування

дозволяє краще виявляти диференційне фарбування, ніж Q-фарбування.

6.3. C-фарбування – фарбування центромерного гетерохроматину. Основна умова при C-фарбуванні полягає у порушенні структури більшості еута гетерохроматинових районів хромосом, при якому здатність до фарбування зберігають лише райони структурного гетерохроматину, що збагачені сателітною ДНК. Для отримання такого ефекту використовують 5-10-хвилинну інкубацію препаратів у лужному середовищі (NaOH, BaOH) з подальшою багатогодинною (18-24 години) інкубацією у 2 SSG при 65°C. Це фарбування виявляє гетерохроматин, найбільш стійкий до дії хімічних агентів. У всіх хромосомах ці райони розташовані біля центромери, а в Y хромосомі — й у дистальній половині довгого плеча. За розташуванням і за розмірами C-блоків індивідуальні хромосоми, за виключенням 1, 9, 16, як правило, різко не розрізняються. Тому C-фарбування при аналізі каріотипу застосовується з G-або Q-фарбуванням. Найбільш великі блоки C-хроматину зазвичай є в аутосомах 1, 9, 16, в області вторинних перетяжок. Найбільш малі C-блоки мають Y-хромосома та аутосома 2.

C-хроматин є демонстративним прикладом поліморфізму хромосом. Гомологи можуть значно різнитися між собою за величиною C-дисків, без

виражених фенотипічних проявів. При цьому розмір С-хроматину для кожного гомолога є спадковою величиною.

На мікрофотографіях знайти та схематично замалювати пари метафазних хромосом з різним типом диференційного фарбування.

**ЗАВДАННЯ 7.** Ag-фарбування (ядерцевий матеріал на мітотичних хромосомах людини).

У вторинних перетяжках коротких плечей акроцентричних хромосом людини тандемно розташовуються до 50 копій рибосомальних цистронів, що кодують 18S, 5,8S, 28S рРНК. Це ядерцеутворюючі райони (ЯУР), що функціонують у інтерфазі. У період вступу клітини до мітозу активність ЯУР припиняється, матеріал ядерця резорбується (переходить у цитоплазму), але не цілком. Частина ядерцевого матеріалу залишається пов'язаною з ЯУР. Залишковий матеріал складається з кислих білків, що включають регуляторні білки, РНК-полімерази. Ці білки вибірково фарбуються азотно-кислим сріблом у вигляді чорних гранул. Скупчення їх в області ЯУР називають Ag-дисками. Роздивіться мікрофотографію метафазної пластинки людини після фарбування азотно-кислим сріблом. За допомогою цієї фотографії можна простежити зв'язок будови хромосом з їх функцією. Зверніть увагу на те, що не всі 10 акроцентричних хромосом мають Ag-диски. Крім того, розмір наявних Ag-дисків не однаковий у різних хромосом. Доказано, що азотно-кислим сріблом фарбуються тільки ті ЯУР, рибосомальні гени яких були активними в попередній інтерфазі. Від ступеня активності рибосомальних генів залежить розмір Ag-дисків. Замалюйте на вибір одну акроцентричну хромосому з неактивним ЯУР і одну з активним ЯУР, що несе Ag-диски, зробивши відповідні позначення: активний або неактивний ЯУР, Ag-диски, акроцентрична хромосома, коротке плече, довге плече, вторинна перетяжка. Підкреслюючи значимість цієї роботи, зробіть висновок, що неоднакова активність генів характерна не тільки для генів рРНК, але і для унікальних генів, що кодують специфічні білки. З виборчою активністю унікальних генів пов'язана диференціровка соматичних клітин, що утворюють тканини та органи.

На мікрофотографіях знайти та схематично замалювати пари метафазних хромосом з різним розміром Ag-дисків.

**ЗАВДАННЯ 8.** Визначити хромосомну патологію в каріотипі людини і можливий механізм виникнення. Записати пояснення до номенклатури хромосомних анеуплоїдій:

- 45,X \_\_\_\_\_
- 47,XXY \_\_\_\_\_
- 45,XX,G- \_\_\_\_\_
- 48,XXY,G+ \_\_\_\_\_
- 47,XY,18+ \_\_\_\_\_
- 46,XY,18+,21- \_\_\_\_\_

47,XX,13+ \_\_\_\_\_  
46,XX \_\_\_\_\_  
47,XXX \_\_\_\_\_

ЗАВДАННЯ 9. Хромосомні мутації (аберації). Написати номенклатуру структурних змін хромосом:

p - \_\_\_\_\_  
q - \_\_\_\_\_  
p<sup>+</sup> або q<sup>+</sup> - \_\_\_\_\_  
p- або q- - \_\_\_\_\_  
s - \_\_\_\_\_  
h - \_\_\_\_\_  
i - \_\_\_\_\_  
r - \_\_\_\_\_  
t - \_\_\_\_\_  
13 inv - \_\_\_\_\_  
(p+q-) або (p-q+) - \_\_\_\_\_

ЗАВДАННЯ 10. Замалювати види хромосомних перебудов.

- а) Нестача:
  - делеція;
  - дефішенсі;
- б) інверсія:
  - парацентрична;
  - перичентрична;
- в) дуплікація;
- г) транслокація:
  - реципрокна;
  - нерципрокна.

ЗАВДАННЯ 11. Виявлення X-хроматину в букальному епітелії.

Стерильним ватним тампоном протріть слизову поверхню щоки для зняття клітин з пікнотичними ядрами. Стерильним шпателем сильним рухом зробіть зіскрібок зі слизової поверхні щоки. З отриманого матеріалу рухом в один бік зробіть мазок. Додайте до нього 2 краплі 1% ацетоорсеїну і накрийте покривним склом. Через 2 хвилини обережно зверху промокніть препарат з метою видалення з мазків фарби. Мікроскопуйте під імерсією. Аналізуйте клітини проміжного шару. Зверніть увагу на морфологію ядра, пристінне положення великих глибок хроматину. У частини клітин жіночої статі знайдіть пристінні глибок хроматину розміром 1-3 мкм (тільки Барра). Це X-хроматин. Замалюйте цю клітину. Зробіть висновок про природу X-хроматину і набору статевих хромосом у даного індивіду.

X-хроматин являє собою конденсовану X-хромосому. Інша X-хромосома в жіночому наборі і єдина X-хромосома в чоловічому наборі знаходяться як і всі інші хромосоми в деконденсованому, генетично активному стані. Інактивація однієї з X-хромосоми відбувається на ранніх етапах дроблення зиготи. Причому в одних бластомерах інактивується X-хромосома чоловічого походження, в інших - жіночого. Біологічне значення інактивації однієї з X-хромосом полягає в зрівнянні дози активних генів, розташованих в X-хромосомі у осіб чоловічої та жіночої статі. Додаткові X-хромосоми за рахунок мутацій також інактивуються і генетично активною залишається тільки одна X-хромосома. Статевий хроматин по типу X-хроматину характерний для всіх видів тварин з гетерогаметною статтю.

**ЗАВДАННЯ 12.** Виявлення Y-хроматину в клітинах букального епітелію флуоресцентним методом за допомогою акридинового оранжевого.

Отримання мазка аналогічне першому заняттю; фіксація та флуорохромування здійснюються так, як при люмінесцентному аналізі. Аналіз флуоресценції – знаходження глибки Y-хроматину у вигляді хромоцентру (0,5-1 мкм), що як правило розташовується ближче до периферії, але не прикріплюється до ядерної оболонки. При каріотипі ХУУ – спостерігається два хромоцентри.

**ЗАВДАННЯ 13.** Аномалії за статевими хромосомами.

Інтерфазний метод хромосомного аналізу використовується в експрес діагностиці чисельних аномалій по статевих хромосомах.

Для виявлення Y-хромосоми використовуються спеціальні флуоресцентні фарбники, що дають свічення при люмінесцентній мікроскопії (завдання 12).

Для виявлення X хромосом використовується метод визначення статевого хроматину в клітинах слизової щочки (завдання 11). Метод заснований на тому, що в інтерфазних ядрах соматичних клітин нормальної жінки одна з двох X хромосом неактивна (гетерохроматинізована) і при фарбуванні виявляється у вигляді компактної хроматинової глибки, названої статевим хроматином або тільцем Барра; у ядрах нормальних чоловічих клітин статевий хроматин відсутній.

Якщо в організмі декілька X хромосом, то активна - одна, а інші виявляються у вигляді додаткових тілець Барра. Тому за кількістю тілець Барра можна судити про кількість X хромосом: число X хромосом ( $N_x$ ) завжди на одиницю більше числа тілець статевого хроматину ( $N_B$ ).

$$N_x = N_B + 1$$

Перенесіть в альбом і заповніть наступну таблицю:

Генотип яйцеклітини за статевими хромосомами	Генотип сперматозоїда за статевими хромосомами	Генотип зиготи за статевими хромосомами	Назва синдрому	Число глибок статевого хроматину
XX	X			
0	X			
XX	Y			
0	Y			

**ЗАВДАННЯ 14.** Заповнити у вигляді таблиці (хромосомні хвороби (синдроми), каріотип, число тілець X-хроматина, фенотип), що відображає цитогенетичну і фенотипічну характеристику хромосомних хвороб людини:

- Шершевського-Тернера;
- Клайнфельтера;
- трисомії-X;
- Дауна;
- Патау;
- Едвардса;
- «котячого крику».

**ЗАВДАННЯ 15.** Аналіз частоти сестринських хромосомних обмінів.

Частота сестринських хромосомних обмінів указує на мутагенність середовища, що порушує нормальне протікання обмінних і репаруючих процесів. При збільшенні мутагенних факторів частота сестринських хромосомних обмінів збільшується.

Проаналізувати мікрофотографії з другим мітозом з фарбуванням хромосом БДУ, встановити число сестринських хроматидних обмінів і порівняти з їх нормальним вмістом (6-7 на метафазу).

## **ФІЛОГЕНЕЗ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ. ІМУНІТЕТ У БЕЗХРЕБЕТНИХ**

**МЕТА:** Ознайомитися з основними формами імунітету та рівнями імуноеволюції у безхребетних тварин.

### **ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ:**

1. Визначення поняття імунітет, його основні властивості, функції, феномени.
2. Класифікація форм імунітету і основних етапів імуноеволюції.
3. Характеристика фагоцитарного імунітету у безхребетних (низькоорганізованих).
4. Квазіімунне розпізнавання у безхребетних.
5. Прояв примітивного клітинного імунітету у безхребетних.



## НАВЧАЛЬНІ ЗАВДАННЯ

ЗАВДАННЯ 1. Целомоцити (гемоцити) дощового черв'яка (*Lumbricus terrestris*).

Перед виготовленням препаратів целомоцитів слід очистити кишківник черв'яка від землі. Для цього їх поміщають на пару днів у вологу фільтрувальну папір в чашку Петрі, яку слід тримати в темному місці. У підготовлених таким чином черв'яків розсікають лезом бритви шкірно-м'язовий мішок в передній і задній частинах тіла. Целомічну рідину, яка виділяється, (мутнувата, іноді молочно-біла) збирають мікропіпеткою і готують мазок на знежиреному склі. Після висихання мазка фіксують його в етанолі 5 хвилин і фарбують фарбником Романовського-Гімза 20-30 хвилин з наступним диференціюванням препаратів у підкисленій дистильованій воді. Препарати мікроскопують під імерсією (об. 90x; ок. 10x), вивчають морфологію целомоцитів. Целомоцити, які в ній наявні, представлені двома типами клітин: елеоцити (хлорогенні клітини) і лейкоцити. Елеоцити або хлорогенні клітини беруть початок від видозміненого високого ендотелію на поверхні кишки і багатьох судин. Клітини мають широку цитоплазму з чисельними екскреторними зеленуватими гранулами, але іноді цитоплазма позбавлена цих гранул та сильно вакуолізована. Елеоцити несуть видільну функцію та трофічну функцію, запасаючи поживні речовини (глікоген). Але в імунітеті не беруть участі. Більша частина целомоцитів представлена різноманітними по морфології і функції лейкоцитами. Типові з них – крупні амебоцити з різною кількістю псевдоподій. У одних з них псевдоподії тонкі і їх так багато, що клітина здається кошлатою. Нерідко ці елементи утворюють невеликі колонії. Зустрічаються також амебоїдні клітини з меншою кількістю прозорих листоподібних псевдоподій, а також круглі клітини з загостреними мілкими псевдоподіями. Перераховані клітини в цитоплазмі можуть вмщувати оксифільні або базифільні гранули різної величини. Зустрічаються також невеликі округлі клітини без псевдоподій, з вузьким ободком цитоплазми навкруги ядра.

Три перших морфологічних типа наводять різні функціональні стани одних і тих же амебоцитів, які є вихідною формою диференціювання макрофагів (і їх первинної форми - моноцитів) та макрофагів (гранулоцитів). Клітини з вузьким обідком цитоплазми без псевдоподій відносяться до лімфоїдного ряду – примітивні лімфоцити, з якими зв'язані АГ- специфічні імунні реакції з імунологічною пам'яттю.

Між вільними клітинами нерідко можна бачити велику кількість бактерій. Головна функція амебоцитів – фагоцитоз твердих частинок, мікроорганізмів та різноманітних чужорідних тіл. Переконалися в цьому можна, виконавши ін'єкцію в порожнину тіла черв'яка мілко розтертої туші за допомогою звичайного шприцу. Через кілька днів частинки опиняться зосередженими в амебоцитах.

**ЗАВДАННЯ 2.** Реакція целомоцитів дощового черв'яка на ауто- і ксенотрансплантати.

Розгляньте на кадограмі і таблиці схематичний малюнок реакції целомоцитів дощового черв'яка на ауто- та ксенотрансплантати, а також ознайомтесь с нижченаведеним поясненням до них.

Через добу до ауто- та ксенотрансплантату накопичуються целомоцити, з тією різницею, що місце ксенотрансплантата інфільтрується великою кількістю целомоцитів. Ця реакція є не специфічною реакцією целомоцитів на пошкодження і наступний морфогенез. Целомоцити, які мігрували в область контакту, здійснюють видалення за допомогою фагоцитозу та утворення “бурих тілець” клітин, які загинули та пошкодились у місці контакту. “Бурі тільця” являють собою інкапсульований целомоцитами клітинний дендрит (загіблі та пошкоджені клітини). Це фаза очищення пошкодження. Майже одночасно утворюється рубцева тканина, яка являє собою скупчення не диференційованих клітин, які утворюються з м'язової та сполучної тканин, які підлягають трансплантації. У той же час в рубцеву тканину і в трансплантат врастають судини і нервові закінчення. Таким чином, відбувається приживлення ауто- та ксенотрансплантатів. Але подальша доля цих трансплантатів різноманітна. Аутоотрансплантат – власна тканина. Тому цитотоксичні імунні реакції не розвиваються. Після видалення детриту рубцева тканина диференціюється, відновлюється контакт між аутоотрансплантатом та тканинами реципієнту, і трансплантат приживляється. Помірна інфільтрація целомоцитами аутоотрансплантата, який приживляється, залишається. В цьому випадку целомоцити вже виконують роль не цитотоксичну, а морфогенетичну – сприяють проліферації та диференціюванню. Зовсім інша гістологічна картина спостерігається при ксенотрансплантаті. Після приживлення, інфільтрація целомоцитами чужорідного трансплантата посилюється, внаслідок їх притягання до чужорідних клітин. В цьому випадку вони вже руйнують клітини ксенотрансплантата, формуються “бурі тільця”, але вже з дегенерованих клітин ксенотрансплантата. Далі притягуються нові целомоцити і утворюються нові “бурі тільця” до повного руйнування ксенотрансплантата.

Намалюйте схеми реакції целомоцитів на ауто- і ксенотрансплантати, зробіть відповідні підписи та висновки, в яких знайдіть загальні риси та відмінності в реакції целомоцитів.

## **ФІЛОГЕНЕЗ ГУМОРАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ У БЕЗХРЕБЕТНИХ І ХРЕБЕТНИХ ТВАРИН**

**МЕТА:** Вивчити зростання специфічності факторів гуморальної імунної відповіді у безхребетних і хребетних тварин.

### **ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ:**

1. Еволюція гуморального імунітету у безхребетних тварин (сипункуліди, кільчасті черви, молюски, членистоногі).

2. Значення гуморального імунітету у безхребетних і його послідовність з гуморальними факторами у хребетних тварин.
3. Еволюція гуморального імунітету у хребетних тварин: безщелепні, хрящові та кісткові риби, хвостаті й безхвості амфібії, рептилії, птахи, ссавці.
4. Походження і еволюція генів імуноглобулінів та їх продуктів.
5. Кодування синтезу імуноглобулінів і його порівняння з кодуванням антигенрозпізнаючими структурами Т-лімфоцитів.
6. Синтез імуноглобулінів у клітині, механізм переключення з одного класу на інший.
7. Динаміка утворення антитіл в організмі. Бустер-ефект.

## НАВЧАЛЬНІ ЗАВДАННЯ

**ЗАВДАННЯ 1.** Порівняльна структурно-функціональна характеристика гуморальних факторів безхребетних і хребетних тварин.

Розгляньте наведені в таблиці 1 ознаки та заповніть їх прояв у безхребетних і хребетних тварин.

Таблиця 1 - Порівняльна характеристика гуморальних факторів безхребетних тварин

Ознаки	Альтернативність проявлення	Безхребетні	Хребетні
1. Ті, які природно зустрічаються (передутворення)	Так, ні		
2. Індуцибельність	Так, ні, є виключення		
3. Бустер-ефект (імунологічна пам'ять)	Є, відсутній		
4. Рідини	Вказати тип рідини, де зустрічаються гуморальні фактори		
5. Тип будови	Імуноглобуліни, іншої природи		
6. Назва по ефекту (функція)	Аглютиніни, лізини і т.ін.		
7. Джерело утворення	Гемоцити, целомоцити, лейкоцити, лімфоцити, інші клітини і т.ін.		

**ЗАВДАННЯ 2.** Синтез лізинів в гемолімфі сипункулід після одноразової та повторних ін'єкцій війчастих паразитів.

Введення у порожнину тіла сипункуліди війчастих паразитів *Anophrys tagii* індукує синтез лізинів, специфічних по відношенню до групи видів

війчастих паразитів. Через 2-3 дні в плазмі починають накопичуватись лізини, досягаючи максимуму через 5-7 днів, після чого їх кількість поступово знижується. Кількість лізину оцінюють по ступеню лізису інтактних інфузорій впродовж 15 хв; виражену в балах: 0 – відсутність гемолізу; 1 – слабкий; 2 – середній; 3 – сильний; 4 – дуже сильний ступень. Користуючись кадограмами, занести до лабораторного зошита графіки накопичення лізинів у сипункулід при первинних та вторинних ін'єкціях паразитів. Зробити висновки: 1) індивідуальні особливості накопичення лізинів у черв'яків; 2) наявність імунологічної пам'яті при гуморальному імунитеті.

### ЗАВДАННЯ 3. Походження та еволюція генів імуноглобулінів.

На основі малюнків на кадограмах і опису гіпотези в методичних рекомендаціях, складіть гіпотетичну схему походження і еволюції генів імуноглобулінів у хребетних. Початок еволюції генів імуноглобулінів детерміновано предковим геном, який кодував поліпептид в 110 амінокислот (рівний домену сучасних імуноглобулінів). Пізніше він пройшов незалежну дуплікацію з утворенням V і C гена. Ці два гени потім сформували окремі генетичні кластери. Генетичний механізм їх еволюції міститься у крапкових мутаціях та дуплікаціях. Відбір закріплював адаптивні комбінації, які кодують ними поліпептиди – імуноглобулінів. Гени V області диференціювались у три групи варіабельних генів V, D, J, що кодують 3 гіперваріабельні сублокуси V – області поліпептидного ланцюга. Механізм підвищення різноманіття V – області складався з рекомбінації невеликої кількості висхідних V, D, J генів. Паралельно йшла еволюція генів C-області, яка злилася з генами V-області, утворюючи та формуючи локус для L-ланцюгів. Подальша дуплікація і мутація C-генів призвела до появи важких ланцюгів спочатку типу M. Поєднання легких і важких ланцюгів підвищило специфічність антигенрозпізнаючої V-області імуноглобуліну. Перераховані еволюційні події мали місце рано, ще у предків круглоротих. Наступні еволюційні події призвели до появи окрім  $\gamma$ -ланцюгів у риб,  $\alpha$ -ланцюгів у птахів, H - важких ланцюгів у ссавців. Еволюція легких ланцюгів йшла самостійно від важких ланцюгів. На рівні амфібій сталася дивергенція легких ланцюгів типу  $\chi$ -(каппа) та  $\lambda$  (лямбда), від генів, які формують легкий ланцюг типу  $\chi$  дивергували гени  $\lambda$ -ланцюга.

### ЗАВДАННЯ 4. Суперродина антигенрозпізнаючих імуноглобуліноподібних молекул.

Ознайомтесь з суперродиною імуноглобуліноподібних молекул, які приймають участь в імунологічному розпізнаванні. Вони відносяться до мембранних рецепторних поверхневих молекул, які складаються з 3-х частин: над мембранної, яка виконує роль рецептора або ліганду, гідрофобної внутрішньої мембранної “заякорюючої” молекули, і цитоплазматичний хвіст, через який передається сигнал в цитоплазму про рецептор-лігандні взаємодії. Суперродина ділиться на дві групи молекул. В першу групу відносяться мультигенні молекули (мультигенна родина), які кодуються великою кількістю генів. До неї входять імуноглобуліни, рецептори Т-клітин, антигени МНС I-го

та II-го класів. Виняток складає моногенний  $V_2$ -мікроглобулін, так як він входить до складу антигенів першого класу,  $\alpha$ -ланцюг якого кодується полігенно. До другої групи відносяться мембранні молекули, які кодуються однокопійними генами. Із вивчених нами сюди входять диференціальні антигени CD4, CD8, CD3.

Всі гени суперродини мають загального попередника, так як мають подібні нуклеотидні послідовності. Продукти цих генів мають доменний тип будови молекул, який має в складі приблизно 110 амінокислотних залишків. Домени мають гомологічні риси. 1) Містять консервативну подібну послідовність поблизу двох залишків цистеїну; 2) В домені чергуються гідрофобні та гідрофільні амінокислотні залишки, які сприяють антипаралельній  $\beta$ -складчастій структурі різної довжини, утворюють петлі. Даний тип укладки називають "імуноглобуліноподібною". 3) Особливістю доменів третинної структури є їх компліментарність – взаємна просторова відповідність, завдяки чому домени сусідніх поліпептидних ланцюгів легко вступають в не ковалентні зв'язки, утворюючи єдину четвертинну структуру складного поліпептиду. Наприклад,  $V_c$  і  $V_n$  молекули імуноглобуліну та  $V_\alpha$ ,  $V_\beta$  рецептору Т-клітин утворюють антигенрозпізнаючий активний центр. Асоціюють також константні домени ланцюгів, які знаходяться поряд.

#### ЗАВДАННЯ 5. Кодування та синтез імуноглобулінів.

Схематично зобразити послідовність генів у кластерах стовбурових (ембріональних) лімфоїдних клітинах.

Складіть одну з комбінацій варіабельних та константних генів для  $V_k$  та  $N_\lambda$ -ланцюгів з послідовністю процесів: ембріональна ДНК, ДНК-транскриптон, і-РНК, білок - імуноглобулін.

Складіть схему переключення синтезу антитіл ідентичної специфічності з Ig M класу на Ig E клас. У переключенні синтезу приймають участь sw-гени (switch), позначені на першій схемі H-ланцюга крапками. При переключенні синтезу класів антитіл у місцях sw-генів утворюється петля, яка в подальшому вирізається ендонуклеазами. В схему переключення включіть етапи: формування транскриптона з вже утвореною комбінацією VDJ-генів при синтезі Ig M класу та Ig G с-генами; і-РНК; білок - імуноглобулін E-класу.

#### ЗАВДАННЯ 6. Динаміка синтезу антитіл в клітині.

Розгляньте схему синтезу поліпептидних L- і H-ланцюгів імуноглобулінів; та само зборку в мономери імуноглобулінових молекул та наступну секрецію за межі клітини.

Синтез L- та H-ланцюгів іде на різних ділянках гранулярно-ендоплазматичної сітки. Причому синтез L-ланцюгів передуює синтезу H-ланцюгів та їх синтез надмірний по відношенню до кількості H-ланцюгів. При синтезі L-ланцюгів спочатку відбувається перекомбінація V-генів у к-типі ланцюгів та у випадку спонтанної комбінації, комбінується V-район  $V_\lambda$ -типу. По мірі синтезу на полірибосомі H-ланцюга між гомологічними ділянками з доменами сусідніх ланцюгів утворюється дисульфідний зв'язок. Сигналом

відділення від великої субодиниці рибосоми комплексу двох Н-ланцюгів, поєднаних дисульфідним зв'язком, є приєднання до нього також дисульфідного зв'язку одного L-ланцюга через константний комплементарний домен, після чого трипептид Н-Н-L виходить з полірибосомного конвеєра у цистернальний простір ендоплазматичної сітки. Другий L-ланцюг приєднується вже до вільного трипептиду з утворенням готового імуноглобулінового мономера L-Н-Н-L. У порожнині ГрЕС мономері підлягають додатковому процесінгу, який складається з приєднання до нього вуглеводних ланцюгів (глікозилювання). Далі частково глікозилювані мономері Ig дифундують у вакуолях із ГрЕС у апарат Гольджі. Там також приєднуються вуглеводні залишки, чим остаточно завершується процес дозрівання ІГ. Вони в вакуолях, відбруньковані від АГ, екзоцитуються (секретуються) за межі клітини або вбудовуються у мембрану клітини, виконуючи роль рецептора. В цьому випадку вони повинні вміщувати додаткові гідрофобні трансмембранні та цитоплазматичні домени, які кодуються відповідними генами (екзонами), що знаходяться у кластері Н-генів за С-генами. Переключення на синтез мембранних або секреторних імуноглобулінів однакового класу та АГ- специфічності – процес незалежний від переключення на синтез з одного на інший клас імуноглобулінів.

**ЗАВДАННЯ 7.** Динаміка синтезу антитіл при первинній та вторинній імунній відповіді.

У хребетних тварин первинна та вторинна гуморальна відповідь різко відрізняється у порівнянні з гуморальною імунною відповіддю у безхребетних тварин (див. завд. 2). У експерименті здебільшого використовують у якості стандартного антигену еритроцити барана (ЕБ). Розгляньте приведену у метод. рекомендаціях схему динаміки утворення антитіл у мишей на введення оптимальної дози еритроцитів барану. При первинній відповіді на внутрішньочеревне введення ЕБ, антитіла у сироватці з'являються на 4-5 день та збільшуються протягом 8-12 днів, стабілізуються, а потім кількість їх знижується. На початку індукується синтез антитіл переважно Ig M класу. Антитіла Ig G-класу з'являються набагато пізніше та досягають високих титрів. При повторному введенні антигену через деякий час початок синтезу антитіл прискорюється. Але динаміка утворення Ig M – класу згідно швидкості синтезу та висоті титрів залишається приблизно такою, як при первинній відповіді. В той час коли синтез антитіл Ig G – класу швидко збільшується до значно великих титрів, ніж при першому введенні антигену. Також підвищується їх афінитет до антигенних детермінант. Різниця вторинного гуморального імунітету є в накопиченні клітин пам'яті. Клони диференціюючих В-лімфоцитів, які синтезують Ig M, погано генерують клітини пам'яті, В-клітини, в яких синтез антитіл переключився на Ig G – класу, утворюють крім ефекторних клітин (плазмоцитів) велику кількість клітин пам'яті. Крім того, протягом активації цих В-клітин відбувається позитивна селекція клонів з великим афінитетом до антигену.

Зверніть увагу, що з нарощуванням специфічних антитіл при первинній, а ще більше при вторинній імунній відповіді, збільшується і загальна кількість

імуноглобулінів (ІГ), яка перевищує утворення специфічних антитіл. Це так звані не специфічні імуноглобуліни (НІГ). Вони завжди є в будь-якій гуморальній відповіді. Вважають, що такі ІГ - з дефективним активним центром, які утворюються внаслідок помилок рекомбінації генів, процесингу про-і-РНК та інших помилок у синтезі білка.

Після того, як замалювали схему в лабораторний зошит, зробіть висновок, в якому вкажіть причини за якими відрізняється первинна та вторинна відповідь у часі, у висоті титрів антитіл, у спектрі синтезу класів імуноглобулінів та їх афінитету. Визначте можливі причини феномену утворення НІГ.

## РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

### Основна:

1. Медична генетика: Підруч. для мед. ВНЗ III-IV рів. акред. / За ред.. О. Я Гречаніної. – К.: Медицина, 2007. – 536 с.
2. Основы медицинской и клинической генетики: учебное пособие / [Савченко А. Ю., Рождественский А. С., Литвинович Е. Ф., Захарова Н. С., Шестерикова А. А.]. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2008. – 416 с.
3. Бочков Н. П. Клиническая генетика: Ученик / Бочков Н. П. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 448 с.
4. Притчард Д.Дж. Наглядная медицинская генетика: учебное пособие / Д. Дж. Притчард, Б. Р. Корф. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 200 с.
5. Курчанов Н. А. Генетика человека с основами общей генетики / Курчанов Н. А. – СПб: СпецЛит, 2006. – 175 с.
6. Мутовин Г. Р. Клиническая генетика. Геномика и протеомика наследственной патологии: учебное пособие / Мутовин Г. Р. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 832 с.
7. Селиванова Е. А. Наследственные болезни: справочник практического врача / Селиванова Е. А. – М.: РИПОЛклассик, 2007. – 544 с.
8. Галактионов В. Г. Иммунология: Учебник / Галактионов В. Г. – М.: Изд-во МГУ, 1998. – 480 с.

### Додаткова:

1. Гинтер Е. К. Медицинская генетика: Учебник / Гинтер Е. К. – М.: Медицина, 2003. – 448 с.
2. Тоцький В. М. Генетика: Підручник / Тоцький В. М. – 3-тє вид., випр. та доп. – Одеса: Астропринт, 2008. – 712 с.
3. Імунологія: Підручник / [Вершигора А. Ю., Пастер Є. У., Колибо Д. В та ін.]. – Київ: Вища школа, 2005. – 599 с.
4. Ройт А. Иммунология: Пер. с англ. / Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. - М.: Мир, 2000.-592 с.
5. Хаитов Р. М. Иммунология: учебник / Хаитов Р. М. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 528 с.

6. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология: Пособие для студентов, врачей-интернов, иммунологов, аллергологов, врачей лечебного профиля всех специальностей / Дранник Г. Н. – 4-е изд., доп – К.: ООО «Полиграф плюс», 2010. – 552 с.
7. Фролов А. К. Иммуноцитогенетика / Фролов А. К., Арцимович Н. Г., Сохин А. А. - М. Медицина, 1993. - 240 с.
8. Хромосомы человека: Атлас / [Захаров А. Ф., Бенюш В. А., Кулешов Н. П., Барановская Л. И.]. - М.: Медицина, 1982. - 263 с.
9. Основы генетики человека: Методическое пособие для студентов 1 курса / Составитель: Н. Е. Родина; А. А. Косых. - Киров: Кировская государственная медицинская академия, 2002. - 31 с.
10. Минева Н. В. Группы крови человека. Основы иммуногематологии / Минева Н. В. – СПб: ООО «А-принт», 2004. – 188 с.
11. Купер Э. Сравнительная иммунология: Пер. с англ. / Купер Э. - М.: Мир, 1980. – 422 с.



## ЗМІСТ

ВСТУП .....	3
ГЕНЕТИКА ЛЮДИНИ. ГЕНЕАЛОГІЧНИЙ МЕТОД .....	4
БІОХІМІЧНІ МЕТОДИ .....	10
БЛИЗНЮКОВИЙ МЕТОД .....	11
ПОПУЛЯЦІЙНО-СТАТИСТИЧНИЙ МЕТОД .....	14
ІЗОАНТИГЕННИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ЗА ЕРИТРОЦИТАРНИМИ ТА ЛЕЙКОЦИТАРНИМИ АНТИГЕНАМИ .....	18
ЗАДАЧІ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧНОГО КОНСУЛЬТУВАННЯ НА СУЧАСНОМУ ЕТАПІ .....	21
ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ МЕТОД .....	23
ФІЛОГЕНЕЗ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ. ІМУНІТЕТ У БЕЗХРЕБЕТНИХ ...	32
ФІЛОГЕНЕЗ ГУМОРАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ У БЕЗХРЕБЕТНИХ І ХРЕБЕТНИХ ТВАРИН .....	34
РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА .....	39

Навчально-методичне видання  
(українською мовою)

Фролов Олександр Кирилович  
Копійка Віра Вікторівна  
Федотов Євген Рудольфович  
Сіліна Тетяна Миколаївна

ГЕНЕТИКА ЛЮДИНИ, ІМУНОГЕНЕТИКА  
ТА ЕВОЛЮЦІЙНА ІМУНОЛОГІЯ

Методичні вказівки до великого практикуму  
для студентів біологічного факультету  
освітньо-кваліфікаційного рівня «спеціаліст», «магістр»

Рецензент                      В. Д. Бовт  
Коректор                        В. В. Копійка  
Відповідальний за випуск    О. К. Фролов

Адреса редакційної колегії:  
Запорізький національний університет  
69600, м. Запоріжжя, вул. Гоголя, 63, каб. 102а  
тел. (061) 289-12-12

Підписано до друку 05.10.2011 р. Формат А5  
Папір офсетний 80 гр/м2. Гарнітура «Times New Roman»  
Друк – лазерний. Наклад 30 прим. 42 с.

Віддруковано у цифровій друкарні «Сору Art»  
м. Запоріжжя, вул. Жуковського 57.  
тел. (061) 289-22-00  
тел. (061) 178-69-27  
[http: // copyart.uaprom.net/](http://copyart.uaprom.net/)  
e-mail: [copyshopzp08@rambler.ru](mailto:copyshopzp08@rambler.ru)

ДЛЯ ПОДАТОК

ДЛЯ ПОДАТОК