

Лекція 7

Зчеплення генів

Зчеплення генів - це спільне успадкування різних генів, локалізованих в одній і тій же хромосомі. Повністю незалежно, як це було в більшості дослідів Менделя, неалельні гени поведуться тільки в тому випадку, якщо вони знаходяться в різних хромосомах. Тоді їх поведінка пояснюється незалежним розходженням, вільної комбінацією хромосом в мейозі.

Однак навіть аргументи очевидні, що число генів у будь-якого еукаріотичного організму повинна перевищувати число хромосом. Передбачається, що у людини не менше 50 тис. генів, тоді як число хромосом 46.

У 1906 р У.Бетсон і Р.Пеннет, вивчаючи успадкування забарвлення квітки (пурпурна *P* або червона *p*) і форми пилкових зерен (подовжена *L* або кругла *l*) у запашного горошку виявили, що при схрещуванні рослин з пурпуровими квітками і подовженою пилком *PPLL* і рослин з червоними квітками і круглим пилком *ppll* в F_1 були отримані рослини з пурпуровими квітками і подовженою пилком *PpLl*. Ці гібриди в результаті самозапилення дали наступне розщеплення в F_2 :

пурпурні квітки та подовжений пиллок
(*P_L_*)- 4831 (69,5%)
пурпурні квітки та округлий пиллок
(*P_ll*) – 390 (5,6%)
червоні квітки та подовжений пиллок
(*ppL_*)- 393 (5,6%)
червоні квітки та округлий пиллок
(*ppll*)-1338 (19,3%)

Тобто, в потомстві отримано всі чотири очікувані класи, але співвідношення було не 9: 3: 3: 1. В цьому випадку батьківські поєднання алелів досліджених генів *PL* і *pl* переважно потрапляють в вихідні гамети, в той час як їх нові поєднання *Pl* і *pL* зустрічаються набагато рідше. Це явище в подальшому назвали *зчепленням генів*.

Зчеплене успадкування детально вивчали Морган, Стертевант, Меллер і Бріджес.

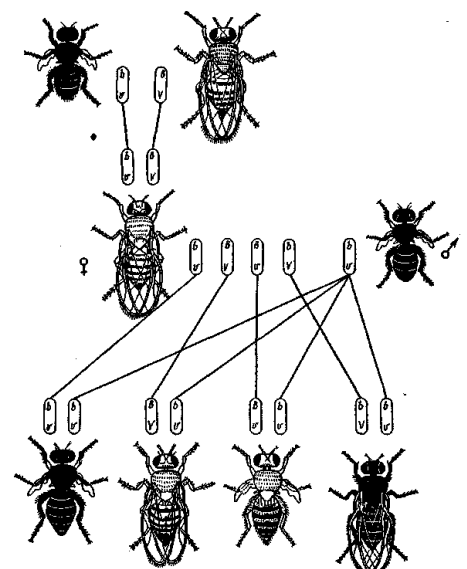
Розглянемо випадок, при якому два гени, локалізовані в різних хромосомах, представлені алелями, одна з яких повністю домінує над іншою, при чому ці гени не роблять істотного впливу на прояв один одного. Постає питання, скільки типів гамет будуть утворювати гібриди F_1 від схрещування батьківських форм, гомозиготних по домінантним алелям обох генів і гомозиготних по рецесивним алелям:

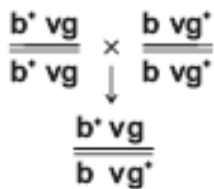
P *AABB X aabb*
G *AB ab*
F₁ *AaBb*

Як видно з наведеної схеми, в F_1 обидві ознаки гібридного організму будуть домінантними. Структура гамет і, отже, зчеплення або відсутність такого можуть бути перевірені за допомогою аналізуючого схрещування: *AaBb x aabb*. Якщо випробовувані гени знаходяться в різних хромосомах, то утворюються чотири типи гамет: *AB*; *Ab*; *aB* і *ab*, і, отже чотири фенотипових класи нащадків *AB*; *Ab*; *aB* і *ab*:

ab ab ab ab в співвідношенні 1: 1: 1: 1: 1. Однак, якщо гени *A* і *B* локалізуються в одній і тій же хромосомі, то в результаті аналізуючого схрещування можуть з'явитися тільки дві фенотипові форми, що повторюють ознаки батьків в рівному співвідношенні: *AB* і *ab*.

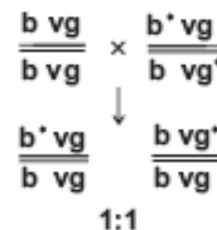
Це означає, що гени *A* і *B* успадковуються спільно, тобто, що вони зчеплені.





Чіткий приклад зчеплення був описаний Морганом і його учнями, що досліджували гени *black* (чорне тіло) і *vestigial* (зародкові крила). Нормальні алелі цих генів визначають сіре забарвлення тіла мухи і нормальні крила:

Нормальні алелі b^+ і vg^+ повністю домінують над мутантними алелями, тому мухи F_1 за фенотипом будуть нормальними. Якщо для аналізуючого схрещування взяти самця F_1 і самку, гомозиготну за рецесивним алелям, то вийде тільки два класи нащадків: 50% мух з нормальними крилами і 50% чорних з зародковими крилами. Таким чином, в даному експерименті виявляється, що гени b і vg локалізовані в одній хромосомі і при певних умовах успадковуються зчеплено.



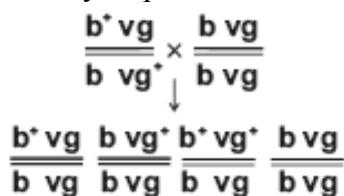
Описаний експеримент Моргана і його співробітників заклав основи хромосомної теорії спадковості. Ця теорія істотно відрізнялася від гіпотези Вейсмана щодо ролі ядерних структур в спадковості. Теорія Моргана вперше дала реальні докази **локалізації генів в цілком певних структурах клітинного ядра - хромосомах**.

Подальші експерименти в лабораторії Моргана дозволили розкрити інші особливості поведінки генів у хромосомах, зокрема, вони принесли генетичні докази кросинговеру.

Кросинговер

Кросинговер, або перехрест хромосом, супроводжується порушенням груп зчеплення. Повне зчеплення у дрозофіли спостерігається тільки тоді, коли досліджуються гібридні самці. Якщо ж аналізуюче схрещування проводиться з гібридними самками, то зчеплення ніколи не буває повним. У абсолютної більшості інших видів кросинговер в принципі протікає однаково як у самок, так і у самців.

При аналізуючому схрещуванні дигібридної самки з гомозиготним по обом алелям самцем утворюються чотири фенотипових класи в наступному співвідношенні: 1) чорні з зародковими крилами - 41,5%; 2) сірі з нормальними крилами - 41,5%; 3) сірі з зародковими крилами - 8,5%; 4) чорні з нормальними крилами - 8,5%.



Привертає увагу той факт, що число особин, які повторюють батьківські фенотипи, значно більше числа тих особин, у яких поєднуються ознаки домінантного і рецесивного батьків.

Спираючись на спостереження Ф. Янсенса (1909), що виявив в мейозі хіази, Морган постулював, що особини 3) і 4) з'явилися в результаті перехрещення гомологічних хромосом і обміну в точці між генами b і vg . Сам процес перехрещення був названий **кросинговером**, а особини, що поєднують в результаті перехрещення ознаки обох батьків, - кросоверними; ті ж комахи, які мали хромосоми, що не зазнали перехрещення, - некросоверними. Отже, в цьому другому досліді, оскільки число кросоверних мух було майже в п'ять разів менше, ніж некросоверних, також отримано доказ зчеплення генів, але в той же час показано, що зчеплення регулярно порушується кросинговером, при якому виникають нові поєднання генів в хромосомі, нові групи зчеплення.

Вивчене Морганом зчеплене успадкування ознак отримало назву **закону зчеплення Моргана**. Оскільки рекомбінація здійснюється між генами, а сам ген кросинговером не поділяється, його стали вважати *одиницею кросинговеру*.

Незабаром після основних робіт Моргана і його співробітників була доведена універсальність кросинговеру. Він був відкритий на кукурудзі, на мишах і т. д.

Частота кросинговеру, що виражається відношенням числа кросоверних особин до загальної кількості особин, характеризує відстань між генами. У гомологічних хромосомах алельні гени займають ідентичне положення. Між батьківськими хромосомами відбувається взаємний реципрокний обмін, тому кросоверні класи повинні враховуватися разом як результат однієї події. Отже, в зазначеному прикладі на дрозофілі, де кожен з двох кросоверних класів представлений 8,5% особин, частота кросинговеру між генами b і vg становитиме 17%. Для позначення відстані замість відсотка перехрещення використовують загальноприйняту одиницю,

названу сантиморганіда - centiMorgan або cM.

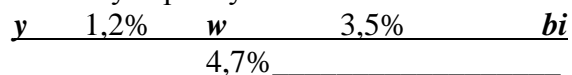
Відсоток кросинговеру, що відображає ступінь зчеплення двох генів за умов однакової постановки дослідів, завжди буде постійним. Однак для різних пар генів величина зчеплення різна. Так, у тій же дрозофілі відсоток кросинговеру між локалізованими в X-хромосомі генами *W* і *U* становить всього лише 1,5. З іншого боку, ген *y* у багато разів слабкіше зчеплений з геном *rudimentary* (рудиментарні крила), що знаходиться в тій же хромосомі. Відсоток кросинговеру в цьому випадку дорівнює 43. Чим далі розташовані один від одного гени, тим частіше буде відбуватися кросинговер між ними. Однак значення частоти кросинговеру, що виявляється в



досвіді, не може бути більше 50%, тому що ця частота становить ймовірність нормальної, тобто без кросинговеру, розбіжності хромосом. (Це означає, що дані гени знаходяться в різних хромосомах).

На основі цих даних Морган висунув гіпотезу про лінійне розташування генів в хромосомах. Ця гіпотеза може бути доведена наступним відомим досвідом Моргана, поставленим на дрозофілі. Було визначено відстань і взаємне розташування трьох генів, локалізованих в X-хромосомі: *y*, *w* і *bi* (від англ. Bifid - копитні крила). Відсоток кросинговеру між генами *y* і *bi* склав 4,7; між *y* і *w* - 1,2 і між генами *w* і *bi* - 3,5. Таким чином, взаємне розташування цих трьох генів можна

змалювати таку картину:



Генетичне картування

Генетичне картування - це визначення положення будь-якого гена по відношенню до двох (як мінімум) інших генів. Сталість відсотка кросинговеру між певними генами дозволяє локалізувати їх. Одиницею відстані між генами служить 1% кросинговера.

На першому етапі картування необхідно визначити приналежність гена до групи зчеплення. Чим більше генів відомо у даного виду, тим точніше результати картування. Гени, що знаходяться в одній хромосомі і успадковуються зчеплено, складають групу зчеплення. Кількість груп зчеплення відповідає гаплоїдному набору хромосом. У дрозофілі 4 групи зчеплення, у кукурудзи - 10, у гороху - 7, у миші - 20, у людини - 23 групи зчеплення.

Принцип визначення приналежності гена до тієї чи іншої групи зчеплення зводиться до встановлення характеру успадкування цього гена по відношенню до інших генів, що знаходяться в уже відомій групі зчеплення.

Як правило, число генів у групах зчеплення залежить від лінійних розмірів відповідних хромосом. Так, у плодової мушки є одна (IV) точкова (при аналізі в світловому мікроскопі) хромосома. Відповідно число генів у ній у багато разів менше, ніж в інших, що значно перевершують її по довжині. Слід також зазначити, що в гетерохроматизованих районах хромосом генів немає або майже немає, тому протяжні області конститутивного гетерохроматину можуть дещо змінити пропорційність числа генів і довжини хромосоми.

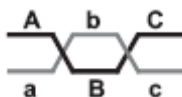
Однак генетичними методами неможливо визначити, яка конкретна пара гомологічних хромосом каріотипу аналогічна відповідній групі зчеплення. Для цього потрібні додаткові цитогенетичні дослідження.

Після визначення групи зчеплення, до якої належить ген, переходять до наступного етапу аналізу і встановлюють місце гена в групі зчеплення. Локалізація гена здійснюється шляхом обліку результатів кросинговеру.

Для знаходження локусу гена в хромосомі необхідно проводити схрещування таким чином, щоб локус гена що визначається при кросинговері був третьою точкою. Це має місце при розгляді

подвійного кросинговеру. Маркування трьох локусів в хромосомі необхідне для визначення порядку розташування генів і відстані між ними.

Морган припустив, що кросинговер між двома генами може відбуватися не тільки в одній,



але і в двох, і навіть більшій кількості точок.

Розглянемо це явище на прикладі кукурудзи. Якщо схрестити дві форми кукурудзи, що відрізняються трьома парами зчеплених генів: у однієї форми проростки жовті (v) і блискучі (gl), листя «надрізані» (sl), а в іншій проростки зелені (v^+) і матові (gl^+), листя нормальні (sl^+), то гібрид має генотип $v^+gl^+sl^+$

$v\ gl\ sl$, проростки у нього зелені і матові, листя нормальні. При аналізуючому схрещуванні цього гібрида з рецесивною вихідною формою в F_2 виходять рослини восьми фенотипових класів відповідно до числа типів гамет, утворених тригетерозиготою.

Розщеплення в потомстві тригетерозиготи кукурудзи зі зчепленими генами при аналізуючому схрещуванні

Гамети гібридів	Генотипи рослини F_2	№ пар класів	Число рослин	% рослин
Некросоверні $v^+gl^+sl^+$ $v\ gl\ sl$	$v^+gl^+sl^+$ $v\ gl\ sl$ $v\ gl\ sl$ $v\ gl\ sl$	1-я всього	235 270 505	69,6
Від одинарного кросинговера в першій ділянці $v^+ gl\ sl$ $v gl^+ sl^+$	$v^+ gl\ sl$ $v gl\ sl$ $v gl^+ sl^+$ $v gl\ sl$	2-я всього	62 60 122	16,8
Від одинарного кросинговера в другій ділянці $v^+ gl^+ sl$ $v\ gl sl^+$ 	$v^+ gl^+ sl$ $v\ gl sl$ $v\ gl sl^+$ $v\ gl sl$	3-я всього	40 48 88	12,1
Від подвійного кросинговера в першій та другій ділянках $v^+ gl sl^+$ $v gl^+ sl$ 	$v^+ gl sl^+$ $v gl sl$ $v gl^+ sl$ $v gl sl$	4-я всього	7 4 11	1,5
Всього			726	100

Примітка. Вертикальні лінії, що розділяють знаки хромосом вказують на місця перехрестів

З 726 рослин переважна більшість, тобто 505, або 69,6%, мають батьківські поєднання ознак (1-я пара класів). Друга і четверта пари класів утворилися за рахунок кросинговеру між генами V і gl і складають в сумі $16,8 + 1,5 = 18,3\%$. Третя і четверта пари класів (рис.)-результат перехрещення між генами gl і sl ($12,1 + 1,5 = 13,6\%$).

Так як частота кросинговеру є функція відстані між генами, відстань між генами V і sl має дорівнювати сумі відстаней між генами $V-gl$ та $gl-sl$, тобто $18,3 + 13,6 = 31,9\%$. Однак частота одинарного кросинговеру між генами $V-sl$ становить лише $16,8 + 12,1 = 28,9\%$ (2-3-я пари класів), тобто менше очікуваного на $31,9 - 28,9 = 3,0\%$.

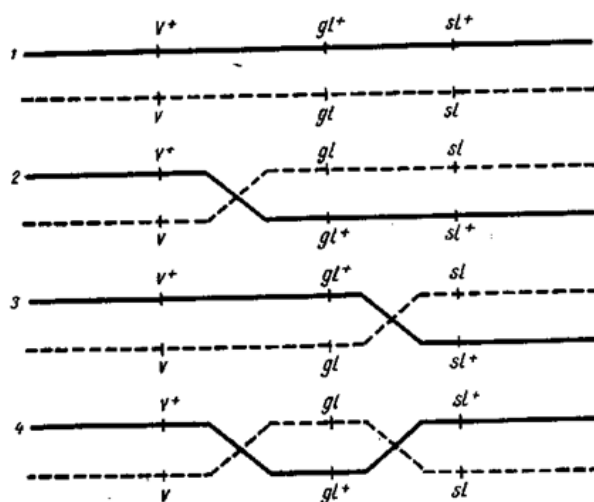


Рис. Рекомбінація зчеплених генів у кукурудзи:
 1- некросоверні хромосоми; 2- кросингвер між генами v і gl ;
 3- кросингвер між генами gl - sl ; 4- подвійний кросингвер між
 генами v - gl і gl - sl .

Розбіжність в підрахунках пояснюється тим, що між далеко віддаленими генами може відбуватися подвійний перехрест, який ускладнює оцінку істинної відстані між генами.

Подвійний кросингвер не можна врахувати, якщо хромосома між генами V і sl не маркована третім геном gl . В тому разі, коли стався подвійний обмін гени V і sl залишаться на своїх місцях і обмін між ними не буде виявлений. При цьому чим далі стоять один від одного в хромосомі ці гени, тим більша ймовірність подвійних перехрестів між ними. Відсоток рекомбінації між двома генами тим точніше відображає відстань між ними, чим вона менше, так як в разі малої відстані зменшується можливість подвійних обмінів. Тому кросингвер між генами V і sl (28,9%) без врахування подвійних кросингверів виявляється менше, ніж сума одиниць кросингверу між генами V і gl і між gl і sl (31,9%).

Для обліку подвійного кросингверу необхідно мати додатковий маркер, що знаходиться між двома досліджуваними генами. У розглянутому прикладі таким маркером є ген gl . Визначення відстані від V до sl здійснюють наступним чином: до суми відсотків одинарних кросоверних класів (28,9%) додають подвоєний відсоток подвійних кросингверів ($1,5 \times 2 = 3,0\%$). Подвоєння відсотка подвійних кросингверів необхідно в зв'язку з тим, що кожен подвійний кросингвер виникає завдяки двом незалежним одинарним розривам у двох точках. Таким чином, справжня відстань між дуже віддаленими генами V і sl становить $28,9 + 3,0 = 31,9\%$, що дорівнює сумі, отриманої від складання відсотків перехрещення в двох ділянках: між генами V - gl і gl - sl .

Звісно, ймовірність подвійного перехрещення завжди менше ймовірності одинарного. В принципі вона буде дорівнювати добутку ймовірності двох одиничних актів рекомбінації. Наприклад, якщо одиночний перехрест буде відбуватися з частотою 0,2, то подвійний - з частотою $0,2 \times 0,2 = 0,04$.

Інтерференція. Встановлено, що кросингвер, що стався в одному місці хромосоми, пригнічує кросингвер в навколишніх районах. Це явище носить назву інтерференції. При подвійному перехресті інтерференція проявляється особливо сильно в разі малих відстаней між генами. Розриви хромосом виявляються залежними один від одного. Ступінь цієї залежності визначається відстанню між розривами, що відбуваються: *в міру віддалення від місця розриву можливість іншого розриву збільшується*.

Величина інтерференції може бути виміряна. Знаючи місце і послідовність розташування генів в хромосомі, можна розрахувати теоретично очікувану частоту подвійних перехрестів.

Пояснимо це на розглянутому раніше прикладі з кукурудзою.

На підставі вимірювання частоти перехрещення було встановлено, що в $v^+ gl^+ sl^+$
 $v gl sl$,

гени v і gl розділяються відстанню 18,3%, а gl і sl -13,6%. Якщо розриви на ділянках $v - gl$ і $gl - sl$ відбуваються як незалежні один від одного події, то ймовірність подвійного кросинговеру між генами v і sl повинна дорівнювати добутку відсотків кросинговеру на ділянках $v - gl$ і $gl - sl$, тобто:

$$18,3 / 100 \times 13,6 / 100 = 2,5\%$$

Але в досліді отримано всього 1,5% рослин, що виникли внаслідок подвійного кросинговеру, тобто нижче очікуваного, що і пояснюється наявністю інтерференції. Величину інтерференції вимірюють відношенням спостережуваного числа подвійних перехрестів до теоретично очікуваного. Це відношення називають коефіцієнтом коінциденції (збігу) і виражають в частках одиниці або у відсотках. У наведеному прикладі вона дорівнює 1,5: 2,5, тобто 0,6 або 60%.

На невеликій відстані, де має місце вплив одного розриву на інший, коінциденція буде менше 1. Але вплив інтерференції поширюється лише на певну відстань, а потім зникає. В останньому випадку коінциденція дорівнює 1, або 100%. Коінциденція в різних хромосомах і в різних ділянках однієї і тієї ж хромосоми різна.

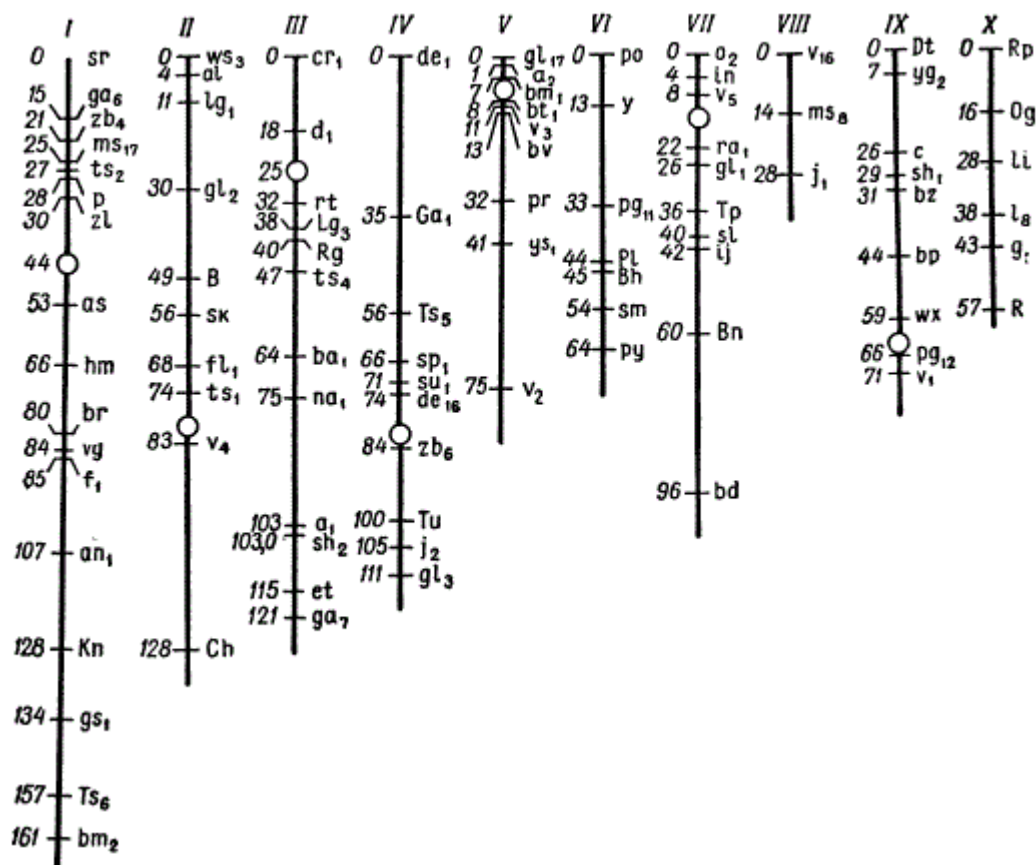
Генетичні карти

Генетичної картою хромосом називають схему відносного розташування генів, що знаходяться в даній групі зчеплення.

Генетичні карти складають для кожної пари гомологічних хромосом. Групи зчеплення нумерують.

Для того щоб скласти карти, необхідно вивчити закономірності успадкування великого числа генів. У кукурудзи, наприклад, вивчено понад 500 генів, локалізованих в чотирьох групах зчеплення. При складанні генетичних карт вказується група зчеплення, повна або скорочена назва генів, відстань у відсотках від одного з кінців хромосоми, прийнятого за нульову точку; іноді позначається місце центромери.

Створення генетичних карт дозволяє прогнозувати характер успадкування ознак, гени яких нанесені на карту, а в селекційній роботі полегшує підбір пар для схрещування. При розгляді генетичних карт хромосом може виникнути питання: яким чином в групі зчеплення кукурудзи визначається локус гена, що займає положення 62 або 107%? Адже відсоток кросоверних гамет, утворених дигетерозигот, не може рівнятися навіть 50, бо таке співвідношення гамет з батьківськими і новими поєднаннями генів виявляється при незалежному успадкуванні. Отже, відстань між самими крайніми точками в межах однієї хромосоми не може скласти більше 50%. Ця удавана невідповідність пояснюється тим, що локалізація генів здійснюється шляхом обліку кросинговеру на коротких, послідовно взятих ділянках, а на карту наноситься сума величин кросинговеру, певна для всіх ділянок. Тому загальна довжина генетичної карти може значно перевищувати отриману в експерименті величину кросинговеру між генами, розташованими на протилежних кінцях хромосоми.



1—X — групи сцеплення; центромера обозначена кружком; цифри указывают расстояния между локусами и одним из концов хромосом (в единицах перекреста).

Названия генів и их места в хромосомах:

- I: 0 *sr* — striated leaves; 15 *ga*₆ — gametophyte factor-6; 21 *zb*₄ — zebra leaves-4; 25 *ms*₁₇ — male sterile-17; 27 *ts*₂ — tassel seed-2; 28 *p* — pericarp and cob color; 30 *zl* — zygotic lethal; 53 *as* — asynaptic; 66 *hm* — helminthosporium resistance; 80 *br* — brachytic plant; 84 *vg* — vestigial glumes; 85 *f*₁ — fine stripes on leaves-1; 107 *an*₁ — anther ear-1; 128 *Kn* — knotted leaves; 134 *gs*₁ — green stripes on leaves-1; 157 *Ts*₆ — tassel seed-6; 161 *bm*₂ — brown midrib-2.
- II: 0 *ws*₃ — white sheath-3; 4 *al* — albescent plant; 11 *lg*₁ — liguleless-1; 30 *gl*₂ — glossy-2; 49 *B* — booster; 56 *sk* — silkless ear; 68 *fl*₁ — floury endosperm-1; 74 *ts*₁ — tassel seed-1; 83 *v*₄ — virescent seedlings-4; 128 *Ch* — chocolate pericarp.
- III: 0 *cr*₁ — crinkly leaves-1; 18 *d*₁ — dwarf-1; 32 *rt* — rootless; 38 *Lg*₃ — liguleless-3; 40 *Rg* — ragged leaves; 47 *ts*₄ — tassel seed-4; 64 *ba*₁ — barren stalk-1; 75 *na*₁ — nana-1; 103 *a*₁ — anthocyanin-1; 103 *sh*₂ — shrunken-2; 115 *et* — etched endosperm; 121 *ga*₇ — gametophyte factor-7.
- IV: 0 *de*₁ — defective endosperm-1; 35 *Ga*₁ — gametophyte factor-1; 56 *Ts*₅ — tassel seed-5; 66 *sp*₁ — small pollen-1; 71 *su*₁ — sugary-1; 74 *de*₁₆ — defective endosperm-16; 84 *zb*₆ — zebra leaves-6; 100 *Tu* — tunicata; 105 *j*₂ — japonica-2; 111 *gl*₃ — glossy-3.
- V: 0 *gl*₁₇ — glossy-17; 1 *a*₂ — anthocyanin-2; 7 *bm*₁ — brown midrib-1; 8 *bt*₁ — brittle-1; 11 *v*₃ — virescent seedlings-3; 13 *bv* — brevis; 32 *pr* — purple; 41 *ys*₁ — yellow stripes-1; 75 *v*₂ — virescent seedlings-2.
- VI: 0 *po* — polimitotic; 13 *y* — yellow endosperm; 33 *pg*₁₁ — pale green-11; 44 *pl* — purple plant; 45 *Bh* — blotched endosperm; 54 *sm* — salmon silks; 64 *py* — pigmy plants.
- VII: 0 *o*₂ — opaque endosperm-2; 4 *ln* — intensifier of aleurone color; 8 *v*₅ — virescent seedlings-5; 22 *ra*₁ — ramosa-1; 26 *gl*₁ — glossy-1; 36 *Tp* — teopod; 40 *sl* — slashed leaves; 42 *ij* — iojap; 60 *Bn* — brown aleurone; 96 *bd* — branched silkless.
- VIII: 0 *v*₁₆ — virescent seedlings-16; 14 *ms*₈ — male sterile-8; 28 *j*₁ — japonica-1.
- IX: 0 *Dt* — dotted aleurone; 7 *yg*₂ — yellow green-2; 26 *c* — aleurone color; 29 *sh*₁ — shrunken-1; 31 *bz* — bronze aleurone; 44 *bp* — brown pericarp; 59 *wx* — waxy endosperm; 66 *pg*₁₂ — pale green-12; 71 *v*₁ — virescent seedlings-1.
- X: 0 *Rp* — rust resistance; 16 *Og* — old-gold stripes; 28 *li* — lineate stripes; 38 *l*₈ — luteus-8; 43 *g*₁ — golden plant-1; 57 *R* — aleurone and plant color.

Цитогенетичне картування хромосом

Цей метод заснований на використанні хромосомних перебудов. При опроміненні і дії інших мутагенів в хромосомах часто спостерігаються випадання (делеції) або вставки невеликих фрагментів, які можна порівняти за величиною з одним або декількома локусами. Наприклад, можна використовувати гетерозиготи по хромосомах, одна з яких буде нести групу наступних один за одним домінантних алелів, тоді як гомологічна їй - групу рецесивних форм тих же генів. Якщо

хромосома з домінантними генами буде послідовно втрачати окремі локуси, то в гетерозиготі будуть проявлятися рецесивні ознаки. Порядок прояву рецесивних ознак вказує на послідовність розташування генів.

Так, при порядку генів AbC в разі делеції, захоплюючої ген C , у мух з вкороченою хромосомою, яка втратила фрагмент, рівний гену C , в фенотипі проявляться алелі c , b і A .

В цілому порівняння генетичних (кросинговерних) і цитологічних карт показує їх відповідність: чим більший відсоток кросинговеру розділяє пару генів, тим більше і фізична відстань між ними. Однак на невідповідність відстаней, визначених зазначеними двома методами, можуть впливати два фактори. По-перше, це області, в яких затруднений або взагалі відсутній кросинговер (наприклад, в гетерохроматизованих районах); по-друге, фізична відстань буде більше, ніж генетична, якщо гени розділені зоною «мовчазної» ДНК.

Механізм кросинговеру

Кросинговер відбувається в пахітені мейозу. В цей час гомологічні хромосоми найбільш тісно пов'язані одна з одною. Важливо також відзначити, що кросинговер здійснюється на рівні хроматид, причому в обмінах беруть участь хроматиди з різних гомологів (I і III; I і IV; II і III; II і IV). Структури синаптонемального комплексу, які формуються в процесах зближення і кон'югації пар хромосом-гомологів виконують роль своєрідного шаблону, в рамках якого локалізуються хроматиди обох гомологічних хромосом. Завдяки цьому молекули ферменту ДНК-ази, що розрізає ДНК, можуть робити поперечні розрізи суворо в гомологічних точках хроматид, які відносяться до двох гомологічних хромосом. Таким чином, кросоверні розрізи зачіпають не цілу хромосому, а тільки гомологічні точки двох хроматид, що належать хромосомами-гомологам. Кожен розріз двох хроматид утворює чотири відкритих кінці, які можуть знову об'єднуватися між собою за допомогою ферментів лігаз. Якщо між собою об'єднуються відкриті кінці вихідної хроматиди, це буде означати відновлення її початкової цілісності. Якщо ж між собою об'єднуються кінці хроматид, що належать двом хромосомами-гомологам, то утворюється нова комбінація генів в рамках відповідної групи зчеплення.

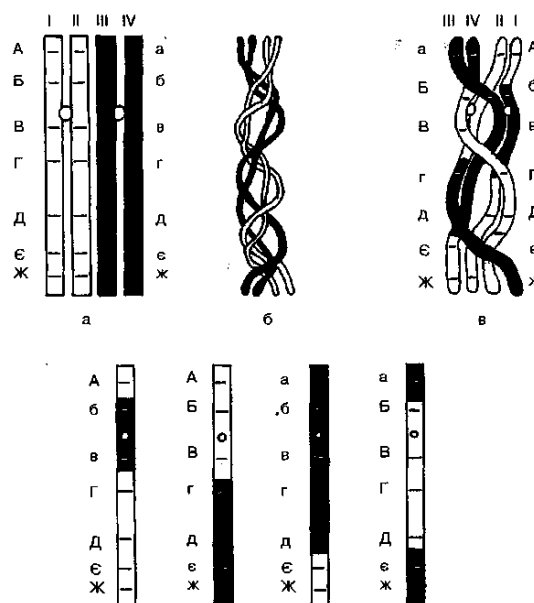
Так, в результаті кросинговеру між хроматидами I і IV в точці між генами А- і Б утворилися дві нові (А-б і а-Б) комбінації домінантних і рецесивних генів. Подібно до цього, від перехрещення I і III хроматиди утворилися нові В-г і в-Г комбінації, а від перехрещення II і IV хроматид - нові Д-е і д-Е комбінації.

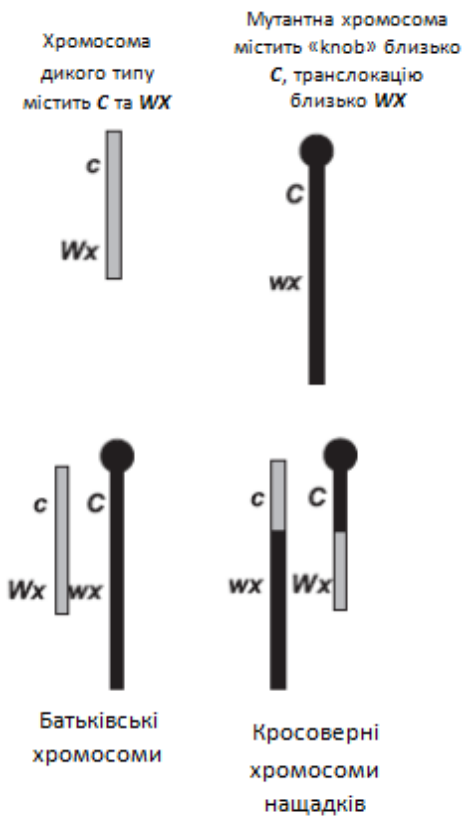
Можливі обміни і між сестринськими хроматидами. Швидше за все вони відбуваються в мітотичних циклах в S- або G_2 -стадіях.

Цитологічний доказ кросинговеру

Після того, як генетичними методами вдалося встановити явище кросинговеру, необхідно було отримати прямий доказ обміну ділянками гомологічних хромосом, що супроводжується рекомбінацією генів. Хіازми служили лише непрямим доказом цього явища, констатація того, що стався обмін прямим спостереженням неможлива, так як обмінюються ділянками гомологічні хромосоми зазвичай абсолютно однакові за розміром і формою.

Прямі цитологічні свідчення обміну частин хромосом під час кросинговеру були отримані на початку 30-х років у дрозофіли і кукурудзи. Г. Крейтон і Б. Мак-Клінток вдалося отримати у кукурудзи форму, у якій гомологічні хромосоми розрізнялися





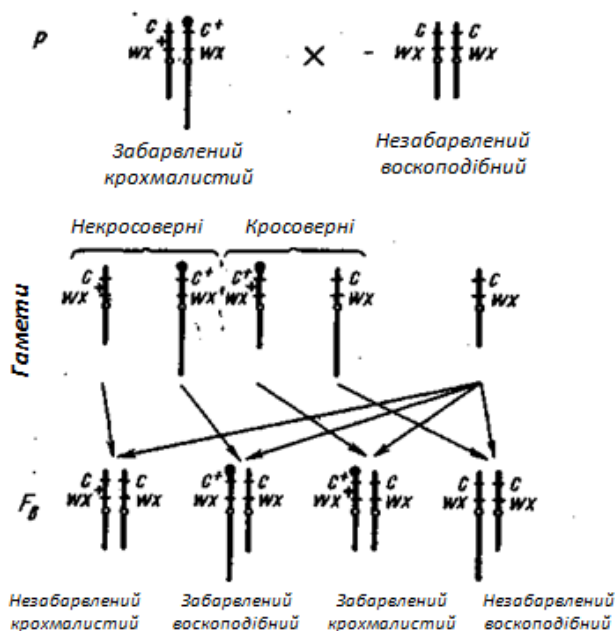
морфологічно - одна була нормальною, а інша несла потовщення на кінці одного плеча, друге її плече було подовжено. Ці особливості в будові пари хромосом легко виявлялися при цитологічних дослідженнях.

Під час експерименту нормальна хромосома несла рецесивний ген c (незабарвлений ендосперм) і домінуючий ген wx^+ (крохмалистий ендосперм), змінена хромосома - домінуючий ген c^+ (пофарбований ендосперм) і рецесивний ген wx (воскоподібний ендосперм). Дигетерозигот c^+wx/cwx^+ схрещували з лінією, що має морфологічно нормальні хромосоми, мічені рецесивними генами c і wx . У потомстві отримали як некросоверні, так і кросоверні зерна. При цитологічному вивченні їх було виявлено, що кросоверні зерна незмінно містили хромосоми з ділянками, що обмінялися: нормальної довжини, але з

потовщенням або подовженням без потовщення.

Таким чином, одночасно цитологічних і генетично було показано, що рекомбінація генів супроводжується обміном ділянками гомологічних хромосом в профазі мейозу.

Ці дослідження підтвердили гіпотезу Моргана про те, що кросинговер є обмін ділянками гомологічних хромосом і що гени дійсно локалізовані в хромосомах.



Соматичний (мітотичний) кросинговер

У соматичних клітинах іноді відбуваються обміни між хроматидами гомологічних хромосом, в результаті яких спостерігається комбінативна мінливість, подібна до тієї, яка регулярно генерується мейозом. Нерідко, особливо у дрозофіли і нижчих еукаріот, гомологічні хромосоми синаптують в мітозі. Доказ мітотичного кросинговеру було отримано на дрозофілі при спостереженні мозаїчних плям у мух з генотипом ysn^+/y^+sn . Мозаїчні плями утворюються тоді, коли поруч розташовані дві групи (точніше, два клони) клітин, фенотипово відрізняються один від одного і від клітин інших тканин даної особини. Гени y і sn (y - жовте тіло sn (single) - опалені щетинки) знаходяться в X-хромосомі. Самка зазначеного вище генотипу гетерозиготна по генам y і sn , і тому під час відсутності мітотичного кросинговеру її фенотип буде нормальним. Однак якщо кросинговер стався на стадії чотирьох хроматид між хроматидами різних гомологів (але не між сестринськими хроматидами), причому місце обміну знаходиться між геном sn і центромерою, то утворюються клітини з генотипами ysn^+/ysn^+ і y^+sn/y^+sn . У цьому випадку на сірому тілі мухи з нормальними щетинками з'являться подвійні мозаїчні плями, одна з яких буде жовтого кольору з нормальними щетинками, а інша - сірого кольору з опаленими щетинками. Для цього необхідно, щоб після кросинговеру обидві хромосоми (колишні хроматида кожної з гомологів) y^+sn відійшли до одного полюса клітини, а хромосоми ysn^- - до іншого. Нащадки дочірніх клітин, що

розмножились на стадії лялечки, і призведуть до появи мозаїчних плям.

Регуляція кросинговеру

На кросинговер впливає безліч факторів як генетичної природи, так і зовнішнього середовища. Тому в реальному експерименті про частоту кросинговеру можна говорити, маючи на увазі всі ті умови, в яких вона була визначена. Кросинговер практично відсутній між гетероморфними Х- і У-хромосомами. Якби він відбувався, то хромосомний механізм визначення статі постійно руйнувався б. Блокування кросинговеру між цими хромосомами пов'язано не тільки з різницею в їх величині (воно спостерігається не завжди), але і обумовлено У-специфічними нуклеотидними послідовностями. Обов'язкова умова синапсу хромосом (або їх ділянок) - гомологія нуклеотидних послідовностей.

Для абсолютної більшості вищих еукаріот характерна приблизно однакова частота кросинговеру як у гомогаметної, так і гетерогаметної статі. Однак є види, у яких кросинговер відсутній у особин гетерогаметної статі, в той час як у особин гомогаметної статі він протікає нормально. Така ситуація спостерігається у гетерогаметних самців дрозофіли і самок шовкопряда. Істотно, що частота мітотичного кросинговеру у цих видів у самців і самок практично однакова, що вказує на різні елементи контролю окремих етапів генетичної рекомбінації в статевих і соматичних клітинах.

Виявлено гени, що виконують роль *зупинювачів кросинговеру* (наприклад, у дрозофіли в 3 хромосомі знайдена мутація, яка припиняє кросинговер у всіх парах хромосом), але є також гени, що підвищують його частоту. Вони іноді можуть індукувати помітне число кросоверів у самців дрозофіли. Як зупинювачі кросинговеру можуть виступати також хромосомні перебудови, зокрема інверсії. Вони порушують нормальну кон'югацію хромосом в зиготені.

Виявлено, що на частоту кросинговеру впливають вік організму, а також екзогенні фактори: температура, радіація, концентрація солей, хімічні мутагени, ліки, гормони. При більшості зазначених впливів частота кросинговеру підвищується.

В цілому кросинговер є один з регулярних генетичних процесів, контрольованих багатьма генами як безпосередньо, так і через фізіологічний стан мейотичних або мітотичних клітин. Частота різних типів рекомбінації (мейотичний, мітотичний кросинговер) може служити мірою дії мутагенів, канцерогенів, антибіотиків і іншого.