**ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ 6**

**Хромосомні аберації та методи їх вивчення**

Історія вивчення хромосомних аберацій

Хромосомні перебудови вперше виявили у дрозофіл за допомогою генетичного аналізу. У деяких схрещуваннях співвідношення числа нащадків у різних класах сильно відрізнялося від очікуваного, і це пояснили наявністю перебудов у хромосомах батьків. Делеції, дуплікації та транслокації виявив К. Бріджес у 1916, 1919 та 1923 роках, відповідно. Першу інверсію описав Алфред Стертевант у 1921 році, порівнюючи порядок генів у хромосомі 3 у D. melanogaster та D. simulans.

**Келвін Бріджес** (11.01.1889—27.12.1938) — американський генетик, чиї роботи були присвячені розробці хромосомної теорії спадковості, зокрема, дослідженню хромосомних механізмів визначення статі, генетичному картуванню хромосом у Drosophila melanogaster, вивченому Drosophila melanogaster. Член Національної академії наук США.

У 1933 році на запрошення М. І. Вавілова К. Бріджес приїжджав на чотири місяці до Ленінграда до Інституту генетики АН СРСР. Серед його російських учнів, які навчалися методикою приготування препаратів політенних хромосом, була і класик вітчизняної цитогенетики А. А. Прокоф'єва-Бельговська.



Мал. 1. Келвін Бріджес — американський генетик

**Алфред Генрі Стертевант** (англ. Alfred Sturtevant; 21 листопада 1891, Джексонвіль Іллінойс США - 6 квітня 1970, Пасадіна Каліфорнія США) - американський генетик і зоолог, член Національної АН США, молодший брат мовознавця Едгара Стєра .



Мал. 2. Алфред Генрі Стертевант - американський генетик і зоолог

Основні наукові роботи присвячені розробці хромосомної теорії спадковості:

* 1913 - склав першу карту X-хромосоми дрозофіли.
* 1925 - відкрив явище супресії та ефект положення гена.
* Займався порівняльною цитогенетикою видів дрозофіли.
* Вивчав механізм визначення статі.
* Досліджував вплив на кросинговер виявленого ним явища інверсії ділянок хромосоми.
* Спільно з Т. Х. Морганом, Г. Дж. Меллером і К. Бріджес вніс значний внесок у створення хромосомної теорії спадковості.

Перші цитологічні спостереження хромосомних перебудов були зроблені на політенних хромосомах слинних залоз дрозофіли. Лише згодом хромосомні перебудови було показано на мітотичних хромосомах.

Цитологічно хромосомні перебудови можуть бути виявлені також у профазі першого поділу мейозу на стадії пахітени завдяки синапсису гомологічних ділянок хромосом. Подібний аналіз був вперше проведений Барбарою Мак-Клінток у 1930 році при вивченні транслокації у кукурудзи.

**Барбара Мак-Клінток** (англ. Barbara McClintock; 16 червня 1902, Хартфорд, Коннектикут - 2 вересня 1992, Хантінгтон, Нью-Йорк) - американський учений-цитогенетик, лауреат Нобелівської премії з фізіології та медицини. Протягом своєї кар'єри Мак-Клінток займалася переважно дослідженням цитогенетики кукурудзи.



Мал. 3. Барбара Мак-Клінток - американський вчений-цитогенетик

Барбара Мак-Клінток розробила метод візуалізації хромосом клітин кукурудзи і, застосувавши мікроскопічний аналіз, зробила безліч фундаментальних відкриттів у цитогенетиці , серед них рекомбінація спадкової інформації в результаті кросинговера («перехреста» та обміну ділянками хромосом) під час мейозу . Вона склала першу генетичну карту кукурудзи, описавши фізичні властивості ділянок хромосом, показала роль теломер і центромір (ділянок хромосом, задіяних у збереженні генетичної інформації) , провела великі дослідження з цитогенетики та етноботаніки південноамериканських видів кукурудзи теорію, що пояснює репресію та експресію генетичної інформації при передачі від одного покоління до іншого на прикладі кукурудзи. У 1951 року Мак-Клінток відкрила транспозони. 1983 року Мак-Клінток була удостоєна Нобелівської премії з фізіології та медицини з формулюванням «За відкриття мобільних генетичних елементів».

**Причини виникнення хромосомних мутацій**

Точні причини хромосомних мутацій у кожному даному випадку не можна назвати точно. Взагалі мутації ДНК є інструментом природного відбору та неодмінною умовою еволюції. Вони можуть мати позитивне нейтральне чи негативне значення і передаються у спадок. Усі мутагени, здатні призводити до змін у хромосомах, прийнято ділити на 3 типи:

* біологічні (бактерії, віруси);
* хімічні (солі важких металів, феноли, спирти та інші хімічні речовини);
* фізичні (радіоактивне та ультрафіолетове випромінювання, надто низькі та високі температури, електромагнітне поле).

Можуть виникати і мимовільні хромосомні перебудови, без впливу факторів, що погіршують, але такі випадки вкрай рідкісні. Відбувається це під впливом внутрішніх та зовнішніх умов (так званого мутаційного тиску середовища). Така випадковість призводить до зміни генів та їхнього нового розподілу в геномі. Подальша життєздатність організмів з змінами визначається можливістю пристосування до виживання, що є частиною природного відбору. Для людини, наприклад, мутаційні процеси нерідко стають джерелом різних спадкових захворювань, часом несумісних із життям.

**Класифікація (внутрішньохромосомні мутації):**

* 1. **Делеції**

**Делеції** – втрата ділянки хромосоми з утворенням центричного (маючого центромеру) і ацентричного (безцентромерного) фрагментів. Делеції – результат розриву хромосом.

Ацентричний фрагмент, як правило, губиться під час найближчого мітозу. Фрагмент, маючий в своєму складі центромеру, реплікуються, і його копії нормально розподіляються при клітинному діленні. Іноді розриви відбуваються одночасно в обох плечах хромосоми. Обидва ацентричних кінця елімінуються, а відкриті кінці центричного фрагменту можуть з’єднатися з утворенням кільцевої хромосоми.

В нормальній хромосомі гени розташовані в конкретній послідовності:

**ABCDEF.**

При втраті фрагмента хромосоми можливі два принципових варіанти:

**ABEF**

або

**ABC,**

так може бути втрачена середня або кінцева частина хромосоми.

Гетерозиготні делеції цитологічно вивляються через наявність петлі в нормальному гомологі:

**ABDEF**

**AB DEF**

**C**

Це особливо легко побачити на прикладі політенних хромосом, гомологи яких щільно кон’югують, і ця петля добре помітна.



Мал. 4. Вид гетерозиготної делеції у політенних хромосомах дрозофіли

В залежності від локалізації втраченої ділянки хромосоми делеції ділять на:

1. інтерстиціональні – відсутня внутрішня ділянка хромосоми, яка не торкається теломер;
2. кінцеві (нестачі) – відсутній теломерний район і прилягаюча до нього ділянка.

Істинність таких делецій в світі унікальної функції теломер поставлена під сумнівом. В часності, до тепер не ясно, дійсно чи термінальні нехватки, зафіксовані в більшості пацієнтів з спадковими синдромами, наприклад, з синдромом кошачого крику, утворилися в результаті одного розриву.

1. **Класифікація (внутрішньохромосомні мутації):**
   1. **Делеції**

**Дуплікації –** локальне подвоєння конкретної ділянки хромосоми. Дуплікаційна ділянка може бути розташована у вихідній хромосомі: або безпосередньо примикаючи до вихідної ділянки (тандемна дуплікація), або в тому самому плечі, але на деякій відстані від вихідної ділянки, або в іншому плечі вихідної хромосоми. Крім того, дуплікована ділянка може бути локалізована в негомологічній хромосомі, в іншій групі зчеплення. У разі дуплікації двох ідентичних генів, подібних за характером дії та що опинилися у різних групах зчеплення, при схрещуванні спостерігатиметься характерне для дигібридного розщеплення полімерних генів відношення 15:1.

Однією з причин дуплікації є нерівний кросинговер, що має місце в тому випадку, якщо на деякій ділянці хромосоми гомологічні локуси при кон'югації в профазі I мейозу зсуваються один відносно одного на деяку відстань.

Практично у всіх організмів у нормі спостерігається множинність генів, що кодують рРНК (рибосомальну РНК). Це назвали надмірністю генів. Так, у E. coli на рДНК (ДНК, що кодує рРНК) припадає 0,4 % всього геному, що відповідає 5-10 копіям рибасомальних генів.

**Класифікація (внутрішньохромосомні мутації):**

* 1. **Інверсії**

**Інверсії** - хромосомні перебудови, пов'язані з поворотом окремих ділянок хромосоми на 180 °.

Розрізняють парацентричні (інвертований фрагмент лежить по одну сторону від центроміру) та перицентричні (інвертований фрагмент лежить по різні боки від центроміру) інверсії. При інверсіях не відбувається втрати генетичного матеріалу, тому що такі інверсії як правило не впливають на фенотип, але якщо в інверсійній гетерозиготі (тобто організмі, що несе як нормальну хромосому, так і хромосому з інверсією) відбувається кросинговер, існує ймовірність формування аномальних хроматид. У випадку парацентричної інверсії утворюється одна нормальна та одна інвертована (фенотипно нормальна) хроматиди, дицентрична хроматида з дуплікацією та делецією (при розбіжності хроматид вона зазвичай розривається на дві) та ацентрична хроматида з дуплікацією та делецією (зазвичай втрачається). У разі перицентричної інверсії утворюється одна нормальна та одна інвертована хроматиди, а також дві хроматиди з дуплікацією та делецією. Гамети, які мають дефектні хромосоми, зазвичай розвиваються чи гинуть на ранніх етапах онтогенезу. Але гамети з інвертованою хромосомою розвиваються в організми, 50% яких нежиттєздатні. Тому мутація зберігається у популяції.

У людини найпоширенішою є інверсія в 9 хромосомі, яка не шкодить носію, хоча існують дані, що у жінок з цією мутацією існує 30% ймовірність викидишу.

**Класифікація (внутрішньохромосомні мутації):**

**Інсерції**

Хромосомні **інсерції** (вставки) означають, що матеріал хромосоми був вставлений у незвичне місце у тій самій або у іншій хромосомі. Якщо це не привело до появи надлишкового або втраченого матеріалу, особа переважно є здоровою. Проте, якщо внаслідок цих змін деякий матеріал виявився додатковим, або навпаки, втраченим, то особа може мати труднощі з навчанням, затримку в розвитку та проблеми зі здоров'ям.

Щоб відбулася інсерція, необхідно щонайменше 3 розривів хромосом. Оскільки у разі виникнення інсерції не втрачається і додається новий генетичний матеріал, таку перебудову вважають збалансованою. Однак у носіїв такої інсерції 50% гамет виявляться незбалансованими, оскільки вони нестимуть хромосому або з делецією, або з інсерцією. Внаслідок цього утворюватимуться зиготи з частковою моносомією або частковою трисомією.

**Класифікація (міжхромосомні):**

**Транслокації**

**Траїслокації** переміщення ділянок хромосоми в нове положення в її межах або обмін ділянками між різними хромосомами. Розрізняють транслокації:

1. симетричні (реципрокні) – з’єднання центричного фрагмента однієї хромосоми з ацентричним фрагментом іншої, взаємний обмін ділянками між двома негомологічними хромосомами (реципрокний обмін).

В результаті кон'югації в мейозі транслоковані хромосоми у гетерозигот разом зі своїми не перебудованими гомологами утворюють характерну фігуру транслокаційного хреста. Щільна кон'югація поблизу точок розривів виявляється складною, що призводить до придушення кросинговера в цих ділянках. Оскільки гомологічні ділянки є у всіх чотирьох хромосом, що кон'югують, у профазі мейозу утворюються квадриваленти. З шести можливих типів гаплоїдних продуктів, що виникають при трьох способах розходження хромосом, тільки два типи функціонують нормально: ті, що отримали повні набори генів, характерні для вихідних батьківських форм та інші чотири типи гамет будуть мати незбалансовані хромосомні набори: гамста міститиме хромосому з делецією або дуплікацією по окремих ділянках;

1. асиметричні – з'єднання центричних або ацентричних фрагментів, в результаті яких утворюються дицентрики, трицентрики і т.д.;
2. робертсоновскі – злиття не гомологічних аероцентричних хромосом в області їх центромер з утворенням однієї метацентричної хромосоми. Транслокації цього тілу названо на ім'я В. Робертсона, який запропонував гіпотезу про злиття хромосом для пояснення зменшення їх числа в хромосомному наборі. Центричне злиття - поширений тип хромосомних перебудов у людини. До нього можуть залучатися всі п'ять пар акроцентриків-хромосом з одним довгим і другим дуже коротким (іноді важко виявляється) плечем. При утворенні робертсонівських транслокацій разом із втратою коротких плечей скорочуються и гени рибосомальної РНК, що підтверджується результатами ДНК-РНК-гібридизації. Однак, це не супроводжується будь-якими функціональними порушеннями, і носії таких хромосом повністю здорові.

**Класифікація (міжхромосомні):**

**Транспозиції**

Транспозиції є переміщення невеликих ділянок генетичного матеріалу в межах однієї хромосоми або між різними хромосомами. Транспозиції відбуваються з участю особливих рухливих чи мігруючих генетичних елементів.

Вперше мігруючі генетичні елементи були описані Б. Мак-Клінток 1947 р. у зв'язку з вивченням хромосомних розривів у кукурудзи. Було виявлено мігруючий локус **Ds** (дисоціатор), в якому переважно відбуваються розриви хромосом. Сам собою **Ds** не викликає розривів. Вони з'являються в цьому локусі, якщо в геномі є інший мігруючий елемент - **Ас** (активатор). Обидва ці елементи можуть губитися з частотою кілька відсотків у мейотичному потомстві або змінювати свою локалізацію при мітотичних поділах. У цьому **Ds** переміщається лише у присутності **Ас**.

Впровадження **Ds** у безпосередній близькості або всередину гена **С**, що контролює забарвлення алейрону насіння, призводило до інактивації гена **С**, і гетерозиготне насіння **Ссс** (нагадаємо, що ендосперм - триплоїдна тканина) виявлялися незабарвленими. У присутності активатора (**Ас**) диссоціатор (**Ds**) починав переміщатися - іноді залишав локус **С**. Внаслідок цього з'являлися пофарбовані плями алейрону на незабарвленому насінні.

**Хромосомні хвороби**

Хромосомні хвороби — спадкові хвороби, які зумовлені геномними (зміна числа хромосом) і хромосомними (зміна структури хромосом) мутаціями. Хромосомні хвороби, як правило, не передаються потомству і виникають заново внаслідок мутацій.

Зазвичай аномалії хромосом з'являються у статевих клітинах (гаметах) за певних порушень під час мейозу. І якщо ушкоджена клітина братиме участь у заплідненні, то новий організм буде розвиватися хворим. Таким чином, більшість хромосомних хвороб, пов'язаних із порушеннями у структурі хромосом, — наслідок мутацій у статевих клітинах батьків або на стадії дробіння зиготи.

Мутації в гаметах призводять до розвитку повних форм, а мутації, що з'явилися на ранніх стадіях розвитку зародка (особливо на стадії дробіння зиготи), утворюють мозаїчний організм. Мозаїчні форми хромосомних хвороб мають легший перебіг. Можливо, цим і пояснюється наявність нормальних клітин, які компенсують генний дисбаланс.

Аномалії, пов'язані з порушеннями структури **аутосом**, мають тяжчий перебіг, ніж аномалії, пов'язані зі статевими хромосомами. Це виявляється насамперед у тому, що інтелект за таких хвороб уражується значно більше внаслідок різної генетичної активності хромосом: У-хромосома несе мало генів, а одна з Х-хромосом у жінок перебуває в неактивному стані.

Як приклад хромосомних хвороб, зумовлених змінами структури хромосом, можна навести делецію — синдром 5р— (втрата короткого плеча автосоми 5) або **синдром** **котячого крику** (дитячий плач, схожий на муркотання кішки). Такий крик пояснюється не аномалією голосового апарату, а ушкодженням центральної нервової системи.

Найтиповішими для цього синдрому є так і клінічні ознаки: специфічний плач, недостатня маса тіла у новонародженого, відставання в рості, мікроцефалія, розумова відсталість, м'язова гіпотонія, цибулеподібне обличчя, мікрогнатія (маленька щелепа , низько розташовані й деформовані вуха), поперечна долонна складка, синдактилія, клишоногість, сколіоз, часті грижі, вади серця, нирок, дуже низька опірність організму інфекційним захворюванням, унаслідок чого так і хворі досить рано помирають. У всіх хворих спостерігається розумова відсталість. Частота патології — 1:50000 новонароджених, як і народилися живими.

**Синдром Орбелі** — делеція довгого плеча автосоми 13. Мінімальними ознаками синдрому є: мікроцефалія, широка спинка носа, значне виступання верхньої щелепи, птоз (опущення повіки). Постійні ознаки: виражена пренатальна гіпотрофія і подальше вповільнення росту та психомоторного розвитку, черепно-лицеві дисморфії, деформовані вуха, знач е виступання щелепи, косоокість, катаракта, коротка шия, клишоногість тощо.

Трапляються синдроми довгого й короткого плеча хромосоми 18 (18р-,18ц-), делеція довгого плеча хромосоми 21 (21ц-) та інші форми хромосомних мутацій. Варто зазначити: хромосомні перебудови, що відбуваються в автосомах унаслідок кросинговеру, можливі для обох статей, а перебудови статевих хросомом виявляють лише у жінок (оскільк и кон'югують під час мейозу лише Х-хромосоми).

Існують й інші хромосомні аберації — транслокації, інверсії. Транслокації можуть бути збалансованими і незбалансованими, останні спричинюють патологічні стани. Збалансовані транслокаці ї фенотипово не виявляються. Прикладом незбалансованої транслокації є транслокаційний тип **хвороби Дауна**, який трапляється в 4 % випадків.

Делецію довгого плеча хромосоми 15 зумовлений **синдром Прадера-Віллі**. Частота появи синдрому — 1:15000. У дітей виражена м'язова гіпотонія аж до атонії, знижені сухожилков і рефлекси; вони малорухливі, схильні до гіпотермії, постійно відчувають голод, можуть безперервно їсти й активно шукають їжу. Стопи і кисті непропорційно маленькі, спостерігаються гіпоплазія статевих органів, вповільнення статевого розвитку, аменорея, низький зріст; часто виявляють розумову відсталість. Характерні відхилення від норми в поведінці.

**Значення хромосомних перебудувань**

Аберації хромосом відіграють істотну роль в еволюційному процесі та видоутворенні, у порушенні [фертильності](https://vue.gov.ua/%D0%A4%D0%B5%D1%80%D1%82%D0%B8%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D1%96%D1%81%D1%82%D1%8C_%D0%BE%D1%80%D0%B3%D0%B0%D0%BD%D1%96%D0%B7%D0%BC%D1%96%D0%B2), в [онкологічних](https://vue.gov.ua/%D0%9E%D0%BD%D0%BA%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D1%96%D1%8F) і вроджених [спадкових захворюваннях](https://vue.gov.ua/%D0%A1%D0%BF%D0%B0%D0%B4%D0%BA%D0%BE%D0%B2%D1%96_%D1%85%D0%B2%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%B1%D0%B8) людини. Дуплікації постачають матеріал для створення нових генів у процесі природного добору. Інверсії і транслокації сприяють генетичній ізоляції нових форм у процесі їх [дивергенції](https://vue.gov.ua/%D0%94%D0%B8%D0%B2%D0%B5%D1%80%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D1%86%D1%96%D1%8F). Механізм виникнення хромосомних перебудов тривалий час був невідомий, і аберації хромосом вважали нерегулярними подіями, про що свідчить сам термін «аберація», тобто відхилення від норми. Нині встановлено, що основним джерелом перебудов хромосом є механізм [рекомбінації](https://vue.gov.ua/%D0%A0%D0%B5%D0%BA%D0%BE%D0%BC%D0%B1%D1%96%D0%BD%D0%B0%D1%86%D1%96%D1%8F). Оскільки хромосомні перебудови, що традиційно розглядалися як один із типів мутацій, виявилися пов’язаними з процесами рекомбінації, наразі обговорюється можливість вилучення хромосомних перебудов із категорії мутацій.

Процес мутації є основним джерелом змін, що призводять до різних патологічних змін. Найближчим часом завдання для науки визначається як використання генної інженерії для запобігання або зменшення можливості мутацій та усунення змін в ДНК для зменшення генетичного навантаження. Генна інженерія – це новий напрям молекулярної біології, який з’явився нещодавно, і в майбутньому він може зробити мутації корисними для людини, особливо ефективними проти вірусів. Вже є деякі речовини, які називаються антимутагенними агентами, які можуть зменшити швидкість мутації. Досягнення сучасної генетики використовуються в діагностиці, профілактиці та лікуванні багатьох генетичних захворювань. В результаті в 20 столітті в США була отримана рекомбінантна ДНК. Генна інженерія була використана для створення штучних генів інсуліну, інтерферону та інших речовин.