

МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ ТА ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ

МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет технології виробництва і переробки продукції  
тваринництва, стандартизації та біотехнології

Кафедра генетики, годівлі тварин та біотехнології

## **ЦИТОГЕНЕТИКА**

### **Методичні рекомендації**

для виконання лабораторно-практичних робіт  
студентами денної форми навчання спеціальності 8.09010203 –  
«Розведення та селекція тварин»



МИКОЛАЇВ  
2013

УДК 575  
ББК 28.04  
Ц 74

Друкується за рішенням науково-методичної комісії факультету  
ТВШПТСБ Миколаївського національного аграрного університету від  
19.12. 2013 р., протокол № 4.

#### Укладачі:

- О.Ю. Сметана – канд. с -г. наук, доцент кафедри генетики, годівлі  
тварин та біотехнології,  
Миколаївський національний аграрний університет.  
О.І. Каратєєва – канд. с -г. наук, асистент кафедри генетики, годівлі  
тварин та біотехнології,  
Миколаївський національний аграрний університет.

#### Рецензенти :

- В.А. Могила – канд. біол. наук, доцент кафедри фізіології та  
біохімії,  
Миколаївський національний університет  
ім. В.О. Сухомлинського.  
В.А. Кириченко – канд. с.-г. наук, доцент, доцент кафедри зоогієни  
та ветеринарії,  
Миколаївський національний аграрний  
університет.

## ЗМІСТ

	стор.
Вступ.....	4
1. Хроматин та рівні його компактизації.....	5
2. Загальна характеристика і будова хромосом .....	9
3. Каріотип та морфометричний аналіз хромосом .....	15
4. Хромосомна теорія спадковості. Генетичні карти хромосом .....	19
5. Клітинний цикл і його генетичний контроль.....	27
6. Мейоз. Вивчення фаз мейозу .....	35
7. Механізми виникнення і наслідки геномних мутацій .....	41
8. Хромосомні аберації. Транслокації та їх ідентифікація .....	46
9. Хромосомні інверсії та їх виникнення.....	51
10. Дуплікації і делеції та їх наслідки.....	55
Література .....	60

## Вступ

За визнанням багатьох сучасних вчених-біологів генетика в останні десятиліття стала серцевиною біологічної науки в цілому. У ході розвитку генетики, її зв'язок з цитологією сприяв формуванню нової науки – цитогенетики – науки про матеріальні основи спадковості у взаємозв'язку з будовою і функціями різних внутрішньоклітинних структур.

Цитогенетика розглядає на такі питання, як:

- природа мутацій та механізм їх виникнення;
- каріотипова мінливість в природних популяціях та її роль в забезпеченні адаптації на популяційному рівні;
- закономірності еволюції каріотипу в процесі видоутворення;
- формування великих систематичних категорій.

Цитогенетика використовує методи генетики та цитології і тісно пов'язана з розділами цих наук – молекулярною генетикою, цитохімією, каріологією та іншими. При класичному цитогенетичному аналізі проводять одночасно цитологічне (мікроскопічне) дослідження хромосом і генетичний аналіз успадкування ознак. Цитогенетику підрозділяють на загальну, до якої включають також популяційну і радіаційну цитогенетику, та спеціальну – цитогенетику рослин, цитогенетику тварин та цитогенетику людини (у тому числі медичну цитогенетику).

## Практична робота № 1

**Тема:** Хроматин та рівні його компактизації.

**Мета:** Вивчити будову хроматину на різних рівнях його компактизації та навчитись відрізняти еу- і гетерохроматин.

*Хроматин* (від. грецк. *χρόματα* – колір, фарби) – форма існування генетичного матеріалу в інтерфазних клітинах. Він являє собою внутрішньоядерні нуклеопротейдні структури у вигляді грудочок, гранул і ниток, які забарвлюються деякими барвниками. Під час поділу клітини (мітоз, мейоз) хроматин перетвориться в хромосоми.

Хімічний склад хроматину: ДНК (30-45%), гістонові білки (30-50%), негістонові білки (4-33%), таким чином хроматин є *дезоксирибонуклеопротейдним комплексом* (ДНПК).

Гістони утворюють родину висококонсервативних лужних білків, які поділяються на п'ять великих класів: Н1, Н2А, Н2В, Н3 і Н4. Гістон Н1 збагачений залишками лізину, для гістонів Н2А і Н2В характерний помірний вміст лізину, поліпептидні ланцюги гістонів Н3 і Н4 багаті на аргінін. За рахунок позитивних зарядів цих амінокислотних залишків гістони нейтралізують негативно заряджені фосфатні групи ДНК, що робить можливою її щільну упаковку в ядрі.

Важливим результатом взаємодії ДНК з білками у складі хроматину є її компактизація. Довжина молекули ДНК, укладеної в одній хромосомі людини, в середньому дорівнює ~ 4 см. Тим часом, довжина метафазної хромосоми складає ~ 4 мкм. Отже, ДНК метафазних хромосом людини компактизована за довжиною, принаймні, в ~ 10<sup>4</sup> разів. З рештою, відповідно до поширеної точки зору розрізняють три рівні структурної організації хроматину в еукаріот (рис. 1):

- 1) нуклеосомна фібрила;
- 2) соленоїд, або нуклеомерна фібрила;
- 3) петельно-доменна структура, яка включає хромомери.

Першим рівнем компактизації хроматину є нуклеосомна фібрила.  
Вона складається з трьох компонентів. Першим є *нуклеосома*, яка складається з гістонів чотирьох типів: H2A, H2B, H3 і H4.

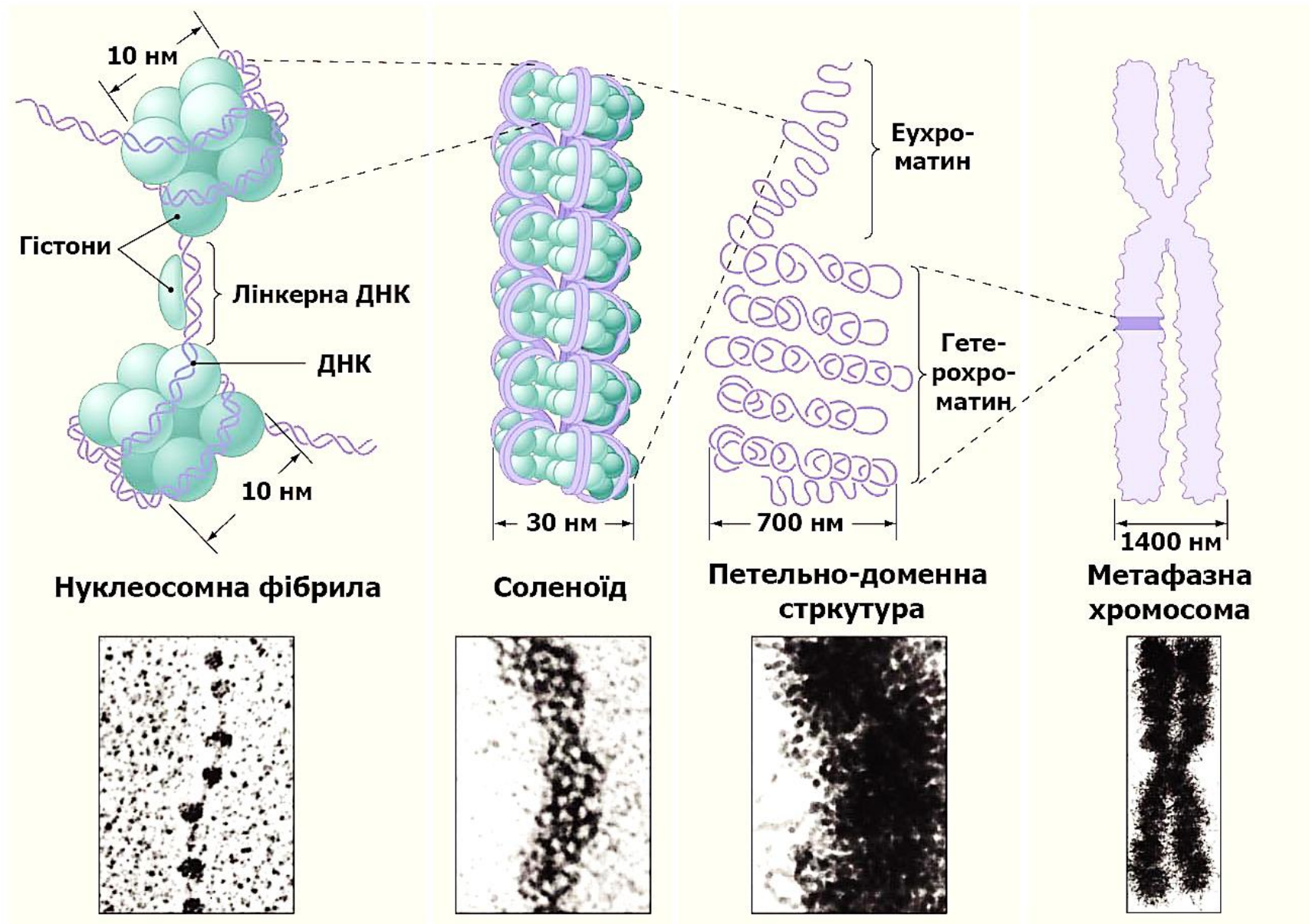


Рис. 1. Схема упакування хроматину

В одну нуклеосому входять по два білки кожного типу (всього вісім гістонів), утворюючи октамер обвитий сегментом ДНК завдовжки 146 п.н. (другий елемент фібрили), формуючи при цьому 1,8 витка спіралі. Структура, яка складається з гістонового октамера (нуклеосом) і намотаної на нього ДНК, отримала назву *нуклеосомної корової одиниці*, діаметр якої становить ~ 11 нм, а товщина ~ 5,5 нм. Останні розташовуються досить регулярно з кроком 10-20 нм. Корові одиниці відокремлені одна від одної сегментами *лінкерної ДНК*, що є третім компонентом фібрили. Структура, яка утворюється, нагадує намисто. Загальна довжина ділянки ДНК, включеної до одного сегменту нуклеосомної фібрили становить  $200 \pm 15$  п.н., а її діаметр приблизно дорівнює 10 нм.

Другим рівнем компактизації хроматину є формування соленоїдної структури. *Соленоїд* представляє собою спіраль наступного рівня, один виток якої (нуклеомер) складається з шести нуклеосом. Конденсуючу роль при формуванні соленоїду відіграє гістон H1, зв'язування молекул якого з лінкерною ДНК, за межами корових одиниць, забезпечує утворення компактних фібрил діаметром 30 нм.

В інтерфазних ядрах еукаріот нитки хроматину, в яких ДНК упакована у формі соленоїда, організовані у вигляді топологічно незалежних петель, довжина яких у середньому складає 50-100 т.п.н. Такий спосіб просторової укладки ниток хроматину розглядається як третій рівень конденсації хроматину – петельно-доменний, а самі петлі отримали назву *хромомери*.

За допомогою електронного мікроскопу встановлено, що нитки хроматину в хромомерах мають додаткову специфічну укладку у вигляді розеток, зібраних біля основи, від якої відходять малі петлі довжиною ~ 5 т.п.о. Утворення хромомерів стає можливим завдяки наявності в їх основах певних послідовностей нуклеотидів, які специфічно взаємодіють з ядерним скелетом, або скефолдом.

Таким чином, на кожному рівні компактизації еукаріотичної ДНК відбувається її вкорочення. Нуклеосомна фібрила стає коротшою в 6-7 разів, соленоїдна структура дає зменшення довжини ще в шість



разів. Петельно-доменний рівень компактизації вкорочує хроматин ще у 17-18 разів. Завдяки цьому 46 молекул ДНК диплоїдного геному людини загальною довжиною близько 2 м, що містять в сумі 6-109 п.н., можуть поміститися в клітинному ядрі діаметром всього 10 мкм.

Ступінь компактизації хроматину в інтерфазних ядрах значно нижчий і нерівномірний в окремих генетичних локусах. З функціональної точки зору розрізняють еухроматин і гетерохроматин. *Еухроматин* – генетично активні, а *гетерохроматин* – генетично неактивні ділянки хроматину. Еухроматин при світловій мікроскопії невидимий, слабо забарвлюється і являє собою деконденсовані (деспіралізовані, розкручені) ділянки хроматину. Гетерохроматин під світловим мікроскопом має вигляд грудочок або гранул, інтенсивно забарвлюється і являє собою конденсовані (спіралізовані, ущільнені) ділянки хроматину. Як правило, гетерохроматин нагромаджується поблизу центромер.

### **Завдання:**

1. *Впишіть і вивчіть усі виділені курсивом терміни.*
2. *Охарактеризуйте рівні компактизації хроматину.*
3. *Визначте приблизну довжину ДНК, укладеної в метафазних хромосомах завдовжки 14,8 мкм, 42 мкм, 0,8 мкм і 37,6 мкм. Якою буде приблизна кількість пар нуклеотидів (п.н.) в цих ДНК, якщо відстань між сусідніми нуклеотидами становить 0,34 нм?*

### **Питання для самоперевірки:**

1. Що таке хроматин і з чого він складається?
2. Які гістонові білки входять до складу хроматину та чим вони відрізняються?
3. Як додатково компактизуються хромомери?
4. Чим відрізняються еу- і гетерохроматин?

## Практична робота № 2

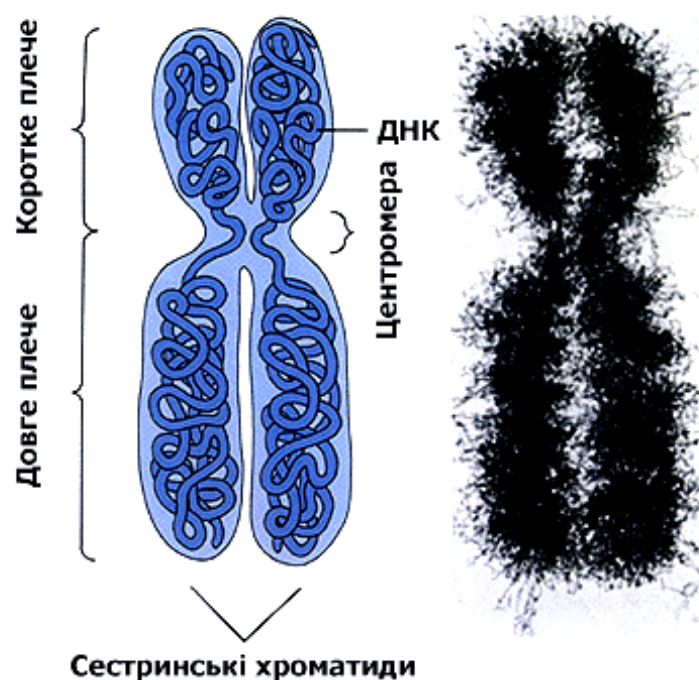
**Тема:** Загальна характеристика і будова хромосом.

**Мета:** Вивчити морфологічну будову хромосом та навчитись розрізняти їх гігантські форми.

**Хромосома** (старод.-греч. *χρῶμα* – колір і *σῶμα* – тіло) – нуклеопротеїдні структури в ядрі еукаріотичної клітини, в яких зосереджена приблизно 90% спадкової інформації та які призначені для її зберігання, реалізації та передачі. Всі хромосоми містять дуже довгий безперервний полімеризований ланцюг ДНК (ДезоксирибоНуклеїнова Кислота), який містить гени, регуляторні елементи та проміжні нуклеотидні послідовності.

Хромосоми чітко помітні у світловому мікроскопі тільки в період мітотичного або мейотичного поділу клітини. Розміри хромосом у різних організмів варіюють у широких межах – від 0,2 до 50 мкм.

Метафазні хромосоми складаються з двох поздовжніх копій, які називаються *сестринськими хроматидами* і які утворюються при реплікації (рис. 2).



**Рис. 2.** Схематичне зображення хромосоми (ліворуч) та її фотознімок (праворуч)

На стадії метафази сестринські хроматиди з'єднані в районі первинної перетяжки, яка називається *центромерою*. Центромера відповідає за розходження сестринських хроматид по дочірнім клітинам при поділі. На центромері відбувається формування *кінетохору* – складної білкової структури, яка відповідає за прикріплення хромосоми до мікротрубочок веретена поділу на початку анафази мітозу чи на початку анафази II мейозу. Передчасний розрив сестринських хроматид за центромерами призводить до різкого порушення розподілу хромосом.

Центромера ділить хромосоми на дві частини, що називаються *плечами*. У більшості видів коротке плече хромосоми позначається буквою *p*, довге плече – буквою *q*. Довжина хромосоми і положення центромери є основними морфологічними ознаками метафазних хромосом.

Додатковою морфологічною ознакою деяких хромосом є так звана *вторинна перетяжка*, яка зовні відрізняється від первинної відсутністю помітного кута між сегментами хромосоми. Вторинні перетяжки бувають короткими і довгими та локалізуються в різних точках вздовж хромосоми. На вторинних перетяжках знаходяться, як правило, ядерцеві організатори, що містять багаторазові повтори генів, кодуєрих рибосомальні РНК (рибонуклеїнові кислоти). Невеликі хромосомні сегменти, які відокремлені від основного тіла хромосоми вторинними перетяжками, називаються *супутниками (сателітами)*. Хромосоми, які володіють супутником, прийнято називати *SAT-хромосомами* (лат. *SAT – Sine Acid Thymonucleinico* – без ДНК).

Супутник – це найчастіше гетерохроматиновий хромосомний сегмент, розташований дистально від вторинної перетяжки. Виділяють наступні різновиди супутників:

1) за формою:

- *мікросупутники* – сферичної форми, маленькі супутники з діаметром удвічі або ще менше діаметра хромосоми;
- *макросупутники* – досить великі форми супутників з діаметром, що перевищує половину діаметра хромосоми;

- *лінійні* – супутники, що мають форму довгого хромосомного сегменту. Вторинна перетяжка значно віддалена від термінального кінця;

2) за розташуванням:

- *термінальні* – супутники, локалізовані на кінці хромосоми;
- *інтеркалярні* – супутники, локалізовані між двома вторинними перетяжками.

Супутник разом з вторинною перетинкою складають *супутникову ділянку*. Вторинні перетяжки можуть бути в одних хромосомах на довгому плечі, а у інших – на короткому. Кінцеві ділянки хромосоми називають *теломерами*. Особливість їх полягає в тому, що вони протидіють з'єднанню з іншими ділянками хромосом.

Окрім звичайних метафазних хромосом було ще описано їх декілька нестандартних різновидів такий як гігантські політенні хромосоми і хромосоми типу «лампових щіток».

*Політенні хромосоми* – це гігантські скупчення вздовж об'єднаних хроматид, які виникають у деяких типах спеціалізованих клітин (рис. 3). Класичним прикладом є гігантські хромосоми в клітинах слинних залоз личинок *Drosophila melanogaster* (плодової мушки).

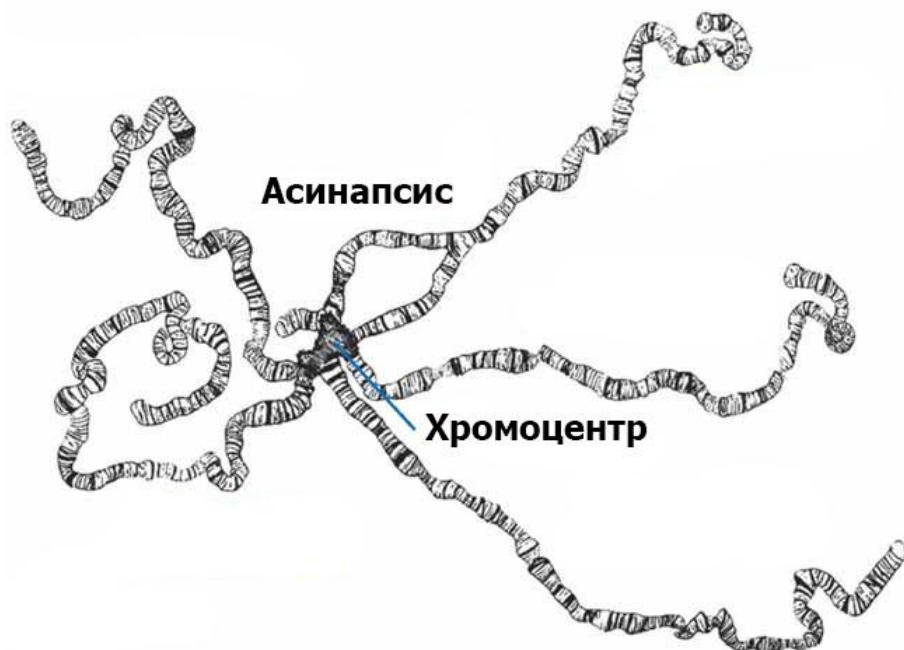


Рис. 3. Гігантські політенні хромосоми *D.melangaster*

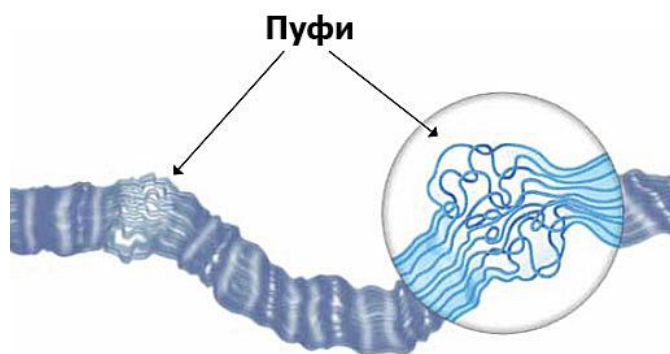
Політенні хромосоми, як правило, в 100-200 разів довші та в 1000 разів товщі (містять до 1000 хромосом), ніж хромосоми багатьох інтерфазних клітин (як статевих, так і соматичних). Так, у личинок *D.melangaster* загальна довжина чотирьох пар хромосом у слинних залозах складає 2000 мкм, а в звичайних соматичних клітинах ця величина становить 7,5 мкм.

Характерна форма і розміри політенних хромосом досягаються внаслідок їх максимальної деспіралізації і багаторазової редуплікації хроматид без їх подальшого розходження, тобто вони утворюються як результат *ендомітозу*.

Політенні хромосоми мають характерну поперечну смугастість, обумовлену наявністю ділянок з більш щільною спіралізацією – *хромомер*. У темних ділянках (хромомерах) розташовується неактивний хроматин, тим часом як світлі смуги вказують на регіони з підвищеною активністю генів. Чітке розрізнення темних дисків і світлих міждисккових ділянок пояснюється нерозходженням дочірніх хроматид, в наслідок чого хромомерним малюнок, стає вираженими більш контрастно.

По суті, політенні хромосоми являють собою пару гігантських гомологічних хромосом, які знаходяться в стані ідеально точної соматичної кон'югації. При цьому диски та міждисккові ділянки гомологів розташовані суворо паралельно і тісно зближені. Така кон'югація не характерна для переважної більшості соматичних клітин

У політенних хромосомах процес транскрипції супроводжується формуванням так званих *пуфів* – характерних здуттів певних дисків, які утворюються в результаті локальної декомпактизації в них ДНК (рис. 4). Великі пуфи називаються *кільцями Бальбіані* (у деяких джерелах терміни «пуф» і «кільця Бальбіані» вживають як синонімічні).



**Рис. 4. Схема будови пуфів політенних хромосом**

Оскільки політенні хромосоми містять велику кількість копій генів, що посилює їх експресію, то це, у свою чергу, збільшує виробництво необхідних спеціалізованій клітині білків.

Іншим відомим прикладом диференціальної експресії генів є формування хромосом типу лампових щіток.

*Хромосоми типу лампових щіток* – це спеціальна форма хромосом, яку вони набувають у зростаючих ооцитах (жіночих статевих клітинах) більшості тварин, за винятком ссавців (рис. 5). Найбільш докладно описана організація хромосом типу лампових щіток хвостатих і безхвостих амфібій, domestikованих видів птахів і деяких видів комах.



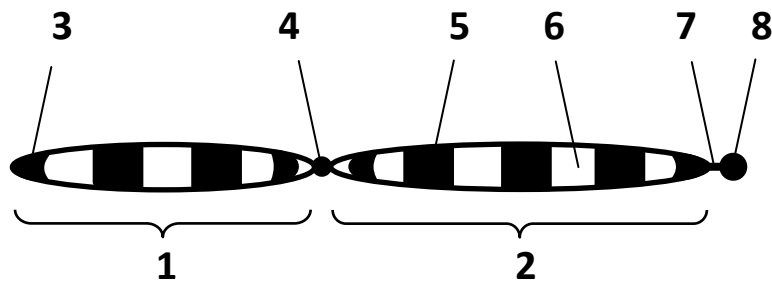
**Рис. 5. Хромосоми типу лампових щіток**

Під час затяжної стадії диплотени профазі I мейозу (див. нижче) активна транскрипція багатьох послідовностей ДНК призводить до того що з парних хромосом виходять латеральні петлі, які і містять транскрипційно активний хроматин. У зв'язку із чим хромосоми типу лампових щіток виробляють величезну кількість РНК, синтезованої

на таких петлях. Кожна латеральна петля завжди містить одну і ту ж послідовність ДНК і залишається у витягнутому стані протягом всього росту ооциту, аж до початку конденсації хромосом. Разом з тим, велика частина ДНК залишається в конденсованому стані і організована в хромомери.

### Завдання:

1. *Випишіть і вивчіть усі виділені курсивом терміни.*
2. *Замалюйте хроматиду і підпишіть її ділянки:*



3. *Замалюйте і підпишіть види супутників хромосом:*



4. *Перерахуйте і опишіть основні функції хромосом.*

### Питання для самоперевірки:

1. Що таке хромосома і хроматида?
2. Які частини хромосоми Ви знаєте та яке їх значення?
3. Що таке супутники, які вони бувають?

4. Що таке політенні хромосоми та як вони виникають?
5. Охарактеризуйте хромосоми типу лампових щіток?



### Практична робота № 3

**Тема:** Каріотип та морфометричний аналіз хромосом.

**Мета:** Вивчити поняття каріотипу та його особливостей, розглянути принципи класифікації хромосом та засвоїти методику їх морфометричного аналізу.

Набір всіх хромосом клітини, що називається *каріотипом*, є константною видоспецифічною ознакою. Число хромосом у різних видів може суттєво коливатись.

Хромосоми тварин і рослин являють собою паличкоподібні структури різної довжини з досить постійною товщиною, у більшій частині хромосом вдається легко знайти зону первинної перетяжки, яка ділить хромосому на два плеча.

Наприкінці інтерфази кожна хромосома складається з двох сестринських хроматид. Кожна з них містить ущільнені ділянки – *хромери*, які в світловому мікроскопі мають вигляд темнозбарвлених гранул. Їх кількість, положення і величина в обох хроматидах однакові і для кожної хромосоми відносно постійні. Відстані між хромерами називаються *міжхромерними ділянками*.

Парні хромосоми, які є однаковими за формою, розміром і спадковими задатками є *гомологічними*, решта – *негомологічні*. При порівнянні хромосомних наборів чоловічих та жіночих осіб одного виду спостерігається відмінність в одній парі хромосом. Ця пара отримала назву *статевих хромосом*, або *гоносом*. Решта пар гомологічних пар хромосом, однакових в обох статей, мають загальну назву *аутосоми*.

Нормальна довжина кожної хромосоми і сумарна довжина всіх хромосом каріотипу постійна. Морфологія хромосом визначається в першу чергу положенням центромери. Залежно від розташування центромери виділяють три типи хромосом:

- *метацентричні хромосоми*, у яких центромера розташована посередині або майже посередині;
- *субметацентричні хромосоми* з плечима нерівної довжини;

- *акроцентричні хромосоми*, у яких центромера знаходиться практично на кінці, і друге плече настільки мале, що його може бути не видно на цитологічних препаратах.

Цю класифікацію хромосом на основі співвідношення довжин плечей запропонував у 1912 році російський ботанік і цитолог С.Г.Навашин (1857-1930). Крім вищевказаних трьох типів С.Г.Навашин виділяв ще й *телоцентричні хромосоми*, тобто хромосоми тільки з одним плечем. Однак за сучасними уявленнями істинно телоцентричних хромосом не буває. Друге плече, нехай навіть дуже коротке і невидиме у звичайний мікроскоп, завжди присутнє.

У деяких організмів центромера дифузно розташована вздовж хромосоми і тому їх називають «*дифузні*» або *ацентричні*.

Характеристика хромосом за морфологію здійснюється за наступними ознаками: довжина плечей, положення центромери, наявність вторинної перетяжки або супутника. Супутники різних хромосом відрізняються за формою, величиною (див. вище) і довжиною нитки, яка з'єднує їх з основним тілом хромосоми.

Алгоритм цитогенетичного дослідження каріотипу і подальшого морфометричного аналізу хромосом складається з таких етапів:

- 1) Виготовлення препаратів хромосом;
- 2) Фарбування та фіксація хромосом;
- 3) Розгляд препаратів під мікроскопом;
- 4) Фотографування метафазних пластинок;
- 5) Визначення лінійних характеристик хромосом та їх класифікація.

Під мікроскопом на виготовлених препаратах вибирають найбільш чітко видимі метафазні пластинки та їх фотографують. Вивчення лінійних характеристик хромосом проводять на мікрофотографії та їх копіях за такими параметрами:

1. Індекс спіралізації:

$$I^s = \frac{\text{загальна довжина двох коротких хромосом}}{\text{загальна довжина двох довгих хромосом}} ;$$

2. Абсолютна довжина кожної хромосоми, мкм:

$$L^a = \frac{\text{довжина хромосоми на світлинi}}{\text{кратнiсть збiльшення мiкроскопу}} ;$$

3. Вiдносна довжина кожної хромосоми, %:

$$L^r = \frac{\text{довжина конкретної хромосоми}}{\text{довжина всiх хромосом геному}} \cdot 100\% ;$$

4. Плечовий iндекс:

$$I^b = \frac{\text{довжина довгого плеча}}{\text{довжина короткого плеча}} ;$$

5. Центромiрний iндекс, %:

$$I^c = \frac{\text{довжина короткого плеча}}{\text{довжина всiєї хромосоми}} \cdot 100\% ;$$

6. Основне число:

$NF$  – кiлькiсть плечей аутосом та двох Х-хромосом.

Слiд зазначити, що для дослiдження придатнi метафазнi пластинки iз однаковим  $I^s$ . Окрiм того враховуючи величину плечового iндексу хромосоми вiдносять до одного iз вищевказаних морфометричних типiв:

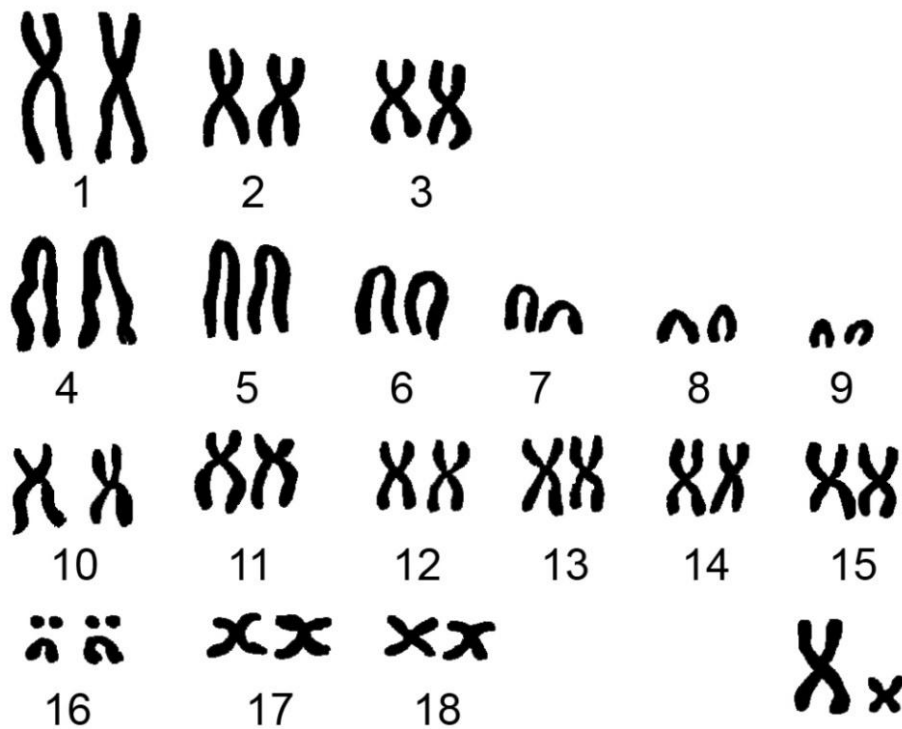
- а)  $I^b = 1,0-1,9 \rightarrow$  метацентричнi;
- б)  $I^b = 2,0-4,9 \rightarrow$  субметацентричнi;
- в)  $I^b > 5,0 \rightarrow$  акроцентричнi.

### Завдання:

1. *Впишить i вивчить усi видiленi курсивом термiни.*
2. *Знайдить i вивчить набiр хромосом у карiотипi великої рогатої худоби, овець, кiз, свиней, коней, вiслюкiв, кролiв, собак, котiв, курей, перепiлок, качок i гусей.*
3. *Проведiть морфометричний аналіз хромосом домашньої свинi (рис. 6). Результати розрахункiв занесiть до нищенаведеної таблиці:*

№ з/п	Абсолютна довжина			$L^r, \%$	$I^b$	$I^c, \%$	Тип хромосоми
	$q, \text{ мм}$	$p, \text{ мм}$	$L, \text{ мм}$				

1.							
2.							



*Рис. 6. Каріотип свині домашньої*

**Питання для самоперевірки:**

1. Що є каріотипом?
2. Яка різниця між аутосомами та гоносомами?
3. Як класифікують хромосоми залежно від розташування центромери?
4. Який існує алгоритм цитогенетичного дослідження каріотипу?
5. Які формули використовують для морфометричного аналізу хромосом?

## Практична робота № 4

**Тема:** Хромосомна теорія спадковості. Генетичні карти хромосом.

**Мета:** Вивчити положення хромосомної теорії спадковості та навчитись на основі частот кросинговеру будувати генетичні карти хромосом.

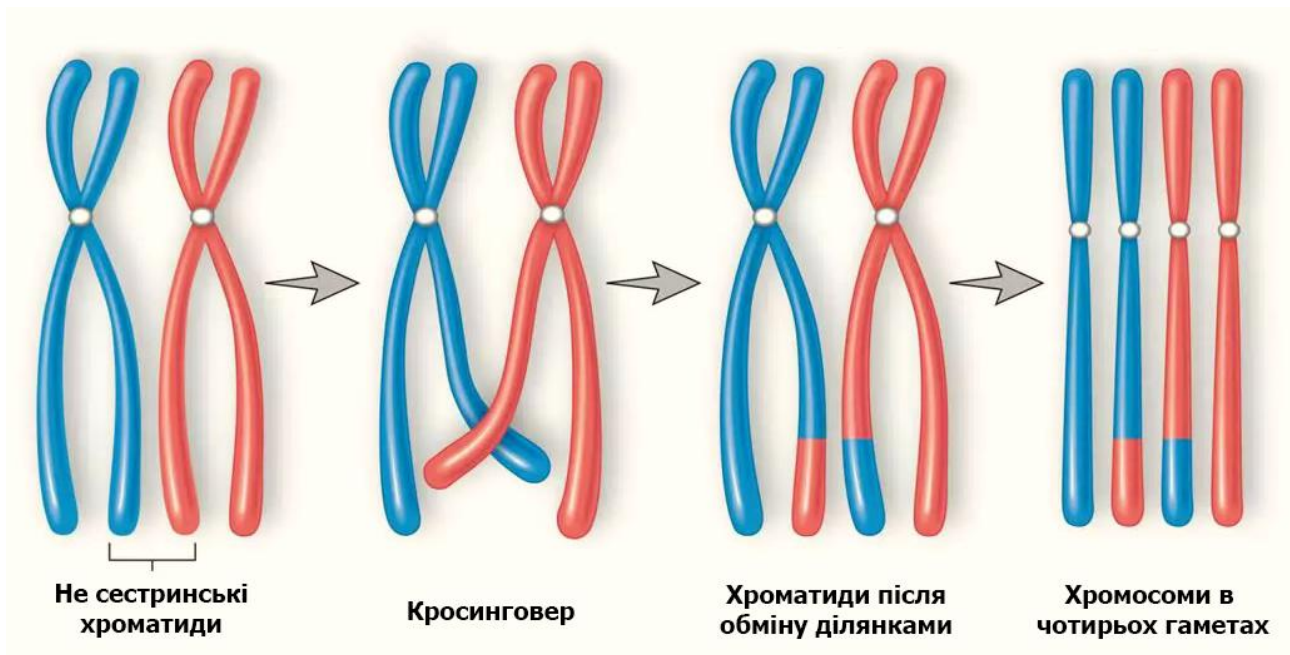
Хромосомна теорія спадковості сформульована у 1911-1926 рр. Т.Х.Морганом (1866-1945) та його учнями. За її допомогою з'ясовано матеріальну основу законів спадковості, встановлених Г.Менделем (1822-1884), і те, чому в певних випадках успадкування тих чи інших ознак від них відхиляється. Основні *положення хромосомної теорії спадковості* такі:

- гени розташовані в хромосомах у лінійному порядку;
- кожен ген займає в хромосомі певну ділянку – локус; алельні гени займають у гомологічних хромосомах однакові ділянки;
- різні хромосоми мають неоднакові набори генів, тобто кожна з негомологічних хромосом має свій унікальний набір генів;
- усі гени однієї хромосоми утворюють групу зчеплення, завдяки чому деякі ознаки успадковуються зчеплено; кількість груп зчеплення відповідає гаплоїдному набору хромосом виду;
- сила зчеплення між двома генами, розташованими в одній хромосомі, обернено пропорційна відстані між ними;
- зчеплення між генами однієї групи порушується внаслідок обміну ділянками гомологічних хромосом (процес кросинговеру) у профазі першого мейотичного поділу.

Хромосомна теорія спадковості – це теорія, згідно з якою хромосоми, укладені в ядрі клітини, є носіями генів і є матеріальною основою спадковості, тобто спадкоємність властивостей організмів у ряді поколінь визначається спадкоємністю їх хромосом.

**Кросинговер** (від англ. *crossing over* – перехрест) – це взаємний обмін ділянками між гомологічними хромосомами, що відбувається в результаті розриву й з'єднання в новому порядку їх ниток – хроматид (рис. 7). Результатом кросинговеру є обмін генетичною інформацією, відомий як *гомологічна рекомбінація*. Тобто, кросинговер – один з

механізмів, який забезпечує комбінативну мінливість, а отже, один з головних факторів еволюції.



*Рис. 6. Схематичне зображення механізму кросинговера*

У 1933 німецький учений К.Штерн цитологічно довів можливість кросинговеру при обміні генами між хромосомами. Перехрест відбувається в профазі першого поділу статевих клітин, коли їх хромосоми представлені чотирма нитками. У місці перехрещення вдається цитологічно виявити характерну фігуру перехрещених хромосом – хіазм. Результат кросинговеру можна виявити за новим поєднанням зчеплених генів.

Кросинговер – це складний фізіолого-біохімічний процес, який знаходиться під генетичним контролем клітини і схильний до впливу факторів зовнішнього середовища. Тому в реальному експерименті щодо визначення частоти кросинговеру необхідно враховувати всі ті умови, в яких вона була визначена.

Частота виникнення кросинговеру та правило адитивності дозволили виявляти локалізацію генів на хромосомах і відстань між ними. Генетичну відстань, на якій кросинговер виникає з частотою 1% визначають як **1 сМ (сантіморгана)** чи **1 М (морганіда)** на честь Т.Х.Моргана.

Для того щоб визначити частоту кросинговеру, а, відповідно, і відстань між генами, слід провести схрещування дигетерозиготних

особин з рецесивними дигомозиготами. При цьому досліджувані гени повинні міститись в одній парі гомологічних хромосом. Далі на основі розщеплення серед нащадків можна встановити частоту кросинговеру через співвідношення кількості кросоверних особин до загальної кількості нащадків:

$$P^{co} = \frac{\text{кількість кросоверних нащадків}}{\text{загальна кількість нащадків}} \cdot 100\%$$

Наприклад, у кролів гени, які обумовлюють забарвлення хутра і жиру містяться в I парі хромосом. Так, алель  $C^{ch}$  визначає колір шиншила, а рецесивний аналог  $c$  – альбінізм. Тим часом, алель  $Y$  обумовлює білий колір жиру, а  $y$  – жовтий жир. При схрещуванні дигетерозигот  $\left(\frac{C^{ch}Y}{|c\ y|}\right)$  і рецесивних дигомозигот  $\left(\frac{|c\ y|}{|c\ y|}\right)$  в першому поколінні чисельністю 119 кроленят відбулось наступне розщеплення за фенотипом:

- шиншилові з біли жиром – 49 гол.;
- альбіноси з жовтим жиром – 52 гол.;
- шиншилові з жовтим жиром – 10 гол.;
- альбіноси з білим жиром – 8 гол.

Таким чином, частота кросинговеру (генетична відстань) між досліджуваними генами буде дорівнювати:

$$P^{co} = \frac{8 + 10}{119} \cdot 100 = 15,1\%, \text{ або } 15,1 \text{ М.}$$

Частота кросинговеру оберненопропорційно залежить від лінійної відстані між генами. Чим ближче гени розташовані на хромосомі тим рідше між ними відбувається кросинговер.

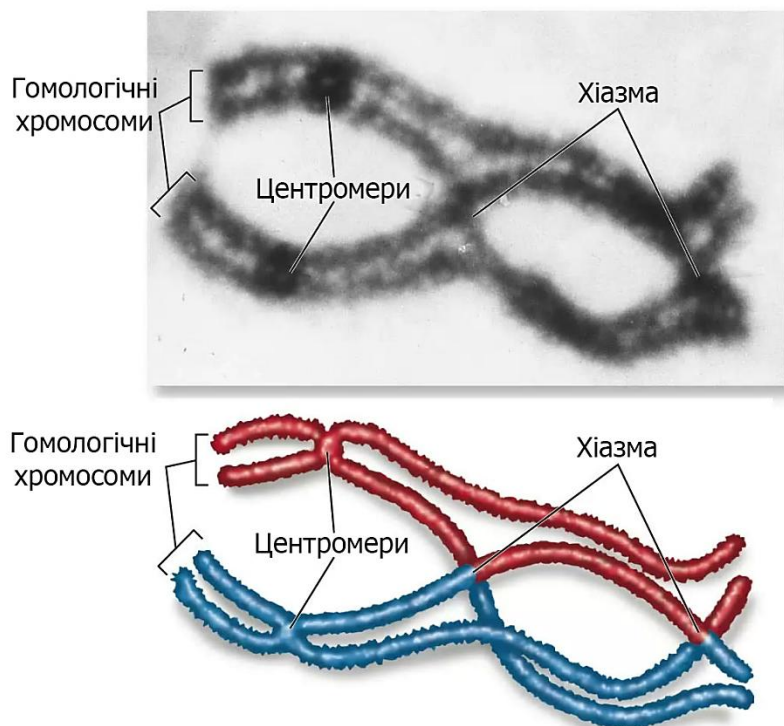
Явище кросинговеру дозволило довести лінійне розміщення генів у хромосомі і розробити метод встановлення їх взаємного розташування – **складання карт хромосом**.

Складання карт хромосом починається зі встановлення групи зчеплення, тобто визначення локалізації груп зчеплення генів у конкретній парі гомологічних хромосом. Потім визначають послідовність розташування генів на хромосомі і відстань між ними.

Для проведення хромосомного картування необхідно три і більше зчеплених неалельних гени. При цьому частота кросинговеру між

крайніми генами дорівнює сумі величин відсотку кросинговеру проміжних генів.

Кросинговер може відбуватись не тільки в одній точці, а й у двох чи декількох одночасно (рис. 7).



**Рис. 7. Фотознімок (зверху) і схема (знизу) подвійного перехресту**

При визначенні величини кросинговеру у тригетерозигот необхідно враховувати й частоту подвійних перехрещень поряд з одинарними.

У разі, якщо на ділянці між двома генами відбувається відразу подвійний або множинний обмін, частота перекомбінації цих генів зменшується. Явище зменшення фактичної кількості подвійних перехрещень за рахунок пригнічення одного кросинговеру виникненням іншого в тому ж біваленті називається *хромосомною* або *хіазменною інтерференцією*. Її величину за пропозицією Г.Мюллера оцінюють за допомогою *коефіцієнту коінцидентції* (від англ. *to coincide* – співпадати):

$$C = \frac{\text{практично одержані множинні обміни (\%)}}{\text{теоретично очікувані множинні обміни (\%)}};$$

Якщо  $C < 1$ , то інтерференція є позитивною, тобто одинарний обмін блокує обміни на сусідніх ділянках хромосом. Якщо  $C > 1$ , то



інтерференція є негативною, а, відповідно, чисельні обміни підсилюються.

Розглянемо на прикладі процедуру визначення порядку розміщення і відстані між трьома генами в одній парі гомологічних хромосом.

Генетичним аналізом встановлено, що у курей домінантні гени подвійного гребня ( $D$ ), множинних шпор ( $M$ ) й полідактилії ( $P$ ) локалізовані в четвертій хромосомі. Природно, що рецесивні прояви цих генів: нормальний гребінь ( $d$ ), нормальні шпори ( $m$ ) та нормальна кількість фалангів ( $p$ ) також зчеплені. При схрещуванні тригетерозиготних курей з тригомозиготними рецесивними півнями отримано 688 курчат з наступним розщепленням за фенотипом:

Фенотип курчат	Фенотиповий радикал	Кількість
Подвійний гребінь, множинні шпори, полідактилія	<u><math>DMP</math></u>	141
Нормальний гребінь, нормальні шпори, нормальна кількість фалангів	<u><math>dmp</math></u>	137
Подвійний гребінь, нормальні шпори, нормальна кількість фалангів	<u><math>Dmp</math></u>	88
Нормальний гребінь, множинні шпори, полідактилія	<u><math>dMP</math></u>	91
Подвійний гребінь, множинні шпори, нормальна кількість фалангів	<u><math>DMp</math></u>	106
Нормальний гребінь, нормальні шпори, полідактилія	<u><math>dmP</math></u>	111
Подвійний гребінь, нормальні шпори, полідактилія	<u><math>DmP</math></u>	8
Нормальний гребінь, множинні шпори, нормальна кількість фалангів	<u><math>dMp</math></u>	6

При такому схрещуванні якби гени були не зчеплені, то шляхом їх вільного комбінування чисельність у класах нащадків була б приблизно однаковою.

Аналізуючи результати розщеплення необхідно визначити частоту кросинговеру (відстань) між генами, а потім і порядок їх розташування. Подвійні перехрести слід також враховувати при визначенні відсотку кросинговеру.

Так, для оцінки частоти кросинговеру між генами  $D$  і  $M$  слід чисельність нащадків з даними кросоверними хромосомами ( $Dmp$ ,  $dMP$ ,  $DmP$ ,  $dMp$ ) віднести до загальної кількості нащадків:

$$P^{co} = \frac{88 + 91 + 8 + 6}{688} \cdot 100\% = 28,05\% = 28,05M.$$

Для визначення відстані між генами  $M$  і  $P$  використовується аналогічний підхід:

$$P^{co} = \frac{106 + 111 + 8 + 6}{688} \cdot 100\% = 33,58\% = 33,58M.$$

Спрощена оцінка загальної відстані між генами  $D$  і  $P$  визначається додаванням попередньо розрахованих дистанцій між генами  $D$  і  $M$  та  $M$  і  $P$ :  $28,05M + 33,58M = 61,63M$ .

Відстань між генами  $D$  і  $P$  також можна визначити через відношення всіх кросоверних нащадків до їх загальної кількості:

$$P^{co} = \frac{88 + 91 + 106 + 111 + 8 + 6}{688} \cdot 100\% = 59,59\% = 59,59M.$$

Помітна незначна невідповідність між результатами двох вищеподаних підходів. Вона пояснюється інтерференцією подвійних кросинговерів. Для чисельного виразу інтерференції через коефіцієнт коінциденції спочатку необхідно встановити фактичну і теоретичну частоту подвійних кросинговерів. Першу визначимо стандартним співвідношенням:

$$P_{\phi}^{co} = \frac{8 + 6}{688} \cdot 100\% = 2,04\%.$$

Теоретична частка подвійних кросинговерів визначається через добуток частот одинарних перехрестів і виражається у відсотках:

$$P_T^{co} = 0,2805 \cdot 0,3358 \cdot 100\% = 9,42\%.$$

Таким чином коефіцієнт коінциденції дорівнює:

$$C = \frac{2,04\%}{9,42\%} = 21,66\%.$$

Таким чином, дослідження Т.Моргана і його учнів дозволяють на основі частот кросинговеру розташувати гени в такому порядку, в якому вони дійсно розміщені, тобто скласти хромосомні карти.

Окрім мейотичного кросинговеру був відкритий і мітотичний, який представляє собою тип генетичної рекомбінації, що може

проходити в соматичних клітинах при мітотичних поділах як у організмів, що розмножуються статеві, так і безстатевих організмів (наприклад, деяких одноклітинних грибів, у яких не відомий статевий процес). У випадку безстатевих організмів мітотична рекомбінація є єдиним ключем до розуміння зчеплення генів, оскільки у таких організмів це – єдиний спосіб генетичної рекомбінації. Крім того, мітотична рекомбінація може призвести до мозаїчної експресії рецесивних ознак у гетерозиготної особини. Така експресія має важливе значення в онкогенезі, вона також дозволяє вивчати летальні рецесивні мутації.

**Еволюційне значення кросинговеру.** Кросинговер має велике значення для еволюції, оскільки непомірно збільшує можливості комбінаційної мінливості. Внаслідок перехресту відбір у процесі еволюції йде не за цілими групами зчеплення, а за групами генів і навіть окремим генам. Адже в одній групі зчеплення можуть знаходитися гени, які кодують поряд з адаптивними (пристосувальними) і неадаптивні стани ознак. У результаті кросинговеру корисні для організму ознаки можуть бути відокремлені від шкідливих і, отже, виникнуть більш вигідні комбінації – адаптивні.

### **Завдання:**

- 1. Випишіть і вивчіть положення хромосомної теорії спадковості й усі виділені курсивом терміни.*
- 2. У курей коротконогість ( $Cp$ ) домінує над нормальними ногами ( $cp$ ), а трояндоподібний гребінь ( $R$ ) над простим ( $r$ ). Від рецесивних гомозиготних курей і дигетерозиготних півнів отримано нащадків:*
  - коротконогих з простим гребенем – 112;*
  - з нормальними ногами і трояндоподібним гребенем – 118;*
  - коротконогих з трояндоподібним гребенем – 9;*
  - з нормальними ногами і простим гребенем – 11.**Визначити відстань між досліджуваними генами на хромосомі.*
- 3. Гени ABCDEF розташовані на хромосомі у вказаному порядку.*

Відстань між генами AC становить 24M, AE – 57M, BE – 49M, CF – 42, DF – 35. Знайдіть відстані між сусідніми генами.

4. Проведіть генетичний аналіз результатів двох аналізуючих схрещувань тригетерозигот з визначенням коефіцієнтів коінциденції.

Фенотипові радикали	Схрещування № 1	Схрещування № 2
<u>ABC</u>	150	255
<u>abc</u>	143	266
<u>Abc</u>	37	124
<u>aBC</u>	42	136
<u>ABc</u>	70	128
<u>abC</u>	65	140
<u>AbC</u>	8	20
<u>aBc</u>	6	28

#### Питання для самоперевірки:

1. Охарактеризуйте положення хромосомної теорії спадковості?
2. Що таке кросинговер? Поясніть його механізм.
3. Що таке інтерференція та як вона вимірюється?
4. Яка особливість мітотичного кросинговеру?
5. У чому полягає еволюційне значення кросинговеру.

## Практична робота № 5

**Тема:** Клітинний цикл і його генетичний контроль.

**Мета:** Розглянути та вивчити етапи життєвого циклу клітини та засвоїти механізми його генетичного регулювання.

*Клітинний цикл* – це період існування клітини від моменту її утворення шляхом поділу материнської клітини до власного поділу або загибелі.

Тривалість клітинного циклу у різних клітин варіюється. Швидко розмножуються клітини дорослих організмів, такі як кровотворні або базальні клітини епідермісу і тонкої кишки. Вони можуть входити в клітинний цикл кожні 12-36 ч. Короткі клітинні цикли (близько 30 хв.) спостерігаються при швидкому дробленні яєць голкошкірих, земноводних та інших тварин. В експериментальних умовах короткий клітинний цикл (близько 20 год) мають багато лінії клітинних культур. У більшості активно діляться клітин тривалість періоду між мітозами становить приблизно 10-24 ч.

Поділ всіх еукаріотичних клітин пов'язаний з формуванням спеціального *апарату клітинного поділу*. Активну роль при мітотичному діленні клітин найчастіше відіграють цитоскелетні структури. Універсальним як для тваринних, так і для рослинних клітин є двополюсне *мітотичне веретено*, яке складається з мікротрубочок і пов'язаних з ними білків. Веретено поділу забезпечує суворо однаковий розподіл хромосом між полюсами поділу, біля яких у телофазі утворюються ядра дочірніх клітин.

Ще одна не менш важлива структура цитоскелету відповідає за поділ цитоплазми – *цитокінез* і, як наслідок, за розподіл клітинних органел. У тваринних клітинах за цитокінез відповідає скоротливі кільця з актинових і міозинових філаментів. У більшості клітин вищих рослин через наявність жорсткої клітинної стінки цитокінез протікає з утворенням клітинної пластинки в площині між двома дочірніми клітинами. При цьому область утворення нової клітинної перегородки визначається заздалегідь предпрофазним пояском з актинових мікрофіламентів.

Клітинний цикл еукаріот складається з двох періодів (рис. 8):

- 1) Період клітинного росту, який називається «інтерфаза», під час якого йде синтез ДНК і білків та здійснюється підготовка до поділу клітини.
- 2) Періоду клітинного поділу, який називається «мітоз» (фаза «М»).

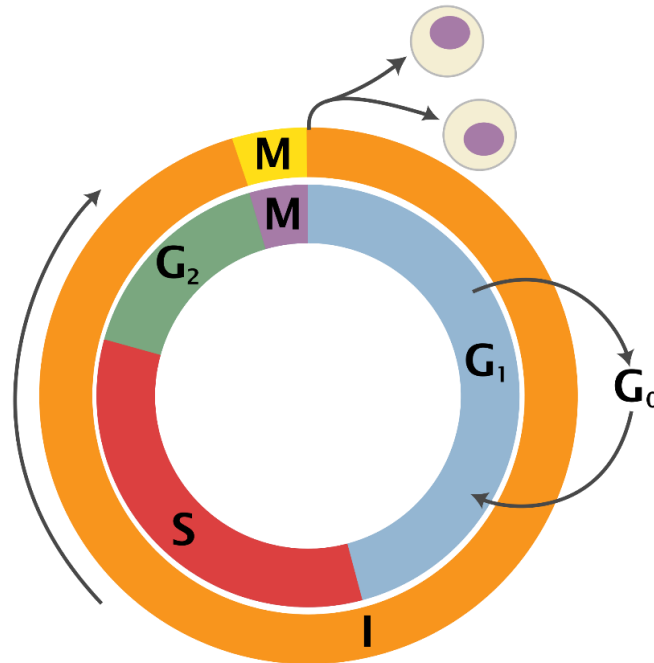


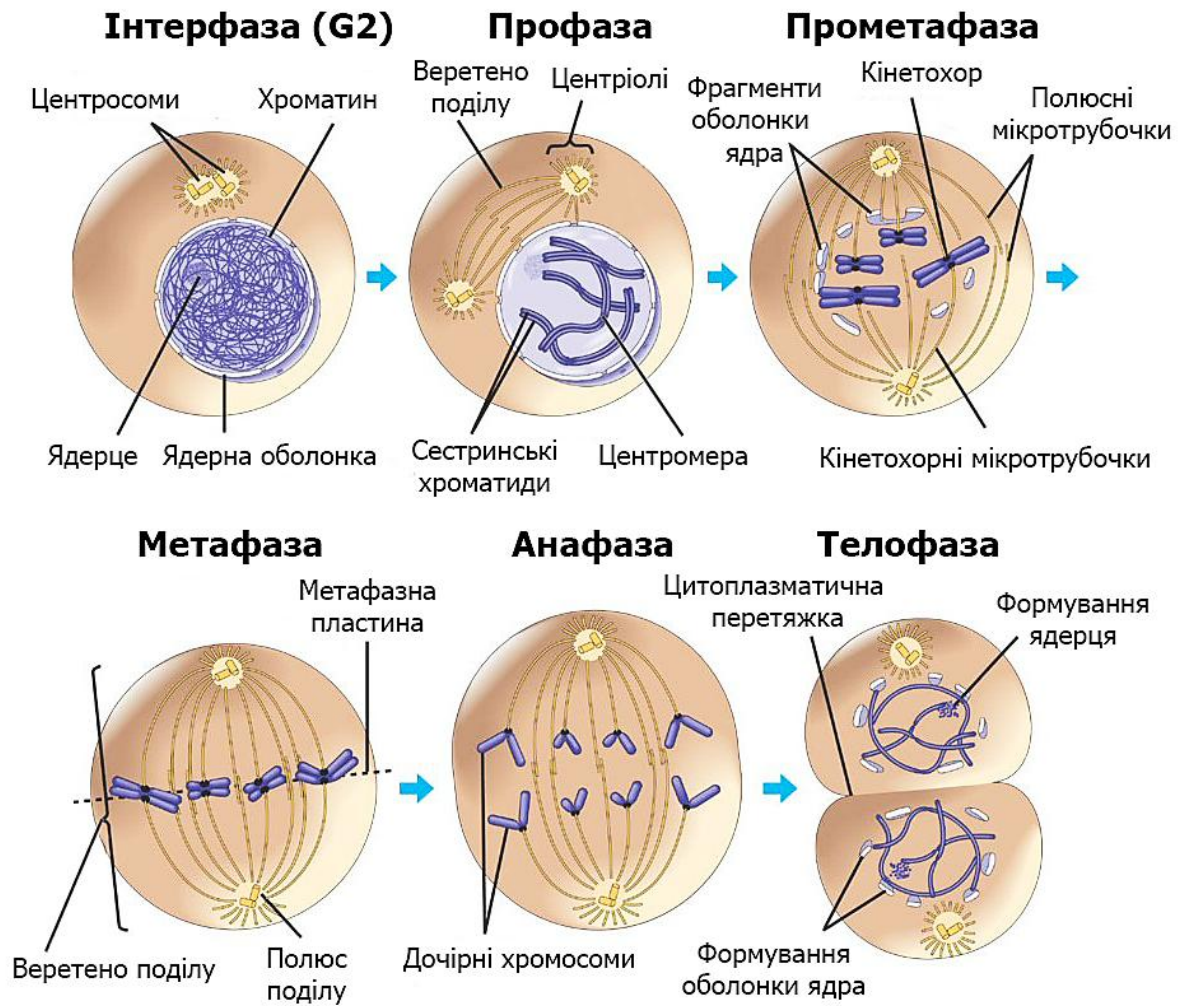
Рис. 8. Клітинний цикл (I – інтерфаза; М – мітоз.)

Інтерфаза складається з декількох періодів:

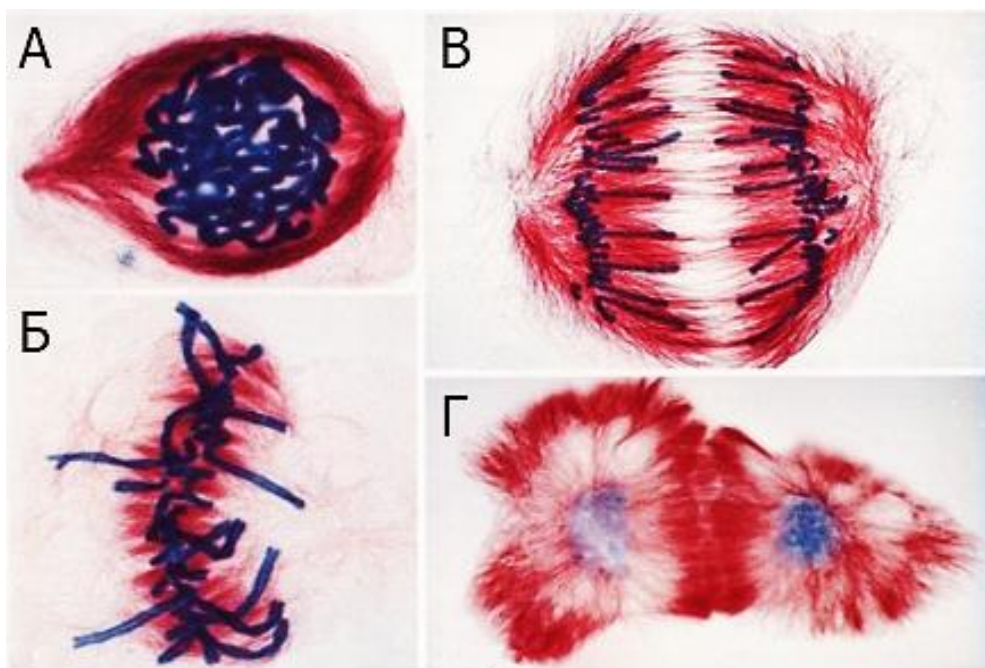
- *G1-фази* (від англ. *Gap* – проміжок), або фази початкового росту, під час якої йде синтез мРНК, білків, інших клітинних компонентів;
- *S-фази* (від англ. *Synthesis* – синтез), під час якої йде реплікація ДНК клітинного ядра, також відбувається подвоєння центріолей (якщо вони, звичайно, є).
- *G2-фази*, під час якої йде підготовка до мітозу.

У диференційованих клітин, які більш не діляться, в клітинному циклі може бути відсутнім *G1-фаза*. Такі клітини знаходяться у фазі спокою *G0*.

Період клітинного поділу (фаза М) умовно поділяється на два періоди: *каріокінез* (поділ клітинного ядра) і *цитокінез* (поділ цитоплазми). Під час перебігу мітозу виділяють п'ять стадій: профаза, прометафаза, метафаза, анафаза і телофаза (рис. 9, 10).



*Рис. 9. Фази мітозу*



*Рис. 10. Фотознімки фаз мітозу*  
 (А – профаза; Б – метафаза; В – анафаза; Г – телофаза.)

**Профаза.** До основних подій профазі відносять конденсацію хромосом усередині ядра і утворення веретена поділу в цитоплазмі клітини. Розпад ядерця в профазі є характерною, але не обов'язковою для всіх клітин особливістю.

Умовно початком профазі вважається момент виникнення мікроскопічно видимих хромосом внаслідок конденсації внутрішньоядерної хроматину. Ущільнення хромосом відбувається за рахунок багаторівневої спіралізації ДНК (див. вище). Ці зміни супроводжуються підвищенням активності фосфорилаз, які модифікують гістони, що безпосередньо беруть участь у компактизації ДНК. Як наслідок, різко знижується транскрипційна активність хроматину, інактивуються ядерцеві гени, велика частина ядерцевих білків дисоціює. Сестринські хроматиди в ранній профазі залишаються спареними по всій своїй довжині за допомогою білків – *когезинів*, однак до початку прометафази зв'язок між хроматидами зберігається лише поблизу центромер. До пізньої профазі на кожній центромері сестринських хроматид формуються зрілий кінетохор необхідний хромосомам для приєднання до мікротрубочок веретена поділу в прометафазі.

Поряд з процесами внутрішньоядерної конденсації хромосом в цитоплазмі починає формуватися *мітотичне веретено* – одна з головних структур апарату клітинного поділу, відповідальна за розподіл хромосом між дочірніми клітинами. В утворенні веретена поділу всіх еукаріотичних клітин беруть участь полярні тільця (центросоми), мікротрубочки і кінетохор хромосом.

**Прометафаза.** Початок прометафази, як правило, відзначається деградацією ядерної мембрани, яка фрагментується на дрібні вакуолі. Після руйнування ядерної мембрани хромосоми без особливого порядку розташовуються в області ядра. Однак незабаром спостерігається інтенсивне, але хаотичне переміщення хромосом. Спочатку окремі хромосоми стрімко дрейфують до найближчого полюсу мітотичного веретена, поблизу якого підвищується ймовірність взаємодії новосинтезованих мікротрубочок веретена з кінетохором хромосом. У результаті цього кінетохорні



мікротрубочки стабілізуються, а їх зростання частково забезпечує віддалення з'єднаної з ними хромосоми від полюса до екваторіальної площини веретена. З іншого боку до хромосоми приєднуються тяжі мікротрубочок протилежного полюса мітотичного веретена. Взаємодіючи з кінетохором, вони також беруть участь у русі хромосоми. У підсумку сестринські хроматиди виявляються пов'язаними з протилежними полюсами веретена і поступово розташовуються в площині метафазної пластинки.

**Метафаза.** По завершенні прометафази хромосоми розташовуються в екваторіальній площині веретена (а не всієї клітини) приблизно на рівній відстані від обох полюсів поділу, утворюючи *метафазну (екваторіальну) пластинку*. Морфологія метафазної пластинки в клітинах тварин, як правило, відрізняється впорядкованим розташуванням хромосом: центромерні ділянки спрямовані до центру веретена, а плечі – до периферії клітини (фігура «материнської зірки»).

Метафаза займає значну частину мітозу, і відрізняється відносно стабільним станом. Весь цей час хромосоми утримуються в екваторіальній площині веретена за рахунок збалансованих сил розтягнення кінетохорних мікротрубочок, здійснюючи коливальні рухи з незначною амплітудою в площині метафазної пластинки.

До закінчення метафази спостерігається чітко відокремлення сестринських хроматид, з'єднання між якими зберігається лише в центромерних ділянках. Плечі хроматид розташовуються паралельно одне одному, і стає чітко помітною щілина між ними.

**Анафаза** – найкоротша стадія мітозу, яка починається раптовим поділом і подальшим розходженням сестринських хроматид в напрямку протилежних полюсів клітини.

Як правило, розходження хромосом в анафазі складається з двох відносно незалежних процесів: *анафаза А* і *анафаза В*.

**Анафаза А** характеризується розходженням сестринських хроматид до протилежних полюсів поділу клітини. Процес розходження хроматид супроводжується скороченням довжини (внаслідок деполімеризації) кінетохорних мікротрубочок. Під час

анафази В розходяться власне полюса поділу клітини, за рахунок полімеризації полюсних мікротрубочок та їх перекривання в екваторіальній зоні клітини.

**Телофаза** розглядається як заключна стадія мітозу. Її початком вважається момент зупинки розділених сестринських хроматид біля протилежних полюсів поділу клітини. У ранній телофазі спостерігається деконденсація хромосом і, отже, збільшення їх в об'ємі. Поблизу згрупованих індивідуальних хромосом починається злиття мембранних бульбашок, що дає початок реконструкції ядерної оболонки. Матеріалом для побудови мембран новоутворених дочірніх ядер слугують фрагменти ядерної мембрани материнської клітини, а також елементи ендоплазматичного ретикулуму. При цьому окремі бульбашки зв'язуються з поверхнею хромосом і зливаються воедино. Поступово відновлюється зовнішня і внутрішня ядерні мембрани і ядерні пори. Паралельно з процесами утворення ядер дочірніх клітин у телофазі починається і закінчується руйнування мікротрубочок веретена поділу.

Закінчення телофазі переважно збігається з поділом тіла материнської клітки – *цитокінезом* (*цитотомією*). При цьому утворюються дві дочірні клітини. Процеси, що ведуть до поділу цитоплазми, беруть свій початок ще в середині анафази і можуть продовжуватися після завершення телофазі. Мітоз не завжди супроводжується поділом цитоплазми, тому цитокінез не класифікують у якості окремої фази мітотичного поділу і зазвичай розглядають у складі телофазі.

**Генетичний контроль життєвого циклу клітини.** Клітинний цикл регулюється як внутрішньоклітинними, так і позаклітинними чинниками. Генетичний контроль циклу забезпечується сімейством генів, які позначаються як гени клітинного поділу – *cdc* (від англ. *cell division control*). Їх продуктами є *цикліни* і *циклін-залежні кінази* (від англ. *cyclins and cyclin-dependent kinases – CDKs*). Цикліни формують регуляторну частину, а кінази – каталітичну частину активованого гетеродимерного комплексу. Цикліни не мають ферментативної активності самі по собі, тоді як циклін-залежні кінази не можуть бути

активними без взаємодії з циклінами. Циклін-залежні кінази у стані гетеродимеру з циклінами каталізують звичайну біохімічну реакцію – фосфорилування. Зазвичай, залишок фосфорної кислоти відщеплюється від молекули АТФ (гамма-фосфат у цьому випадку) і переноситься на білок-мішень, що призводить до активації чи дезактивації цієї мішені. Завдяки цьому стає можливим перехід клітини до наступної фази клітинного циклу.

Більшість генів, що кодують цикліни і циклін-залежні кінази, є консервативними у всіх еукаріотів. Проте, як правило, у складнішого організму і система регуляції клітинного циклу є складнішою.

Після одержання про-мітотичного сигналу ззовні (екстраклітинний сигнал) *G1* комплекс циклін / циклін-залежна кіназа активується і готує клітину до *S*-фази, забезпечуючи експресію транскрипційних факторів, які, у свою чергу, забезпечують експресію циклінів *S*-фази і білків, необхідних для реплікації ДНК. *G1* комплекс циклін / циклін-залежна кіназа також забезпечує деградацію білків-інгібіторів переходу до *S*-фази шляхом убіквітинізації. Білки, після приєднання до них молекул убіквітину, стають мішенню для *протеосоми* – комплексу білків, який забезпечує протеолітичну деградацію, або протеоліз. Активованій комплекс циклін / циклін-залежна кіназа також фосфорилує білки, з яких складається пре-реплікаційний комплекс *G1*-фази на *сайтах початку реплікації*, тобто на тих місцях ДНК, з яких, власне, і починається процес реплікації. Метою фосфорилування є по-перше – перетворення неактивного пре-реплікаційного комплексу на активний, і по-друге – запобігання формуванню нових пре-реплікаційних комплексів. Завдяки цьому кожна частина геному клітини буде реплікована один і тільки один раз. Останнє є дуже важливим для наступних поколінь клітин. Зазвичай, дочірні клітини, у яких не буде частини геному гинуть. Але й мутації, викликані більш ніж одним поділом якоїсь частини геному, скоріше, будуть шкідливими.

Мітотичні комплекси циклін / циклін-залежна кіназа, які були синтезовані протягом *S*-фази і *G2*-фази, але знаходилися у неактивованому стані до власне стадії мітозу, забезпечують ініціацію

мітозу, стимулюючи білки, які відповідають за конденсацію хромосом і формування мітотичного веретена. Важливим білковим комплексом, що активується у цей час, є *убіквітин-лігаза*, відомий як комплекс, що стимулює перехід до анафази. Цей комплекс забезпечує, у свою чергу, деградацію структурних білків, які пов'язані з хромосомним кінетохором. Убіквітин-лігазний комплекс також забезпечує деградацію мітотичних циклінів, і, як наслідок, перехід до телофази мітозу і цитокінезу.

### **Завдання:**

- 1. Занотуйте і вивчіть характеристику фаз мітозу.*
- 2. Схематично замалюйте клітини під час різних фаз мітозу.*
- 3. Розгляньте на фіксованих мікропрепаратах клітини під час поділу, замалюйте побачене та відмітьте хромосоми із зазначенням фази мітозу.*
- 4. Охарактеризуйте біологічне значення мітозу.*

### **Питання для самоперевірки:**

1. Що таке клітинний цикл та з яких етапів він складається?
2. Які клітинні процеси відбуваються під час інтерфази?
3. Охарактеризуйте профазу мітозу.
4. Що характерно для прометафази і метафази?
5. Що відбувається з клітиною в анафазі й телофазі?
6. Як здійснюється контроль життєвого циклу клітин?

## Практична робота № 6

**Тема:** Мейоз. Вивчення фаз мейозу.

**Мета:** Розглянути та вивчити фаз мейозу, а також провести паралель між мейозом і гаметогенезом.

**Мейоз** (від старод.-грец. *μείωσις* – зменшення) або редуційний поділ – це особливий вид поділу еукаріотичних клітин, внаслідок якого хромосомний набір зменшується вдвічі, клітини переходять з диплоїдного стану в гаплоїдний. Зі зменшенням числа хромосом в результаті мейозу в життєвому циклі відбувається перехід від диплоїдної фази до гаплоїдної. Відновлення плоїдності відбувається в результаті статевого процесу, який завершується утворенням зиготи.

Для мейозу характерні такі особливості:

- Редукція (зменшення) числа хромосом до гаплоїдного (половинного) набору;
- Незалежне розходження батьківських і материнських хромосом в статевих клітинах;
- *Кросинговер* (див. вище) – перехрест хромосом, при якому відбувається взаємний обмін частинами між гомологічними хромосомами внаслідок розривів хроматид і поєднання кінців в іншому порядку.

Існує три форми мейозу:

- **початковий** (зиготний) настає після запліднення (у водоростей і найпростіших), коли лише зигота диплоїдна, а її похідні гаплоїдні;
- **проміжний** (споровий) – між стадіями спорофіту і гаметофіту (в процесі спороутворення у рослин);
- **кінцевий** (гаметний) – при гаметогенезі (розвитку статевих клітин) у всіх багатоклітинних тварин і деяких найпростіших.

Мейоз складається з двох послідовних поділів (редукційний і екваційний), аналогічних мітотичним (з деякими відмінностями), інтерфаза (*інтеркінез*) між якими вкорочена, а у рослинних клітинах може бути взагалі відсутня. Перший поділ *редукційний* (від лат. *reductio* – повернення, відновлення) значно відрізняється від мітозу. Другий поділ *екваційний* (від лат. *aequalis* – такий же), або *гомеотипний* (від грец. *homoios* – подібний) проходить як мітоз, і відрізняється від нього лише за кількістю хромосом. Під час

інтеркінезу між поділами мейозу відсутня реплікація ДНК (редуплікації хромосом).

Перший поділ мейозу має такі ж стадії як і мітоз, лише додається відповідне цифрове позначення: профаза-I, метафаза-I, анафаза-I, телофаза-I. Другий поділ мейозу позначається відповідно: профаза-II, метафаза-II, анафаза-II, телофаза-II (рис. 11).

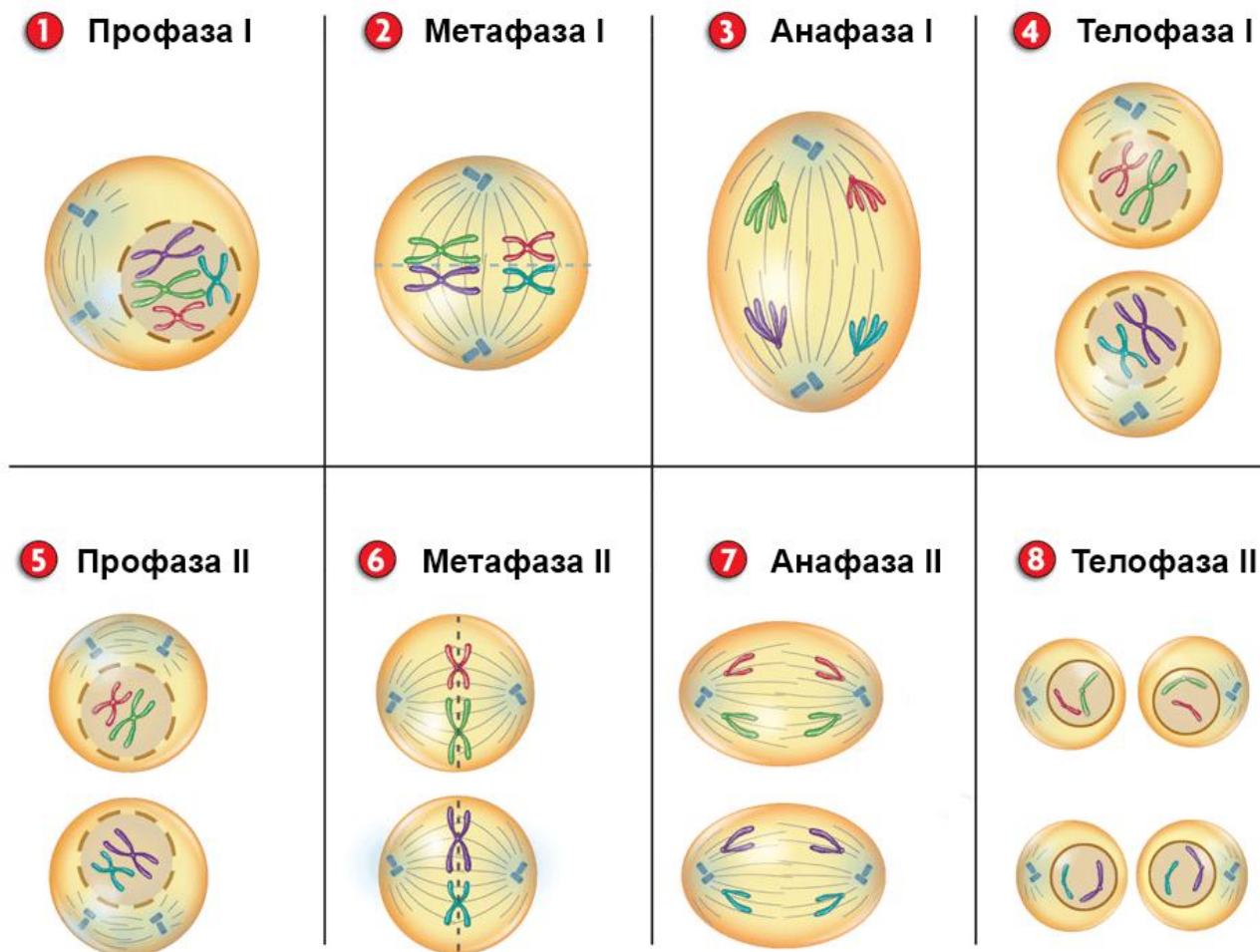


Рис. 11. Схема розподілу хромосом у мейозі

Кожний з двох поділів мейозу має свої відмінності. Особливість першого поділу є ускладнений і насичений процесами перебіг профазі-I. Найважливішою відмінністю профазі-I мейозу від профазі мітозу є *кон'югація* гомологічних хромосом (поздовжнє об'єднання гомологічних хромосом) з утворенням так званих *бівалентів* (об'єднана пара гомологічних хромосом) і кросинговер. Нижче у таблиці подана характеристика стадій і фаз мейозу.

Отже, у результаті другого мейотичного поділу число хромосом залишається таким, як і після першого, але кількість ДНК, унаслідок розходження хроматид до дочірніх клітин, зменшується вдвічі.

## Генетична характеристика стадій і фаз мейозу

Поділ / стадія / фаза		Генетична характеристика	
Редукційний поділ	Профаза I	Лептотена (стадія тонких ниток)	Хромосоми починають компактизуватись за рахунок спіралізації, але мають вигляд тонких ниток, тому на них ще може синтезуватися певна кількість РНК. Ядерце і ядерна оболонка (каріолема) зберігаються.
		Зиготена (стадія об'єднаних ниток)	Гомологічні хромосоми наближаються одна до одної, розташовуються парами, вкорочуються, обвиваються, з'єднуються між собою. У місцях контактів гомологічних хромосом утворюються синаптонемні комплекси, завдяки яким хромосоми кон'югують, формуючи біваленти.
		Пахітена (стадія товстих ниток)	Триває щонайменше декілька діб. Хромосоми інтенсивно спіралізуються в наслідок чого вони вкорочуються і потовщуються. Між хроматидами материнського і батьківського походження у декількох місцях виникають <i>xiazми</i> (точки, в яких дві гомологічні несестринські хроматиди обмінюються генетичним матеріалом), у яких відбувається кросинговер.
		Диплотена (стадія подвійних ниток)	На цій стадії закінчується обмін гомологічними ділянками внаслідок кросинговеру. Відбувається часткова деконденсація хромосом, при цьому частина генома може працювати, відбуваються процеси транскрипції, трансляції. Гомологічні хромосоми залишаються з'єднаними між собою, але вже стають видимими окремі хроматиди. У деяких тварин в ооцитах хромосоми набувають характерної форми типу лампових щіток (див. вище).
		Діакінез	ДНК знову максимально конденсується,

		синтетичні процеси припиняються, розчиняється ядерна оболонка. Центріолі розходяться до полюсів, а гомологічні хромосоми залишаються з'єднаними між собою.
	Метафаза I	Бівалентні хромосоми вишиковуються уздовж екватора клітини. Їх центромери спрямовані до протилежних полюсів і все сильніше відштовхуються одна від одної.
	Анафаза I	Мікротрубочки скорочуються, біваленти діляться і хромосоми розходяться до полюсів. Важливо відзначити, що, через кон'югацію хромосом в зиготені, до полюсів розходяться цілі хромосоми, які складаються з двох хроматид кожна, а не окремі хроматиди, як у мітозі.
	Телофаза I	Після того як хромосоми досягають протилежних полюсів, протягом деякого часу вони залишаються в конденсованому стані, зберігаючи морфологічні ознаки. Потім хромосоми деспіралізуються і з'являється ядерна оболонка. Далі відбувається цитотомія.
	Інтеркінез	Другий розподіл мейозу слідує безпосередньо за першим, без вираженої інтерфази: S-період відсутній, оскільки перед другим поділом не відбувається реплікації ДНК.
Екваторний поділ	Профаза II	Відбувається конденсація хромосом, клітинний центр ділиться і продукти його поділу розходяться до полюсів ядра, зникають ядерця, руйнується ядерна оболонка, утворюється веретено поділу, перпендикулярне першому веретену.
	Метафаза II	Завершуються спіралізація хромосом і формування веретена поділу. Унівалентні хромосоми (складаються з двох хроматид кожна) розташовуються на «екваторі» (на рівній відстані від «полюсів» ядра) в одній площині, утворюючи так звану метафазну пластинку. Центромери хромосом



	розташовуються в один ряд і до них приєднуються нитки веретена поділу.
Анафаза II	Діляться центроміри хромосом і хроматиди розходяться до полюсів клітини завдяки вкороченню ниток веретена поділу.
Телофаза II	Хромосоми деспіралізуються, зникає веретено поділу, формуються ядерця та ядерна оболонка. Завершується телофаза II поділом цитоплазми.

Таким чином суть мейозу полягає в тому, що утворюється чотири клітини з гаплоїдними ядрами, кожна з яких містить по одній гомологічній хромосомі від кожного з батьків. Мейоз представляє собою механізм розподілу генів, що забезпечує їх спадкову і незалежну рекомбінацію, а кросинговер – це спосіб за допомогою якого здійснюється зближення генів окремих хромосом. При відсутності цього процесу еволюція видів була би неможлива, і жива матерія не володіла б такою різноманітністю.

**Біологічне значення мейозу.** В організмів, які розмножуються статевим способом, внаслідок мейозу утворюються дочірні клітини з гаплоїдним числом хромосом. Під час запліднення гаплоїдні ядра статевих клітин зливаються і утворюють зиготу, яка містить властиве для певного виду число хромосом. Отже, мейоз і запліднення є взаємокомпенсаторними процесами, які забезпечують постійність числа хромосом у безперервному ряді поколінь.

На відміну від мітозу, мейоз у гетерозиготних організмів призводить до виникнення статевих клітин з різною генетичною інформацією. Природним доказом цього можуть бути двояйцеві близнята або діти одних і тих самих батьків.

Поведінка хромосом у мейозі, зокрема належний розподіл їх і кросинговер, має глибокі генетичні й еволюційні наслідки. Завдяки мейозу і заплідненню природні популяції диплоїдних організмів складаються з генетично різних особин.

### **Завдання:**

1. Занотуйте і вивчіть характеристику фаз і стадій мейозу.
2. Замалюйте схематично механізм розподілу хромосом в гаметах під час мейозу.

3. *Охарактеризуйте та складіть схеми спермато- і овогенезу.*
4. *Розгляньте на фіксованих мікропрепаратах яєчника кролиці овоцити під час профазі I мейозу, замалюйте великі ядра овоцитів на стадіях диплотени і діакінезу.*

**Питання для самоперевірки:**

1. Що таке мейоз та які його особливості?
2. Які існують форми мейозу?
3. Охарактеризуйте стадії профазі I мейозу.
4. Що таке кон'югація, бівалент, хіазма і кросинговер?
5. Яке біологічне значення мейозу?

## Практична робота № 7

**Тема:** Механізми виникнення і наслідки геномних мутацій.

**Мета:** Вивчити класифікацію геномних мутацій, розглянути механізми їх виникнення та наслідки.

**Геномні мутації** – це зміна нормальної кількості хромосом в каріотипі організму певного виду. Розрізняють дві великі групи геномних мутацій: *зміна плоідності* (числа наборів хромосом, що знаходяться в ядрі клітини або в ядрах клітин багатоклітинного організму) та *анеуплоїдії* (зміни каріотипу, при яких число хромосом у клітинах стає некрратним гаплоїдному набору). У свою чергу плоідність змінюється в напрямку її зменшення або збільшення. У першому випадку йде мова про *гаплоїдії*, а у другому – про *поліплоїдії*.

*Гаплоїдії* – це мутації в наслідок яких у ядрі клітин організму міститься одинарний набір хромосом, що становить половину повного набору ( $n$ ), властивого вихідній формі (виду) ( $2n$ ). Спонтанна гаплоїдія – явище рідкісне, однак постійно зустрічається у багатьох видів рослин, у тому числі і у деревних, наприклад у сосни звичайної. Зазвичай частота гаплоїдії не перевищує 0,1%.

*Поліплоїдією* називають кратне збільшення кількості хромосом у клітині еукаріот (рис. 12).

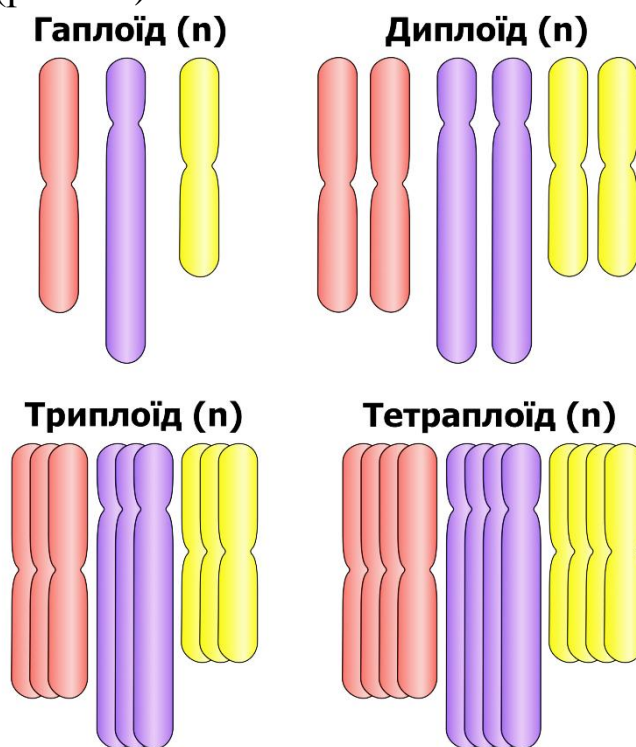


Рис. 12. Каріотиби різної плоідності

Поліплоїдія набагато частіше зустрічається серед рослин, ніж серед тварин. Серед роздільностатевих тварин поліплоїдія описана у нематод, зокрема аскарид, а також у ряду представників амфібій. Так, для європейських їстівних жаб (*P.esculentus*), які є стабільним геміклонально розмножуючимся міжвидовим гібридом жаб *P.ridibundus* і *P.lessonae*, типова триплоїдія ( $3n = 36$ ).

У рослинному світі екологічний успіх у багатьох випадках обумовлений гібридизацією і виникненням саме поліплоїдних форм. У цілому близько 70% рослин поліплоїдні, при цьому переважає аллополіплоїдія. Для ряду видів описані внутрішньовидові і навіть внутрішньосортові поліплоїдні серії.

Штучно поліплоїдія викликається отрутами, які руйнують веретено поділу, такими як *колхіцин*.

Розрізняють автополіплоїдію і аллополіплоїдію.

*Автополіплоїдія* – це кратне збільшення числа наборів хромосом у клітинах організму одного і того ж біологічного виду. На основі штучної автополіплоїдизації синтезовані нові форми і сорти жита, гречки, цукрових буряків та інших рослин.

*Аллополіплоїдія* – кратне збільшення кількості хромосом у гібридних організмів. Виникає при міжвидовій і міжродовій гібридизації.

Окрім того в 1931 році вперше описано явище *міксоплоїдії* у *A.coeruleum*. Нині це широко вживаний термін, який означає наявність і співіснування в одній тканині, крім диплоїдних, клітин інших рівнів плоїдності, зокрема поліплоїдних. Для рослин міксоплоїдія швидше правило, ніж виняток.

*Анеуплоїдія* – зміна каріотипу, при якому число хромосом в клітинах не кратне гаплоїдному набору ( $n$ ). Відсутність у хромосомному наборі диплоїдного організму однієї хромосоми називається *моносомією* ( $2n-1$ ); відсутність двох гомологічних хромосом – *нулісомією* ( $2n-2$ ); наявність додаткової хромосоми називається *трисомією* ( $2n+1$ ). Також зустрічається тетрасомія ( $2n+2$ ), пентасомія ( $2n+3$ ), гексасомія ( $2n+4$ ), тощо.

Анеуплоїдія виникає в результаті порушення сегрегації хромосом в мітозі або мейозі. Вроджена анеуплоїдія може виникнути, якщо в анафазі I мейозу гомологічні хромосоми однієї або декількох пар не розійдуться. У цьому випадку обидві хромосоми пари направляються до одного і того ж полюсу клітини, і тоді мейоз призводить до утворення гамет, які містять на одну або кілька хромосом більше або

менше, ніж у нормі. Це явище відоме під назвою *нерозходження хромосом* (рис. 13). Коли гамета з відсутньої або зайвою хромосомою зливається з нормальною гаплоїдною гаметою, то утворюється зигота з непарним числом хромосом: замість двох гомологів у такій зиготі їх може бути три або тільки один.

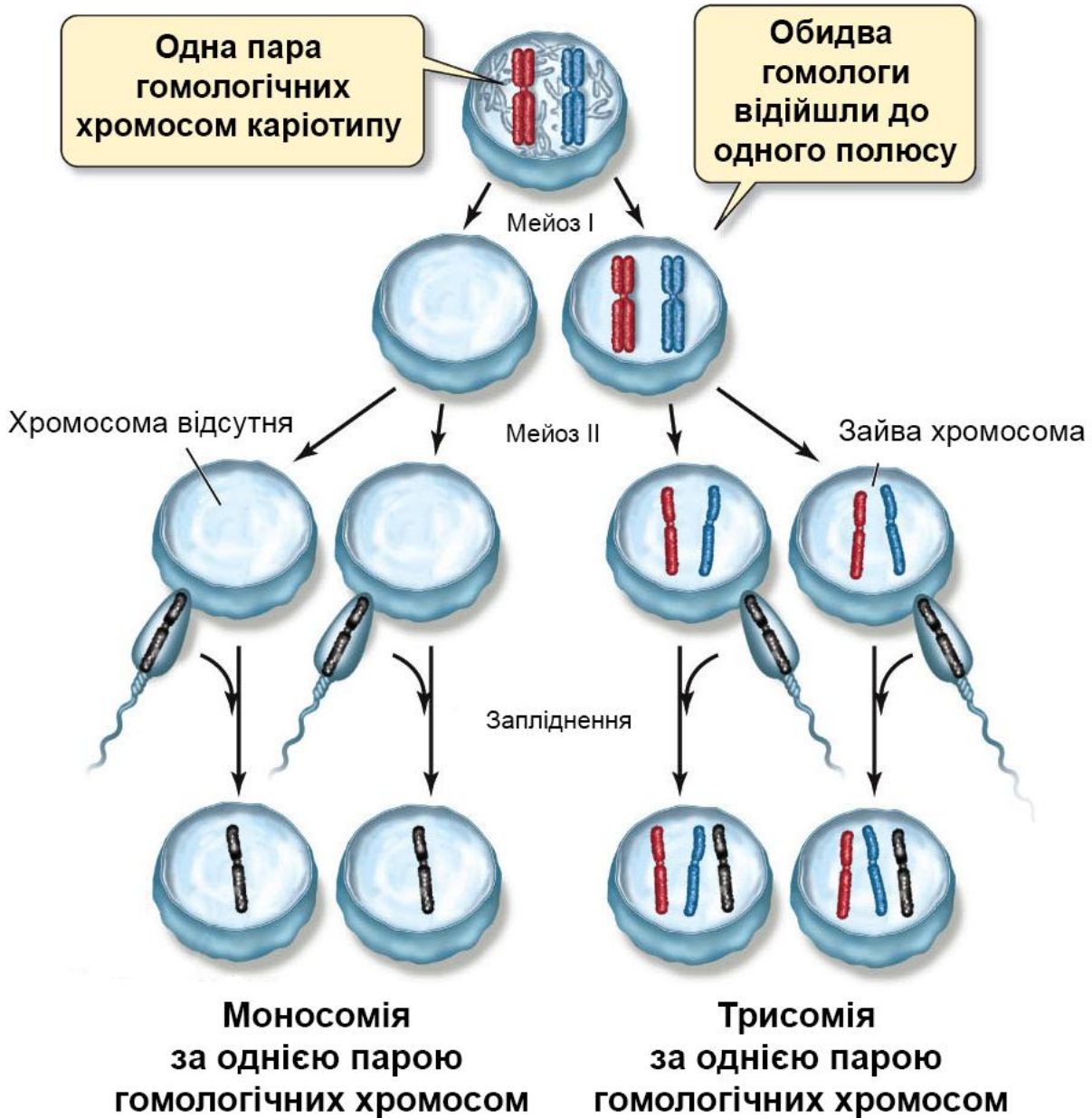
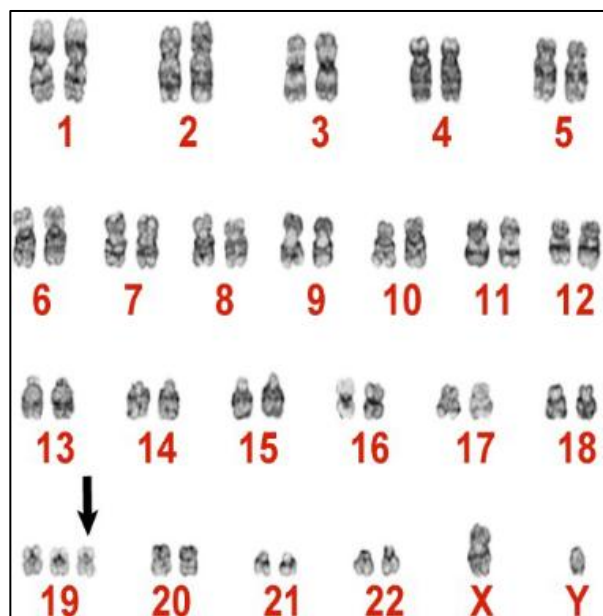
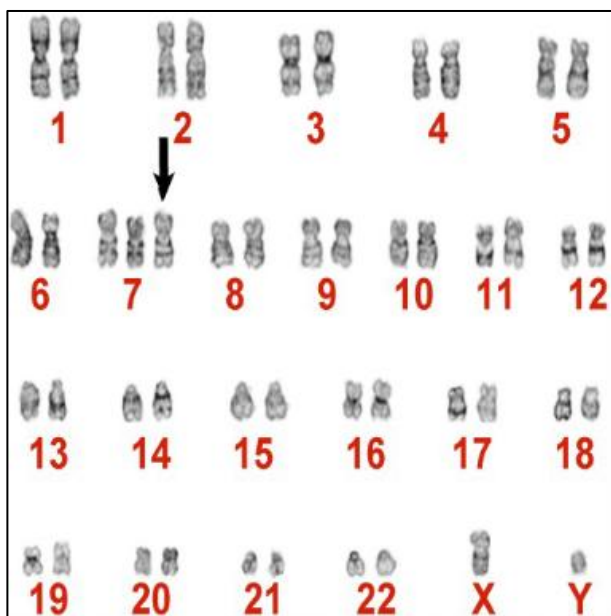
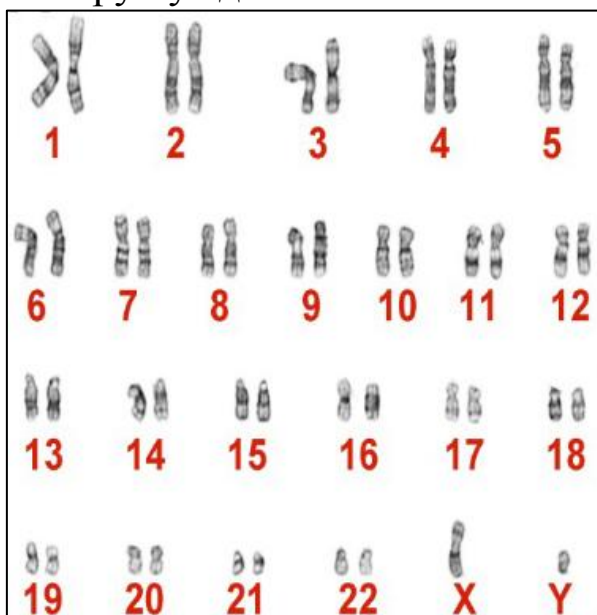


Рис. 13. Механізм нерозходження хромосом під час мейозу

Зигота, в якій кількість аутосом менше нормальної диплоїдної, зазвичай не розвивається, але зиготи із зайвими хромосомами іноді здатні до розвитку. Однак з таких зигот у більшості випадків розвиваються особини з різко вираженими аномаліями.

За типом залучених хромосом виділяють *анеуплоїдію статевих хромосом* і *аутосомну анеуплоїдію* (рис. 14). Анеуплоїдія за статевими хромосомами характеризується більш м'якими

фенотиповими проявами, ніж анеуплоїдія за аутосомами, оскільки щодо X-хромосоми працює механізм дозової компенсації, а Y-хромосома несе малу кількість генів, а, відповідно, додаткова Y-хромосома незначно порушує дозовий баланс.



**Рис. 14. Нормальний каріотип людини (згори), трисомія за 7-ю (знизу, ліворуч) та 19-ю (знизу, праворуч) хромосомою**

Прикладів хромосомних хвороб пов'язаних з анеуплоїдією чимало. Це і синдром Дауна (трисомія за 21-ю парою), і синдром Патау (трисомія за 13-ю парою), і синдром Клайнфельтера (полісомія за X-хромосомами у хлопчиків), і багато інших. Така велика кількість прикладів полісомій і практично відсутність моносомій серед людей говорить про те, що втрата генетичного матеріалу цілої хромосоми дуже серйозно позначається на внутрішньоутробному розвитку

зародка і найчастіше, як і при га- і поліплоїдії веде до його внутрішньоутробної загибелі. У той же час велика частина ембріонів, закладених з будь-якою трисомією, також елімінується на ранніх стадіях вагітності.

### **Завдання:**

1. *Випишіть і вивчіть усі виділені курсивом терміни.*
2. *Складіть схему класифікації геномних мутацій.*
3. *Обґрунтуйте значення поліплоїдизації в рослинництві.*
4. *Наведіть і охарактеризуйте приклади анеуплоїдій тваринного світу, зокрема і людини.*

### **Питання для самоперевірки:**

1. Що таке геномні мутації та які вони бувають?
2. Охарактеризуйте поліплоїдії та гаплоїдії? Причини їх виникнення.
3. Чим характеризуються автополі-, аллополі- і міксоплоїди?
4. Що таке анеуплоїдія та як вони утворюються?
5. Які види анеуплоїдій існують та чим вони характеризуються?

## Практична робота № 8

**Тема:** Хромосомні аберації. Транслокації та їх ідентифікація.

**Мета:** Вивчити класифікацію хромосомних мутацій, розглянути причини й механізми виникнення різновидів транслокацій, а також особливостей їх проявів і значення для еволюції.

**Хромосомні аберації** (хромосомні мутації, хромосомні перебудови) – тип мутацій, які змінюють структуру хромосом (рис. 15). Класифікують хромосомні аберації на *делеції* (втрата серединної ділянки хромосоми), *дефішенсі* (втрата кінцевої ділянки хромосоми), *інсерції* (вставки фрагментів у хромосому), *інверсії* (зміна порядку генів ділянки хромосоми на зворотний), *дуплікації* (повторення ділянки хромосоми), *транслокації* (перенесення ділянки хромосоми на іншу), *фрагментації* (дроблення хромосоми), а також утворення дицентричних і кільцевих хромосом. Відомі також *ізохромосоми*, які складаються з двох однакових плечей.

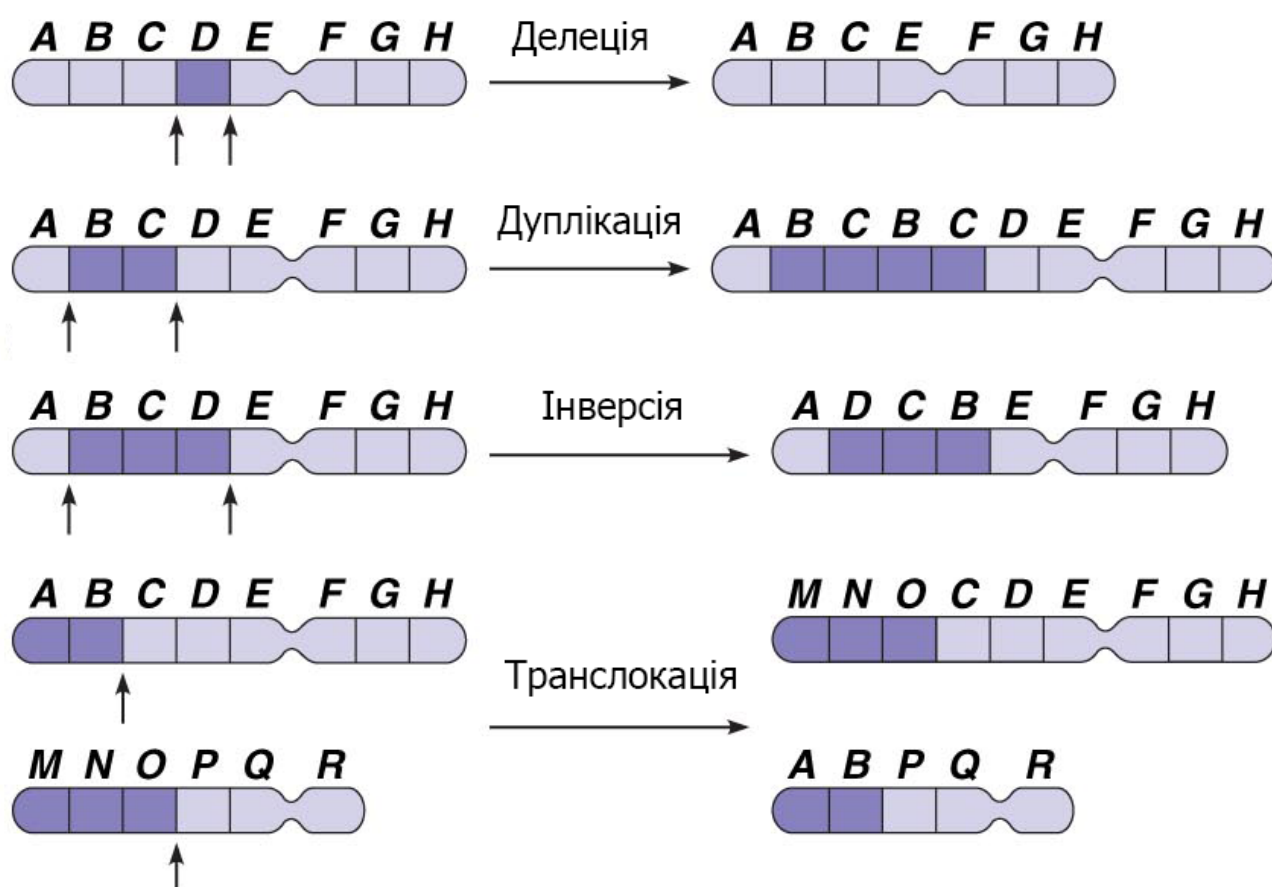


Рис. 15. Механізми утворення деяких хромосомних аберацій

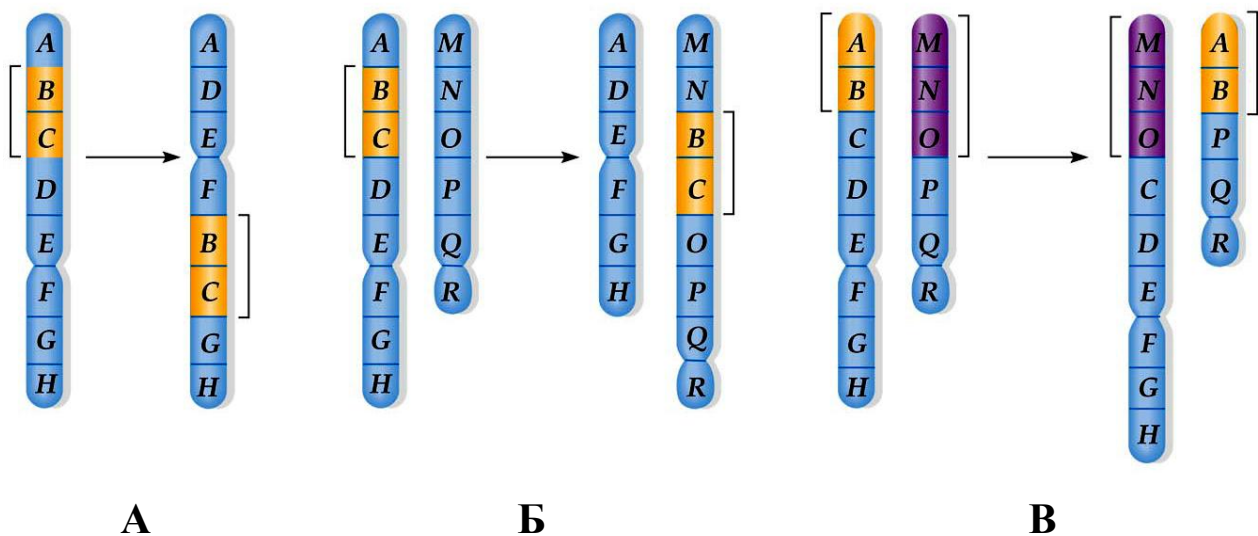


Якщо перебудова змінює структуру однієї хромосоми, то таку мутацію називають *внутрішньохромосомною* (інверсії, делеції, дефішенсі, дуплікації, кільцеві хромосоми), якщо ж двох різних, то *міжхромосомною* (дуплікації, транслокації, дицентричні хромосоми). Хромосомні перебудови підрозділяють також на збалансовані і незбалансовані. *Збалансовані перебудови* (інверсії, реципрокні транслокації) не призводять до втрати або додавання генетичного матеріалу при формуванні, тому їх носії, як правило, фенотипово нормальні. *Незбалансовані перебудови* (делеції і дуплікації) змінюють дозові співвідношення генів, і, як правило, їх носійство пов'язане з клінічними відхиленнями від норми.

Основною передумовою для виникнення хромосомних перебудов є пошкодження ДНК у вигляді двониткових розривів з подальшою помилкою репарації: неправильним відновленням розривів при репарації шляхом негомологічної рекомбінації або помилковим вибором паралогічної замість гомологічної послідовності ДНК при репарації під час гомологічної рекомбінації. Двониткові розриви ДНК виникають в клітині спонтанно або під дією різних мутагенних факторів: фізичних (іонізуюче випромінювання), хімічних (хіміотерапія, вплив вільних радикалів ендogenousного походження на ДНК) або біологічних (транспозони, віруси). Двониткові розриви ДНК виникають запрограмовано під час профазі I мейозу, а також при дозріванні Т- і В- лімфоцитів під час специфічної соматичної *V(D)J-рекомбінації* (механізм соматичної рекомбінації, що відбувається на ранніх етапах диференціювання лімфоцитів і призводить до формування антиген-розпізнавальних ділянок імуноглобулінів і Т-клітинного рецептора). Порушення і помилки процесу відновлення двониткових розривів ДНК призводять до появи хромосомних перебудов.

**Транслокація** (від лат. *trans* – через і *locus* – місце, перенесення) – тип хромосомних мутацій, при яких відбувається перенесення ділянки хромосоми на негомологічну хромосому. Окремо виділяють такі різновиди транслокацій:

- *нереципрокні внутрішньо- і міжхромосомні транслокації*, при яких відбувається перенесення частини хромосоми в інше положення в межах даної хромосоми або на іншу хромосому відповідно (рис. 16: А, Б);
- *реципрокні транслокації*, при яких відбувається взаємний обмін ділянками між хромосомами (рис. 16: В);
- *робертсонівські транслокації, або центричні злиття*, при яких відбувається злиття акроцентричних хромосом з повною або частковою втратою матеріалу коротких плечей (рис. 17).



**Рис. 16. Різновиди транслокацій**

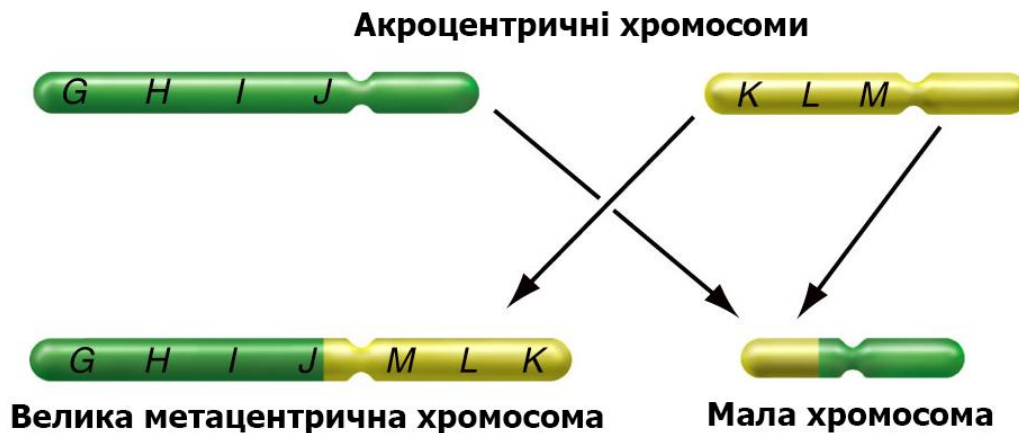
(А – нереципрокна внутрішньохромосомна;

Б – нереципрокна міжхромосомна; В – реципрокна)

Реципрокні транслокації є збалансованою хромосомної перебудовою, при їх формуванні не відбувається втрати генетичного матеріалу. Вони є однією з найпоширеніших хромосомних аномалій. Носії реципрокних транслокацій, як правило, фенотипово нормальні, при цьому мають підвищену ймовірність безпліддя, зниженої фертильності, спонтанних викиднів і народження нащадків із вродженими спадковими захворюваннями, оскільки половина гамет у них генетично незбалансована через нерівномірність розходження перебудованих хромосом в мейозі.

Робертсонівські транслокації є одним з найбільш поширених типів вроджених хромосомних аномалій у людини. За деякими даними, їх частота становить 1:1000 новонароджених. Їх носії

фенотипово нормальні, однак у них існує ризик викиднів і народження дітей з незбалансованим каріотипом, який суттєво варіює залежно від хромосом, залучених до злиття, а також від статі носія.



*Рис. 17. Робертсонівська транслокація*

Робертсонівські транслокації, можливо, є причиною відмінностей між числом хромосом у близькоспоріднених видів. Доведено, що два плеча 2-ї хромосоми людини відповідають 12 і 13 хромосомам шимпанзе. Можливо, 2-а хромосома утворилася в результаті робертсоновської транслокації двох хромосом мавпоподібних предків людини. Таким же чином пояснюють той факт, що різні види дрозофіли мають від 3 до 6 хромосом.

Транслокації, також як і інші хромосомні перебудови, можуть супроводжувати видоутворення. Окрім того вони викликають зниження фертильності, онкологічні та вроджені спадкові захворювання. Різні транслокації в соматичних клітинах призводять до розвитку лімфом, сарком, лейкозів.

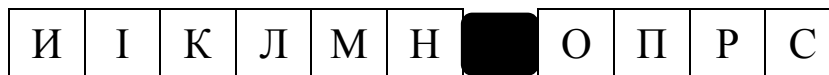
У медичній генетиці для позначення транслокацій використовують Міжнародну систему з цитогенетичної номенклатури людини (*The International System for Human Cytogenetic Nomenclature – ISCN*). Запис  $t(A; B)(p1; q2)$  означає транслокацію між хромосомами  $A$  і  $B$ . Інформація по друге дужках дається додатково для локалізації точок розриву всередині хромосоми  $A$  і  $B$  відповідно. Літера  $p$  означає коротке плече хромосоми, літера  $q$  – довге плече, цифри після  $p$  і  $q$  відносяться до нумерації хромосомних бендів. Для робертсоновської транслокацій використовується скорочення *der* або *rob*, наприклад,  $der(rob)(13; 14)(q10; q10)$ .

### Завдання:

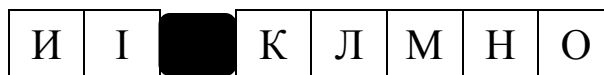
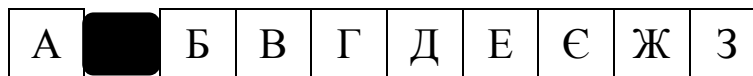
1. Випишіть і вивчіть усі виділені курсивом терміни.
2. Замалюйте механізми утворення всіх різновидів транслокацій.
3. Змоделюйте нереципрокную міжхромосомну транслокацію в двох варіантах між гіпотетичними хромосомами 17 і 19:



4. Змоделюйте реципрокную транслокацію між гіпотетичними хромосомами 6 і 11 та позначте її відповідно до ISCN:



5. Змоделюйте робертсонівську транслокацію між гіпотетичними хромосомами 2 і 16 та позначте її відповідно до ISCN:



### Питання для самоперевірки:

1. Що таке хромосомні аберації та які вони бувають?
2. Що відносять до внутрішньо- і міжхромосомних перебудов, а також яка різниця між збалансованими і незбалансованими абераціями?
3. Які передумови виникнення хромосомних аберацій?
4. Що таке транслокації та які вони бувають?
5. Якими наслідками можуть характеризуватись транслокації?
6. Як позначаються транслокації згідно з Міжнародною системою з цитогенетичної номенклатури?

## Практична робота № 9

**Тема:** Хромосомні інверсії та їх виникнення.

**Мета:** Вивчити різновиди інверсій, їх вплив на перебіг кросинговеру, а також розглянути механізм виникнення інверсій та процедуру їх виявлення.

**Інверсією** (від лат. *inversio* – перевертання, переставлення) називають хромосомну перебудову, при якій відбувається поворот ділянки хромосоми на  $180^\circ$ . Інверсії відносяться до збалансованих внутрішньохромосомних перебудов.

Розрізняють *парацентричну* (інвертований фрагмент лежить по один бік від центромери) і *перичентричну* (центромера знаходиться всередині інвертованого фрагмента) *інверсії* (рис. 18).

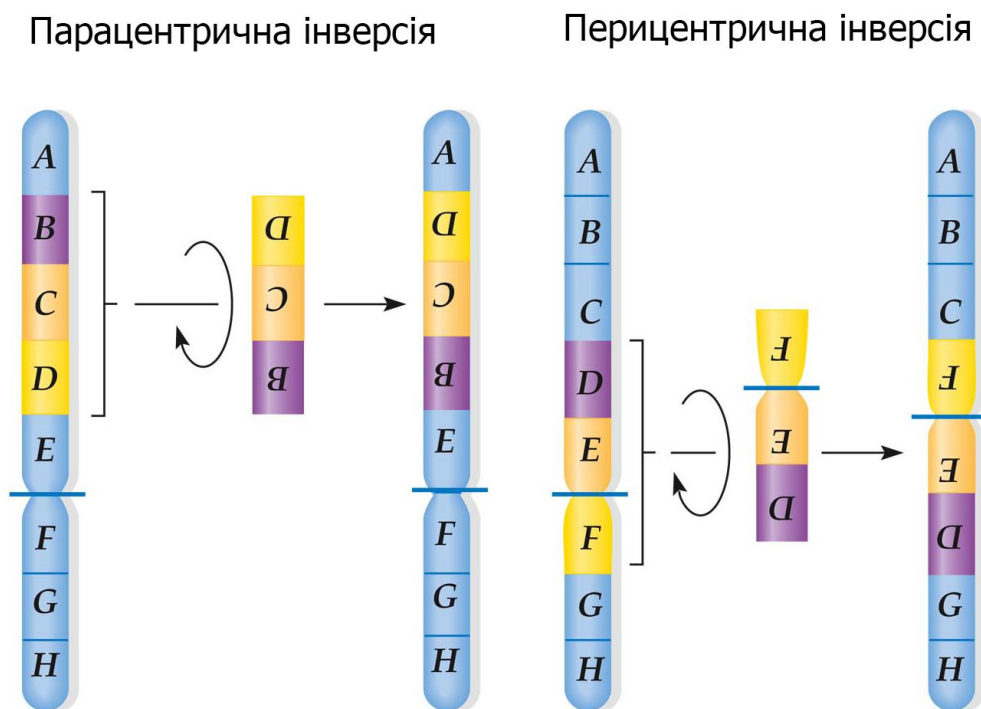
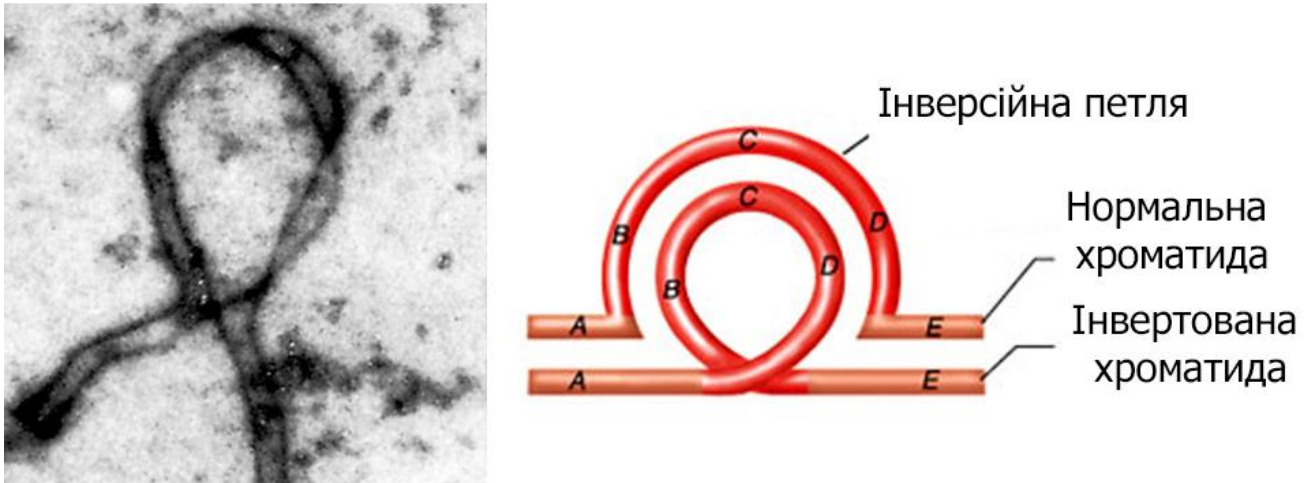


Рис. 18. Механізми виникнення інверсій

При проходженні мейозу в профазі I між гомологічними хромосомами відбувається синапсис, після чого можливий кросинговер і рекомбінація між ними. Гетерозиготність за інверсією ускладнює пошук гомологічних послідовностей під час синапсису хромосом. Короткі гетерозиготні інверсії зумовлюють труднощі при синапсі, але вони долаються в процесі так званої *синаптичної*

підгонки. У результаті останньої на місці інверсії формується негомологічний синапсис (гетеросинапсис), який блокує рекомбінацію. Достатньо довгі гетерозиготні інверсії здатні утворювати повноцінний гомологічний синапсис за рахунок формування *інверсійної петлі*, і, отже, в межах інвертованої ділянки може відбутись кросинговер (рис. 19).



**Рис. 19. Інверсійна петля в хромосомах**

(ліворуч – фото; праворуч – схема)

Якщо у гетерозиготи за перичентричною інверсією при мейозі відбувається кросинговер у межах інвертованої ділянки, то формуються аномальні рекомбінантні хромосоми з дуплікацією і делецією (див. нижче). У гетерозиготи за парацентричною інверсією кросинговер в межах інвертованої ділянки призводить до формування дицентричної хромосоми і ацентричного фрагменту. В обох випадках гамети, які міститимуть рекомбінантні хромосоми виявляться генетично незбалансованими, і ймовірність формування життєздатних нащадків з таких гамет є низькою.

Таким чином, гетерозиготність за інверсією призводить до пригнічення рекомбінації в межах інверсії за рахунок двох основних механізмів: через блокування рекомбінації у разі гетеросинапсису і за рахунок низької ймовірності виникнення рекомбінантних продуктів серед нащадків внаслідок генетичної незбалансованості гамет.

При гомозиготних інверсіях, якщо вони не пов'язані з летальним ефектом, кросинговер протікає нормально. Причина цього очевидна,

оскільки такі гомологічні хромосоми в профазі мейозу можуть вільно кон'югувати і обмінюватися ідентичними ділянками.

Проте слід мати на увазі, що не всяке пригнічення кросинговеру може бути спричинене дією інверсії. Існують такі генні мутації, які можуть перешкоджати нормальному синапсису хромосом у профазі мейозу (*асинаптичні гени*), як це встановлено для кукурудзи, жита, бавовнику, дурману, ячменю, а також у дрозофіли.

Для виникнення інверсії необхідною умовою є пошкодження ДНК у вигляді двониткового розриву з наступною помилкою репарації. Репарація двониткового розриву ДНК може проходити двома способами: негомологічним з'єднанням розривів і гомологічною рекомбінацією. При репарації шляхом негомологічних з'єднань можуть помилково поєднатися два внутрішньохромосомних розриви з розворотом ділянки між ними на  $180^\circ$ . При гомологічній рекомбінації може відбутися невірний вибір послідовності ДНК, на основі якої відбувається репарація пошкодженої ДНК. Замість гомологічної послідовності відбувається помилковий вибір паралогічної послідовності цієї ж хромосоми.

Нині існує три основних підходи для виявлення інверсій: за допомогою класичного генетичного аналізу, цитологічних досліджень і на основі даних секвенування повного геному. Найбільш поширеним є цитологічний підхід.

Інверсії були вперше виявлені саме за допомогою генетичного аналізу: в 1921 році Альфред Стертевант показав інвертований порядок ідентичних генів у *Drosophila simulans* в порівнянні з *Drosophila melanogaster*. Наявність інверсії можна припустити, якщо в наслідок схрещувань виявляється нерекомбінуюча частина геному. Для цього методу необхідне попереднє генетичне картування ознак.

Цитологічні докази інверсії вперше були виявлені на політенних хромосомах слинних залоз у дрозофіл. В інших таксономічних групах великі інверсії можна виявити за допомогою диференціального забарвлення метафазних хромосом. Вже відомі поліморфні варіанти інверсій можна аналізувати за допомогою флуоресцентної

гібридизації *in situ* (на місці) з використанням локус-специфічних ДНК-проб.

У людей та інших видів з секвенований геномом субмікроскопічні інверсії можна виявити за допомогою парнокінцевого секвенування. Міжвидові відмінності за інверсіями можна виявляти за допомогою прямого порівняння гомологічних послідовностей.

У медичній генетиці для позначення інверсій використовують також Міжнародну систему з цитогенетичної номенклатури людини. Запис *inv* (*A*) (*p*1; *q*2) позначає інверсію в хромосомі *A*. Інформація в других дужках дається додатково вказуючи на локалізацію точок розриву всередині хромосоми *A*. Буква *p* означає коротке плече хромосоми, буква *q* – довге плече, цифри після *p* і *q* відносяться до нумерації хромосомних бендів. Інверсії гетерохроматинових районів хромосом 1, 9 і 16 запропоновано позначати як *1ph*, *9ph* і *16ph* відповідно.

Для позначення інверсій у *Drosophila* використовують позначення *In* (*nA*) *m*, де *n* позначає номер хромосоми, *A* – плече хромосоми і *m* – ім'я мутації або номер бенду. Наприклад, *In* (*2LR*) *Cy* – це інверсія *Curly* у дрозофіли, яка зачіпає обидва плеча хромосоми 2.

### Завдання:

1. Випишіть і вивчіть усі виділені курсивом терміни.
2. Замалюйте механізми утворення пара- і перичентричної інверсій.
3. Змоделюйте три варіанти парацентричної інверсії у хромосомі 2 *D.melanogaster* та позначте їх відповідно до ISCN:  
*St Ar Ex Gu Jm B • Cn Vg L Bw*;
4. Змоделюйте два варіанти перичентричної інверсії у хромосомі 2 *D.melanogaster* та позначте їх відповідно до ISCN:  
*St Ar Ex Gu Jm B • Cn Vg L Bw*.

### Питання для самоперевірки:

1. Що таке інверсії та які вони бувають?



2. Як відбувається кросингвер у гетерозиготних за інверсією хромосомах?
3. Які причини виникнення і способи виявлення інверсій?
4. Як позначаються інверсії згідно з *ISCN*?

## Практична робота № 10

**Тема:** Дуплікації і делеції та їх наслідки.

**Мета:** Вивчити особливості різновидів дуплікацій і делецій, а також розглянути механізм їх виникнення та значення в еволюції.

**Дуплікація** (від лат. *duplicatio* – подвоєння) – різновид хромосомних аберацій, при якій певний сегмент хромосоми виявляється подвоєним. Дуплікації являють собою клас перебудов, що об'єднує як внутрішньо-, так і міжхромосомні перебудови. Зокрема виділяють такі різновиди дуплікацій:

- 1) *Тандемна* – це виникнення додаткової копії ділянки хромосоми, яка розташовується одразу за оригінальним сегментом, що був подвоєний (рис. 20). Копії, які виникли в одній хромосомі можуть розташовуватися у вигляді прямих або інвертованих тандемних повторів;
- 2) *Переміщена* – це подвоєння ділянки певної хромосоми, при якому нова копія може розташовуватись в новому місці даної хромосоми або на іншій гомологічній хромосомі. Окрім того, дуплікована ділянка може бути локалізована в негомологічній хромосомі, тобто в іншій групі зчеплення;
- 3) *Вільна* – це подвоєння ділянки хромосоми, при якій нова копія може утворити окрему малу хромосому зі своїми власними теломерами і центромерою;
- 4) *Ампліфікації* – випадки багаторазових повторень ділянки хромосоми.

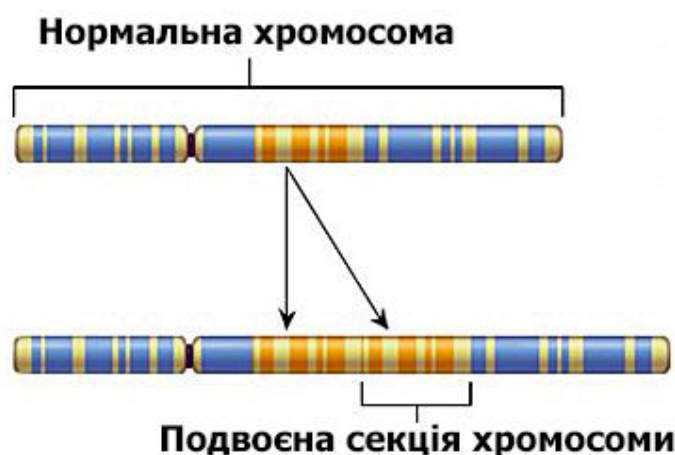


Рис. 20. Формування тандемної дуплікації

Тандемні дуплікації з'являються в статевих клітинах при мейозі в результаті нерівного кросинговеру при цьому другий гомолог несе делецію або в соматичних клітинах внаслідок неалельної гомологічної рекомбінації при репарації двониткових розривів ДНК. У процесі кросинговеру в гетерозиготі при кон'югації хромосоми з тандемною дуплікацією і нормальною хромосомою, як і при делеції, формується *компенсаційна петля*.

Дуплікації слугують джерелом додаткових ділянок генетичного матеріалу, функція яких може бути змінена в результаті мутацій і подальшого відбору. За рахунок тандемних дуплікацій відносно коротких нуклеотидних послідовностей може відбуватися подовження генів.

У 1970 році Сусумо Оно розробив гіпотезу про еволюційну роль дуплікацій, які є джерелом нових генів, не зачіпаючи при цьому функцій вихідних генів. Тобто, зайва копія гена виходить з під тиску природного відбору і отримує можливість накопичувати зміни. На користь цієї ідеї говорить близькість ряду генів за нуклеотидним складом, які кодують різні продукти. Наприклад, трипсин і хімотрипсин, гемоглобін і міоглобін та ряд інших білків.

Практично у всіх організмів в нормі спостерігається множинність генів, які кодують рРНК (рибосомальні РНК). Це явище назвали *надлишковістю генів*. Так у *E.coli* на рДНК (ДНК, що кодує рРНК) припадає 0,4% всього геному, що відповідає 5-10 копіям рибосомальних генів.

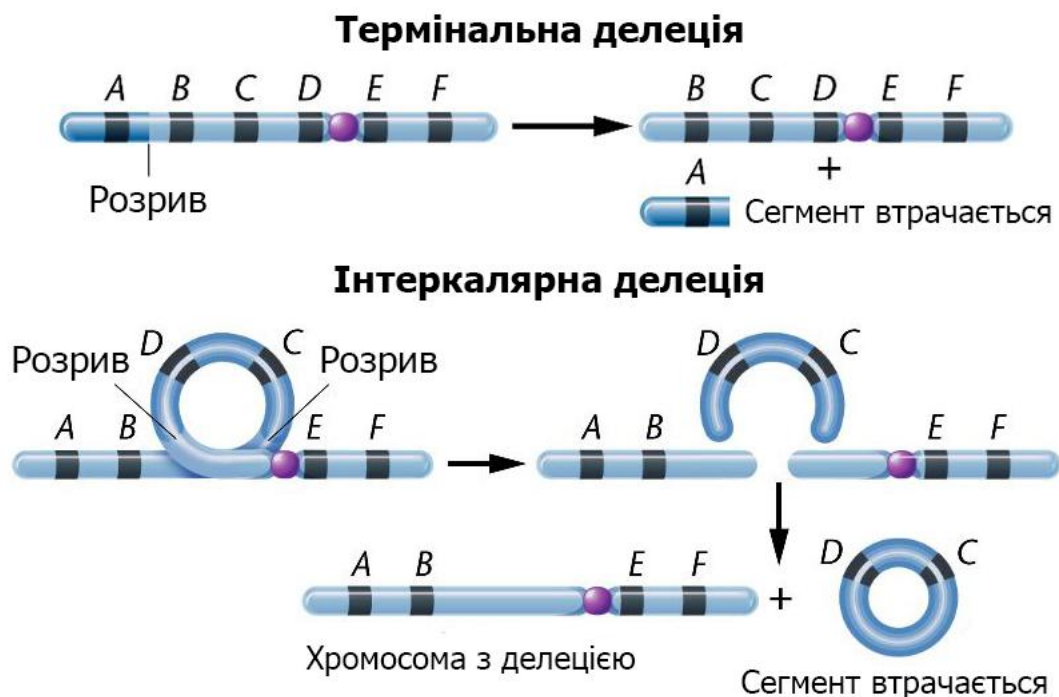
Дуплікації дають більш слабкий ефект, ніж втрата речовини хромосом, однак і вони викликають порушення балансу, яке при великих дуплікаціях призводить до зниження плодючості, а також і життєздатності. Дуплікації найкраще вивчені у дрозофіли; їх легко виявити в хромосомах клітин слинних залоз. Можливо, що вони досить часто зустрічаються і в інших організмів, однак симптоми, що викликаються наявністю дуплікації, бувають виражені досить слабо і тому їх, як правило, важко виявити.

**Делеція** (від лат. *deletio* – нестача, знищення) – це хромосомні перебудови, при яких відбувається втрата ділянки хромосоми.

Делеція може бути наслідком розриву хромосоми або результатом нерівного кросинговеру. Також, делеції можуть виникати в результаті «прослизання» при реплікації, якщо в послідовності міститься багато коротких повторів. Окрім того, «прослизання» може відбуватися і в нереплікованій хромосомі, на якій утворюються петлі вдовж коротких повторів, а ферменти репарації можуть видаляти обидві або одну з них. Це також призводить до різноманітних мутаційних наслідків.

За положенням втраченої ділянки хромосоми класифікують делеції на внутрішні (інтеркалярні) і кінцеві (термінальні) (рис. 21):

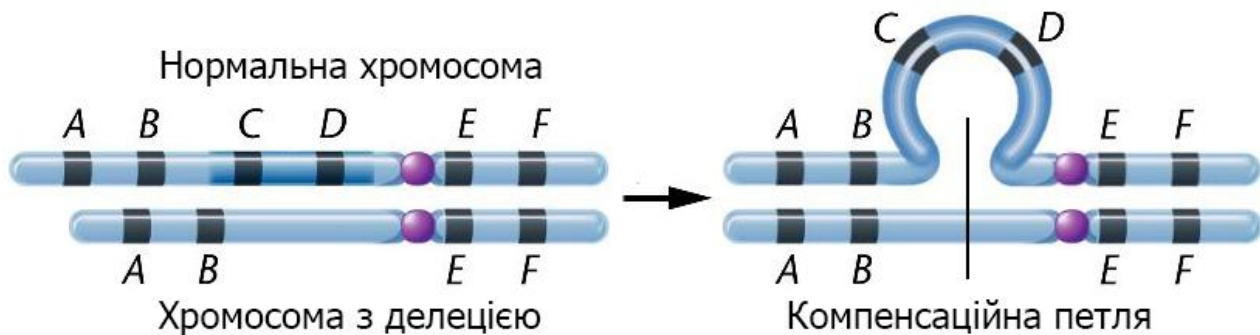
- 1) *Інтеркалярні* – відсутній внутрішній сегмент хромосоми, при цьому втрата не зачіпає теломери;
- 2) *Термінальні* – відсутній теломерний сегмент і прилегла до нього ділянка. Істинність таких мутацій у світлі унікальної функції теломер поставлена під сумнів. Зокрема, й досі не ясно, чи дійсно термінальні нестачі, зафіксовані у організмів із спадковими синдромами, утворилися в результаті одного розриву.



*Рис. 21. Різновиди делецій*

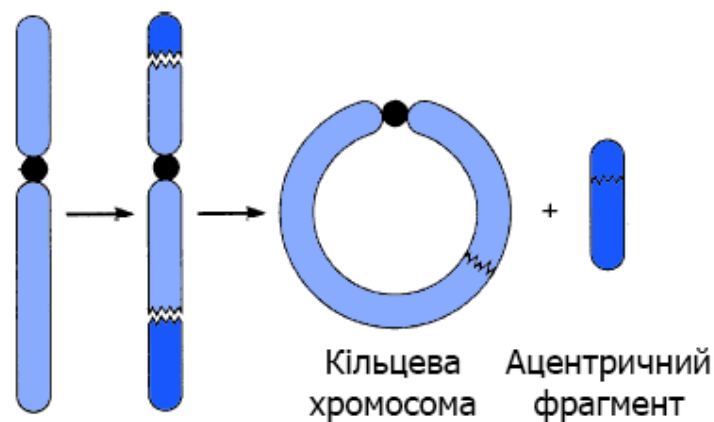
Якщо після утворення делеції хромосома зберегла центромеру, вона аналогічно іншим хромосомам реплікується і передається під час мітозу дочірнім клітинам, а ділянки без центромери, як правило,

втрачаються. При кон'югації гомологічних хромосом під час мейозу у нормальної хромосоми на місці, відповідної інтеркалярної делеції дефектної хромосоми, утворюється *компенсаційна петля* (рис. 22).



**Рис. 22. Кон'югація гомологічних хромосомом гетерозиготних за делецією**

Іноді розриви відбуваються одночасно в обох плечах хромосоми. Обидва ацентричні кінці елімінуються, а відкриті кінці центричного фрагмента можуть з'єднатися з утворенням *кільцевої хромосоми* (рис. 23).



**Рис. 23. Формування кільцевої хромосоми**

Організми, гетерозиготні за делеціями, є гемізіготними (тобто мають тільки одну дозу генів) за втраченими локусам, тому всі рецесивні гени відповідних локусів інтактного (оригінального) гомолога проявляються фенотипово.

Протяжні делеції зазвичай летальні в гомозиготному стані. Дрібні делеції, як правило, не викликають серйозних порушень генного балансу і можуть зберігатися в гемізіготному стані. Досить часто делеції супроводжуються зниженням життєздатності та плодючості

несучих їх особин. Іноді фенотиповий ефект дрібних делецій імітує генну мутацію.

Вроджені делеції у людини рідко охоплюють протяжні ділянки хромосом, зазвичай такі аберації призводять до загибелі ембріона на ранніх етапах розвитку. Сучасні методи виявлення хромосомних порушень, насамперед флуоресцентна гібридизація *in situ*, дозволили встановити зв'язок між мікроделеціями хромосом і рядом вроджених синдромів. Мікроделеціями, зокрема, обумовлені давно описані синдром Прадера-Віллі та синдром Вільямса.

Найкраще вивченим захворюванням, яке обумовлене досить великої делецією, є *синдром котячого крику*, описаний в 1963 році Жеромом Леженом. У його основі лежить делеція ділянки короткого плеча 5-ї хромосоми. Для хворих характерний ряд відхилень від норми: порушення функцій серцево-судинної, травної систем, недорозвинення гортані (з характерним криком, що нагадує котяче нявкання), загальне відставання розвитку, розумова відсталість, місяцеподібне обличчя з широко розставленими очима. Синдром зустрічається у 1 новонародженого з 50000.

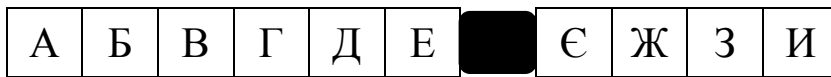
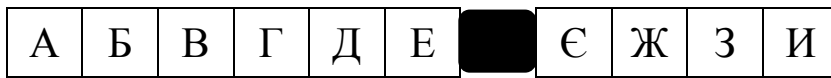
Також, було встановлено, що делеція гену, відповідального за білок *CCR5-δ32*, призводить до стійкості її носія до ВІЛ. Передбачається, що ця мутація виникла приблизно дві з половиною тисячі років тому і з часом поширилася по Європі. Зараз до ВІЛ стійкі в середньому 10% європейців, проте в Скандинавії ця частка сягає 14-15%. Серед фінів і росіян частка стійких людей ще вища – 16%, а в Сардинії – всього 4 %. Ряд вчених пояснюють таку нерівномірність тим, що мутація *CCR5*, окрім того, збільшує стійкість до бубонної чуми («чорної смерті»). Тому після епідемій цієї хвороби в 1347 році (а в Скандинавії ще й у 1711 році) частка особин з такою делецією в генотипі зросла. Цей приклад є підтвердженням факту еволюційних пристосувань до умов існування.

Окрім того, делеції і дуплікації в хромосомах, призводячи до зміни групи зазвичай щеплено успадкованих ознак, іноді пов'язані з відмінностями між близькими систематичними видами.

У медичній генетиці для позначення дуплікацій і делецій використовують скорочення *dup* і *del* відповідно.

### Завдання:

1. Впишіть і вивчіть усі виділені курсивом терміни.
2. Замалюйте механізми утворення делецій.
3. Замалюйте схему формування компенсаторної петлі у разі гетерозиготності гомологічних хромосом за дуплікацією і за делецією.
4. Змодельуйте механізм одночасної дуплікації і делеції в межах пари гомологічних хромосом:



5. Замалюйте схему формування кільцевої хромосоми.

### Питання для самоперевірки:

1. Що таке дуплікації та які їх різновиди існують?
2. Яка суть гіпотези щодо еволюційної ролі дуплікацій?
3. Що таке надлишковість генів та як часто вона зустрічається?
4. Що таке делеції та які причини їх виникнення?
5. Яка різниця між інтеркалярними і термінальними делеціями?
6. Чому виникають компенсаторні петлі хромосом?
7. Наведіть приклади фенотипового прояву делецій?

## Література

1. Ворсанова С.Г. Медицинская цитогенетика / С.Г. Ворсанова, Ю.Б. Юров, В.Н. Чернышов. М. : Медпрактика, 2006. – 376 с.
2. Генетика: Учебник. / [Петухов В.Л., Короткевич О.С., Стамбеков С.Ж., Жигачев А.И. и др.] // Учебник для студентов высш. учеб. заведений. – Новосибирск, 2007. – 628 с.
3. Дубинин Н.П. Потенциальные изменения ДНК и мутации. Молекулярная цитогенетика / Н.П. Дубинин. – М., 1978. – 244 с.
4. Жимуёв И.Ф. Общая и молекулярная генетика: Курс лекций / И.Ф. Жимулёв. – Новосибирск, 1998. – 123 с.
5. Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции / С.Г. Инге-Вечтомов // Учебник для биол. ун-тов. – М. : Высш. шк., 1989. – 591 с.
6. Льюин Б. Гены / Б. Льюин. – М. : Мир, 1987. – 544 с.
7. Методы анализа хромосомных aberrаций у человека / Под ред. К. Бэктон, Г. Эванса. – Женева : ВОЗ, 1975.
8. Прокофьева-Бельговская А.А. Основы цитогенетики человека / А.А. Прокофьева – Бельговская. – М. : Медицина, 1969.
9. Смирнов В.Г. Цитогенетика / В.Г. Смирнов. – М. : Высш. шк., 1991. – 247 с.
10. Спирин А.С. Молекулярная биология: Структура и биосинтез белков / А.С. Спирин. – М. : Высш. шк., 1990. – 352 с.
11. Фролов А.К. Иммуноцитогенетика / А.К. Фролов, Н.Г. Арцимович, А.А. Сохин. – М. : Медицина, 1993.
12. Wikipedia, the free encyclopedia. – Режим доступа : [en.wikipedia.org](http://en.wikipedia.org).



Навчальне видання

## **ЦИТОГЕНЕТИКА**

Методичні рекомендації

Укладачі: **Сметана Олександр Юрійович,**  
**Каратєєва Олена Іванівна**

Формат 60×84 1/16. Ум. друк. арк. 3,88  
Тираж 25 прим. Зам. № \_\_\_\_\_

Надруковано у видавничому відділі  
Миколаївського національного аграрного університету  
54020, м. Миколаїв, вул. Паризької Комуни, 9

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4490 від 20.02.2013р