

Глава 3. Сцепленное наследование и кроссинговер

3.1. Сцепленное наследование	2
3.2. Кроссинговер	3
3.2.1. Генетические доказательства перекреста хромосом	3
3.2.2. Частота кроссинговера и линейное расположение генов в хромосоме	4
3.2.3. Одинарный и множественный перекресты хромосом	5
3.2.4. Интерференция	6
3.2.5. Цитологические доказательства кроссинговера	7
3.2.6. Неравный кроссинговер	9
3.2.7. Митотический (соматический) кроссинговер	10
3.2.8. Факторы, влияющие на кроссинговер	10

3. Сцепленное наследование и кроссинговер

3.1. Сцепленное наследование

В 1906 году У. Бэтсон и Р. Пеннет, изучая наследование окраски цветка (пурпурная - *P* или красная - *p*) и формы пыльцевых зерен (удлиненная - *L* или круглая - *l*) у душистого горошка *Lathyrus odoratus* нашли, что при скрещивании растений с пурпурными цветками и удлиненной пылью (*PPLL*) и растений с красными цветками и круглой пылью (*ppll*) в F_1 были получены растения с пурпурными цветками и удлиненной пылью *PpLl*. Эти гибриды в результате самоопыления дали следующее расщепление в F_2 :

пурпурные цветки и удлиненная пыльца

(*P-L-*) - 4831 (69,5%)

пурпурные цветки, круглая пыльца

(*P-ll*) - 390 (5,6%)

красные цветки, удлиненная пыльца

(*ppL-*) - 393 (5,6%)

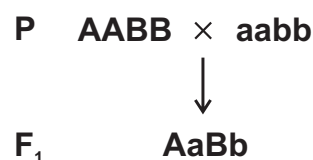
красные цветки, круглая пыльца

(*ppll*) - 1338 (19,3%)

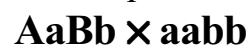
Т.е., в потомстве получены все четыре ожидаемых класса, но соотношение было не 9:3:3:1. В этом случае родительские сочетания аллелей исследованных генов *PL* и *pl* предпочтительно попадают в исходные гаметы, в то время как их новые сочетания (*pL* и *Pl*) встречаются гораздо реже. Это явление в дальнейшем назвали сцеплением генов.

Сцепленное наследование подробно изучили Т.Х. Морган, А. Стертевант, Г. Меллер и К. Бриджес.

В скрещиваниях родительских форм, гомозиготных по доминантным аллелям обоих генов и гомозиготных по рецессивным аллелям получают гибриды F_1 , у которых оба признака будут доминировать.



Структура гамет особей F_1 может быть проверена с помощью анализирующего скрещивания:



Если испытуемые гены находятся в разных хромосомах, то образуется 4 вида гамет **AB**, **Ab**, **aB** и **ab** и, следовательно, четыре фенотипических класса потомков:



в соотношении 1:1:1:1. Однако, если гены **A** и **B** сцеплены и “стремятся” попасть в одну гамету, в результате анализирующего скрещивания могут появиться только две формы, повторяющие признаки родителей в равном соотношении:



Это означает, что гены **A** и **B** наследуются совместно, как единый наследственный фактор, т.е. что они “сцеплены” (термин “сцепление” предложен Т. Морганом).

Этот эксперимент Моргана заложил основы хромосомной теории наследственности. Он установил, что материальной основой сцепления является хромосома. Хромосома представляет собой отдельную материальную единицу, фигурирующую

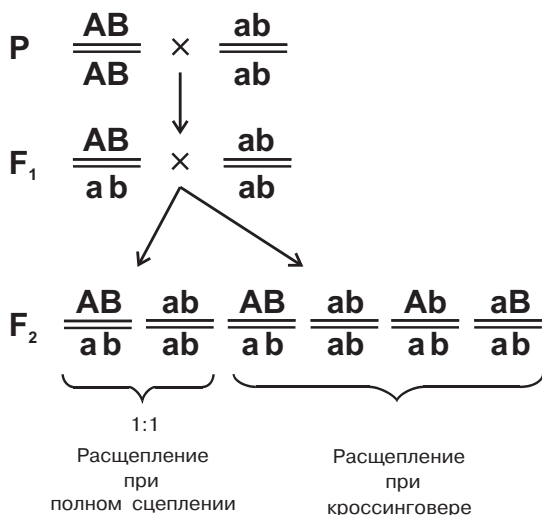
в мейозе. Все гены, находящиеся в одной хромосоме, будут связаны между собой субстратом хромосомы. После проверки всех генов, каждого с каждым на возможность сцепленного наследования, у дрозофилы можно выявить группы сцепления генов. Число групп сцепления равно гаплоидному числу хромосом. Теория Моргана существенно отличалась как от умозрительной, хотя и верной, гипотезы А. Вейсмана, так и от предположений Т. Бовери и У. Сэттона.

3.2. Кроссинговер

Как и в других законах наследственности, в законе о сцеплении генов сразу же обнаружили исключения. Морган в 1911 году нашел, что в гомологичной паре хромосом регулярно происходит обмен генами.

В скрещивании организмов, различающихся по паре признаков, в F₁ получают дигетерозиготы **AB/ab**.

В скрещивании потомков F₁ с родительской формой **ab/ab** в случае полного сцепления получалось бы расщепление **AB/ab** и **ab/ab** в



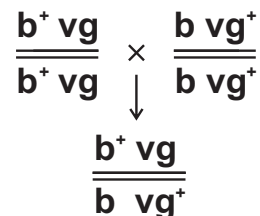
Дополнение 3.1.

Отмечая заслуги Т.Х. Моргана в формулировании хромосомной теории наследственности, в 1933 году ему была присуждена Нобелевская премия.

соотношении 1:1. Однако, всегда появляются новые сочетания признаков, например, **Ab/ab** и **aB/ab**. Значит, во время гаметогенеза образовались новые сорта гамет за счет перекреста хромосом и обмена их фрагментами.

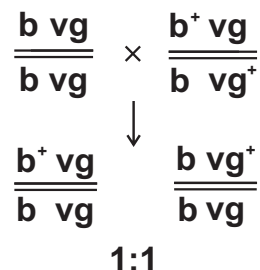
3.2.1. Генетические доказательства перекреста хромосом

Т.Х. Морган с сотрудниками скрещивал линии дрозофил, содержащие гены *b* и *vg* (*b* - черное тело, *vg* - зачаточные крылья).



Далее, ставились реципрокные скрещивания: в одном дигетерозиготой была самка, а дигомозиготой - самец, в другом скрещивании - наоборот.

Если дигетерозиготой был самец, в потомстве 1 часть имеет фенотип *b⁺vg*, другая часть - *vg⁺b*. Эти классы расщепляются в соотношении 1:1.



В ходе этого эксперимента Морган открыл, что у самцов дрозофилы перекрест хромосомы не происходит. Это наблюдение имеет огромное значение для любых экспериментов по генетике дрозофилы, в которых нужно исключить кроссинговер у одного из родителей.

В реципрокном скрещивании получено четыре класса потомков, два из которых имеют сцепленные гены, в том порядке, в каком они наблюдались у родителей, а два других класса возникли в результате нарушения сцепления - это кроссоверы:

$$\begin{array}{c}
 \frac{b^+ \text{ vg}}{b \text{ vg}^+} \times \frac{b \text{ vg}}{b \text{ vg}} \\
 \downarrow \\
 \underbrace{\frac{b^+ \text{ vg}}{b \text{ vg}} \quad \frac{b \text{ vg}^+}{b \text{ vg}}}_{\text{некроссоверы}} \quad \underbrace{\frac{b^+ \text{ vg}^+}{b \text{ vg}} \quad \frac{b \text{ vg}}{b \text{ vg}}}_{\text{кроссоверы}}
 \end{array}$$

Эти результаты неопровержимо показывают, что в ходе гаметогенеза произошел обмен фрагментами хромосом.

В каждом из классов число мух было в определенных числовых соотношениях: $b^+ \text{ vg}/b \text{ vg}$ и $b \text{ vg}^+/b \text{ vg}$ составляли по 41,5%, т.е. некроссоверов было 83%. Два кроссоверных класса по числу особей были также одинаковыми (8,5%) и сумма их равна 17%.

Процент кроссинговера определяется как отношение числа гамет с зарегистрированными обментами между двумя определенными парами аллелей к общему числу гамет.

Значение частоты кроссинговера между двумя генами, выявляемое в

опыте, не может быть более 50 %, т.к. эта частота составляет вероятность нормального, т.е. без кроссинговера, расхождения хромосом.

3.2.2. Частота кроссинговера и линейное расположение генов в хромосоме

В одном из опытов Морган и его сотрудники проводили скрещивание самок дрозофилы, гетерозиготных по трем сцепленным рецессивным генам у (*yellow* - желтый цвет тела), *w* (*white* - белый цвет глаз) и *bi* (*bifid* - вильчатые крылья), с самцами, несущими эти признаки - у *w bi*.

Полученные в опытах Моргана результаты в частотах перекреста (%) между генами представляли следующее соотношение (Рис. 3.1.). При этом сумма двух меньших частот равна самой большой частоте.

А. Стертевант предположил, что частота кроссинговера показывает

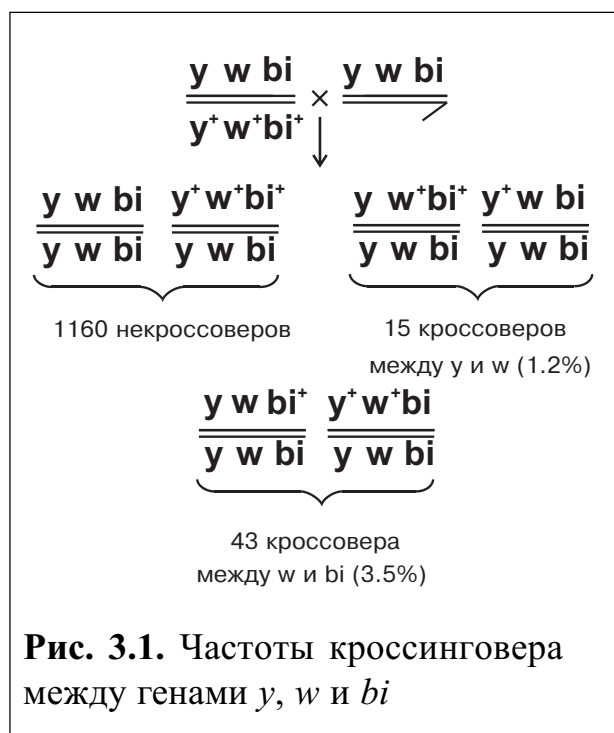


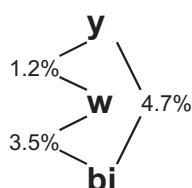
Рис. 3.1. Частоты кроссинговера между генами *y*, *w* и *bi*

Дополнение 3.2.

В России для обозначения частоты кроссинговера, равной 1%, использовали термин “морганида” в честь Т.Х. Моргана. В США долгое время использовали термин “единица карты” (map unit - m.u.). Начиная с 80-х годов почти повсеместно как в русскоязычной, так и англоязычной литературе используют термин “сантиморган” (centiMorgan или cM).

относительное расстояние между генами: чем чаще осуществляется кроссинговер, тем дальше отстоят гены друг от друга в хромосоме. Чем реже кроссинговер, тем они ближе. Таким образом он предложил строить линейные карты расположения генов.

Рассмотренный выше пример свидетельствует о том, что расстояние между *y* и *w* может быть выражено значением в 1,2 сантиморгана, между *y* и *bi* - 4,7, между *w* и *bi* - 3,5. И расположить эти три гена непротиворечиво можно только в следующем порядке: *y* - *w* - *bi*.



3.2.3. Одинарный и множественный перекресты хромосом

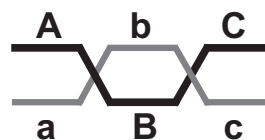
Перекрест, происходящий в одном участке хромосомы, называют одинарным, в двух точках - двойным, в трех - тройным, т.е. кроссинговер может быть множественным.

Рассмотрим эту ситуацию на следующем отвлеченном примере (из:

Лобашев, 1967, стр. 239-241): Были скрещены особи

ABC/abc x abc/abc

Перекрест происходит в следующих точках между генами **A** и **B**, а также **B** и **C**.



При построении генетических карт учитываются все события кроссинговера (Табл. 3.1.). Между генами **A** и **B** произошло 93 обмена (79+14), поэтому расстояние между ними составляет $93/521 \times 100 = 17,9\%$. Считая аналогичным образом, определяем расстояние между **B** и **C** - 28,6%. Таким образом, общее расстояние между **A** и **C** должно составлять примерно суммарное значение расстояний между **A** и **B**, и **B** и **C**, т.е. $17,9 + 28,6 = 46,5$ морганиды.

Табл. 3.1. Расщепления в потомстве тригибридов со сцепленными генами при анализирующем скрещивании (Из: Лобашев, 1967, стр. 239)

Гаметы	Генотип зигот	Число особей	%
некроссоверы ABC abc	ABC/abc abc/abc	150 143	} 293 56.2
кроссинговер между A и B Abc aBC	Abc/abc aBC/abc	37 42	
кроссинговер между B и C ABc abC	ABc/abc abC/abc	70 65	} 135 25.9
кроссинговер между A и B, между B и C AbC aBc	AbC/abc aBc/abc	8 6	
Всего потомков		521	100

Если бы считали только одиночные обмены между генами **A** и **C** ($79 + 135 = 214$), расстояние составило бы 41,1 морганиды. Разница в 5,4 морганиды приходится на долю двойного кроссинговера. Дело в том, что на больших расстояниях может происходить двойной кроссинговер, который очень трудно учитывать.

Например, в случае произошедшего двойного кроссинговера между генами **A** и **C**, оба они останутся на своих местах, и обмен между ними невозможно обнаружить.

При этом, чем дальше гены отстоят друг от друга, тем большая вероятность двойного кроссинговера, следовательно, чем меньше расстояние между генами, тем оно точнее может быть определено.



Для учета двойных обменов нужно иметь маркер между генами **A** и **C**. В нашем примере маркером двойного кроссинговера является ген **B**. Поэтому к сумме одиночных кроссоверов (41,1%) прибавляют удвоенный процент двойных кроссоверов ($2,7 \times 2 = 5,4\%$), в результате чего получается общее расстояние $41,1 + 5,4 = 46,5\%$. Удвоение процента двойных кроссоверов необходимо в связи с тем, что каждый двойной кроссинговер возникает благодаря двум независимым одиночным разрывам в двух точках.

3.2.4. Интерференция

Установлено, что в опыте процент двойных кроссоверов оказывается ниже теоретически ожидаемого. Одной из

причин является подавление второго обмена участками хромосом вблизи пункта, в котором один обмен уже произошел. Особенно сильно это сказывается, если гены расположены близко друг к другу.

Если гены **A**, **B** и **C** (см. Табл. 3.1.) расположены близко друг к другу, то одиночный обмен на участке между генами **A** и **B** подавляет таковой на участке между генами **B** и **C**. По мере удаления гена **C** возможность второго обмена увеличивается. Интерференция - это явление, сущность которого заключается в том, что кроссинговер, произошедший в одном участке хромосомы, препятствует другому кроссинговеру в близлежащих участках. Открыл его Г. Меллер в 1916 году. Если кроссинговер, произошедший в одном участке хромосомы, препятствует образованию другого обмена в близлежащих участках, то это положительная интерференция. Очень редко бывает отрицательная интерференция, когда кроссинговер усиливается. В выше приведенном примере с генами **ABC**, **A** и **B** разделены расстоянием 17,9 морганид, а **B** и **C** - 28,6 морганид. Если обмены на участке **AB** и **BC** происходят как независимые и случайные события, то вероятность двойного кроссинговера между генами **A** и **C** должна быть произведением вероятностей на участке **AB** (17,9) и **BC** (28,6), т.е. $17,9 \times 28,6 = 5,12\%$.

Однако, в опыте получено всего 14 особей (2,68%). Это снижение происходит за счет интерференции.

Измеряют интерференцию отношением наблюдаемого числа

двойных обменов к числу теоретически ожидаемых. Это отношение называют коинцидентией, т.е. величиной совпадения, в данном случае $2,68/5,12=0,52$ или 52%. На небольшом расстоянии, где имеет место влияние одного гена на другой, величина совпадения будет меньше единицы.

Влияние интерференции является свойством района хромосомы. (Дополнительные данные о кроссинговере и интерференции см. Кушев, 1971; Жученко, Король, 1985; Ashburner, 1989, pp. 468-471; Чадов, Бузыкканова, 1996).

С помощью кроссинговера гены можно расположить в определенном порядке, а величина кроссинговера

позволяет расставить их на определенном относительном расстоянии друг от друга в результате чего получается генетическая карта (см. более подробно раздел 5.5.1.).

3.2.5. Цитологические доказательства кроссинговера

В начале 30-х годов К. Штерн получил линии дрозофилы, имеющие половые хромосомы, отличимые друг от друга на цитологическом уровне. У самки на одну из X-хромосом был перенесен небольшой фрагмент Y-хромосомы, что придало ей специфическую Г-образную форму, легко различимую под микроскопом. Вторая X-хромосома была короче нормальной, так как часть ее была перенесена на IV хромосому (Рис. 3.2.).

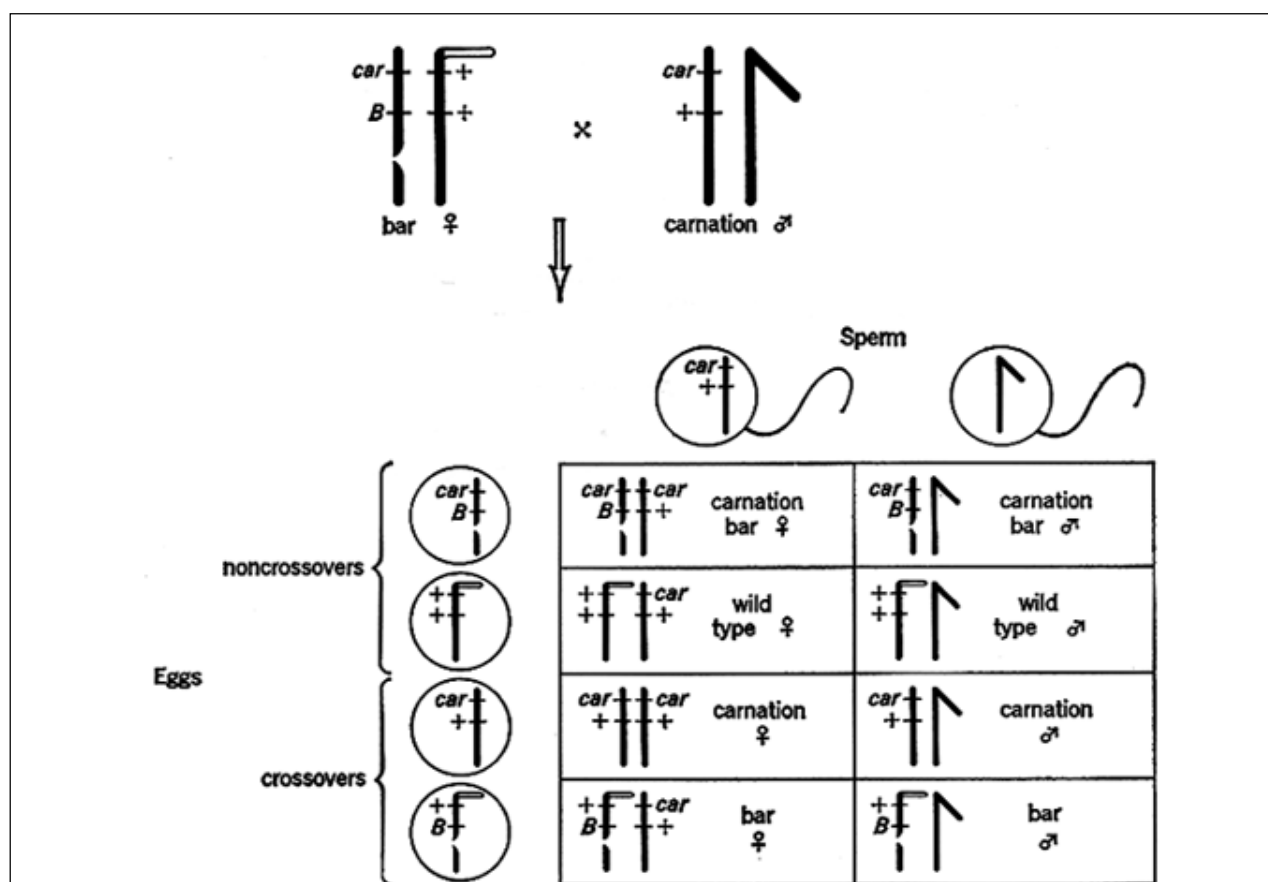


Рис. 3.2. Схема опыта по цитологическому доказательству кроссинговера на *D. melanogaster* (из: Stern, 1931)

Были получены самки, гетерозиготные по двум указанным морфологически различным X-хромосомам и одновременно по двум генам *Bar* (*B*) и *carnation* (*car*). Мутанты *Bar* имеют полосковидные глаза, у мутантов *car* - окраска глаз цвета красной гвоздики. Г-образная X-хромосома несла аллели дикого типа B^+ и car^+ , укороченная хромосома - мутантные аллели *B* и *car*.

Этих самок скрещивали с самцами, имевшими морфологически нормальную X-хромосому, несущую аллели *car* и B^+ .

В потомстве самок было два класса мух с некроссоверными хромосомами: *car*

B/car B^+ и $car^+B^+/car B^+$ и два класса мух, фенотип которых соответствовал кроссоверам: $car B^+/car B^+$ и $car^+ B/car B^+$.

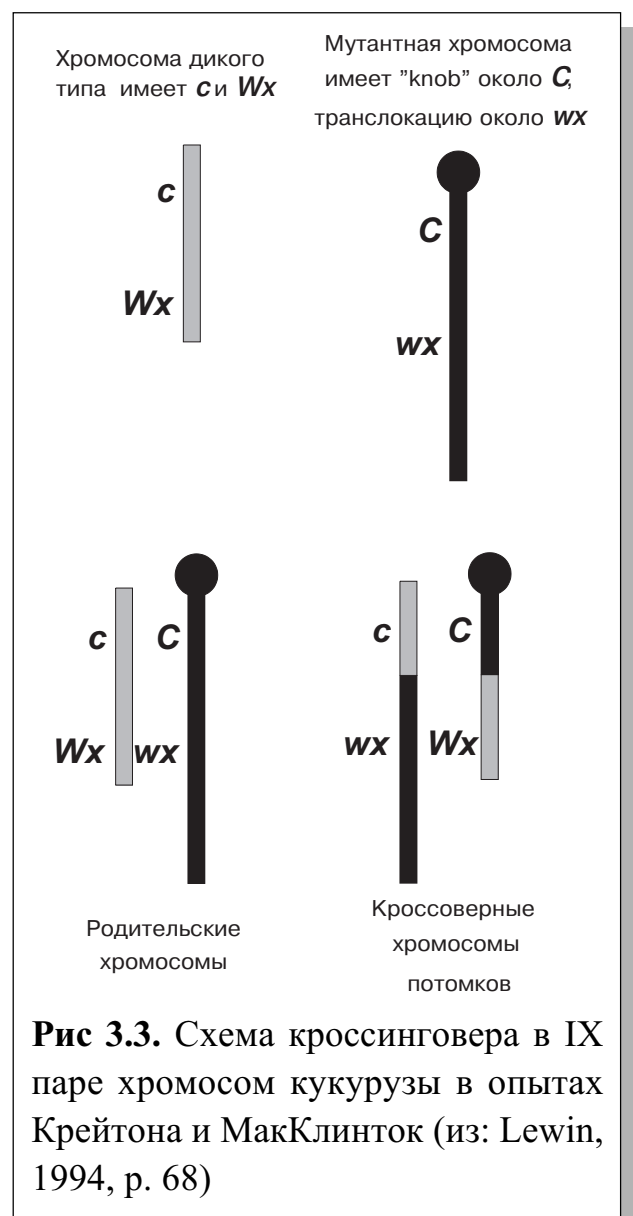
Цитологический анализ 374 препаратов самок показал, что в 369 случаях кариотип соответствовал ожидаемому. Все четыре класса самок имели по одной нормальной, т.е. палочковидной X-хромосоме, полученной от отца. Кроссоверные (т.е. $B car^+$ по фенотипу) самки содержали двухплечую Г-образную X-хромосому.

Эти результаты подтвердили гипотезу Т.Х. Моргана и его сотрудников о том, что кроссинговер представляет собой обмен участками гомологичных хромосом и что гены действительно локализованы в хромосомах.

Аналогичные результаты были получены на кукурузе (Рис. 3.3.).

Г. Крейтон и Б. МакКлинтон получили линию, в которой хромосомы IX пары у кукурузы оказались цитологически различными (гетероморфными). Одна была нормальной и несла гены *c* (неокрашенный эндосперм) и *Wx* (крахмалистый эндосперм), другая несла knob (утолщение) одного плеча, другое плечо было длиннее. Эта хромосома была помечена генами *C* (окрашенный эндосперм) и *wx* (восковидный эндосперм).

В этом скрещивании обнаружили, что кроссоверные зерна неизменно содержали IX хромосому с обменявшимися участками: хромосому нормальной длины, но с утолщением, или хромосому без утолщения, но удлинненную.



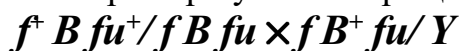
3.2.6. Неравный кроссинговер

Обычно кроссинговер - очень точный процесс и основа этого в молекулярной гомологии участков хромосом, вступающих в кроссинговер. В результате при кроссинговере происходит обмен равными участками хромосом с равным количеством генов.

В редких случаях наблюдаются разрывы не в тождественных участках - это неравный кроссинговер.

Обычно глаза дрозофилы дикого типа имеют 800 фасеток, у особей *Bar B/+* фасеток около 350, у *B/B* число фасеток снижается до 70, а у мутанта “двойной *Bar*” (*BB*) число фасеток достигает 50 у гетерозиготы *BB/+* и 25 у гомозиготы *BB/BB* (рис. 3.4.).

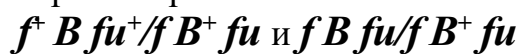
Альфред Стертевант предположил в 1925 году, что фенотипическое проявление гена *B* связано не с изменением самого гена, а с изменением его количества или дозы путем неравного кроссинговера. В результате скрещивания



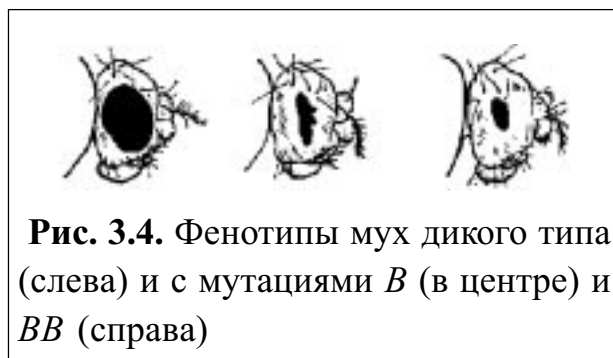
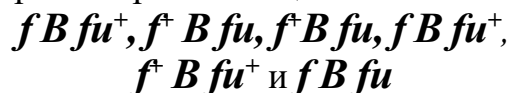
(*f* - *forked*, *fu* - *fused*)

были получены следующие потомки:

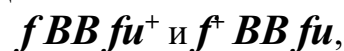
1. Некроссоверные самки:



2. Кроссоверные самцы:



3. Кроме того, изредка появлялись самцы “двойной *Bar*”:



а также мухи с нормальными глазами:



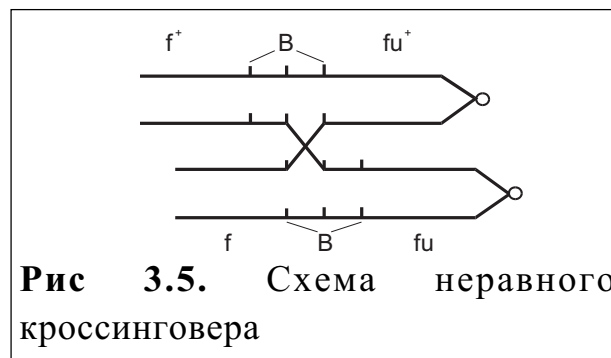
Стертевант предположил, что появление *BB* или *B⁺* фенотипов связано с изменением дозы гена за счет обмена гомологичных хромосом не совсем одинаковыми участками (рис. 3.5.).

При образовании кроссоверных гамет происходит увеличение дозы одной части локуса *B* - *f⁺ BB fu* и потеря части локуса *B* у кроссоверов *f B⁺ fu⁺*.

В политенных хромосомах ген *Bar* находится в диске 16A1-2 в хромосомах дикого типа, у мутантов *Bar* этот район хромосомы дуплицирован, а у мутантов *BB* - утроен. Три группы цитологов установили этот факт независимо друг от друга: Г. Меллер, А.А. Прокофьева-Бельговская и К.В. Косиков в одной лаборатории, Е.Н. Волотов - в другой, а также К. Бриджес в США.

Таким образом, вследствие неравного кроссинговера участок одной из гомологичных хромосом может удвоиться или утроиться, а в другой гомологичной хромосоме теряется фрагмент.

Аналогичное удвоение участка хромосомы было обнаружено на хромосомах кукурузы.



3.2.7. Митотический (соматический) кроссинговер

До сих пор мы рассматривали обмены участками хромосом, происходящие в ходе мейоза. Однако, как выяснилось, кроссинговер может происходить и в соматических клетках в ходе митоза.

Гомологичные хромосомы в интерфазе конъюгируют и входят в митотическое деление спаренными. Соматический кроссинговер может быть обнаружен, если он осуществляется на стадии четырех хроматид (Рис. 3.6.).

У самки дрозофилы, гетерозиготной по двум аллелям гена w (*white* - белые глаза и w^{co} - глаза цвета коралла), глаза розового цвета. Во время митоза, когда образуются четыре хроматиды, они могут перекрещиваться. Если в это время клетки подвергаются какому-либо сильному воздействию, например, облучаются рентгеновскими лучами, может произойти обмен фрагментами несестринских хроматид. В результате в одной из дочерних клеток попадут хромосомы, которые несут

аллель w , а в другую - w^{co} и образуются две клетки, генотипы которых различаются. На фоне общего розового цвета глаз, характерного для гетерозигот w/w^{co} , появляется одна клетка белого цвета и одна темно-красного. Две клетки, возникшие как следствие одного митоза, при последующем размножении дадут два вида пятен, примерно равных по размеру и проявляющих два разных рецессивных признака. Наличие таких пятен свидетельствует о происшедшем митотическом кроссинговере.

3.2.8. Факторы, влияющие на кроссинговер

На частоту кроссинговера влияют: а) внешние условия (температура и др.), б) стадии развития (возраст), в) пол, г) генотип (определенные гены или структурные изменения хромосом).

Кроссинговер обнаружен почти у всех изученных видов животных и растений (см. более подробно в кн. Лобашев, 1967, стр. 277-283), однако формирование обменов хромосом зависит от пола, например, у самцов дрозофилы и самок шелкопряда (оба



пола гетерогаметные) кроссинговер не происходит.

Увеличение частоты кроссинговера обеспечивает дополнительная Y хромосома у самок дрозофилы. Увеличение небольшое, на 2-3% (см. Ashburner, 1989, p. 463).

Вдоль хромосомы частоты генетической рекомбинации распределяются нелинейно, исключая средние части плеч хромосом (рис. 3.7.), т.е. общая организация хромосомы сильно влияет на общую частоту обменов.

Возраст самки так же сильно влияет на частоту кроссинговера (рис. 3.8.).

Сильным фактором, влияющим на протекание обменов, является

температура. Так, у дрозофилы в интервале *b-pr*, при 13°C происходит 13,53% обменов, при 22°C - 6,4%, при 32°C - 15,79%.

Острое воздействие высокой температурой, например, тепловой шок при 35°C на стадии 12 час куколки дрозофилы приводит к огромному увеличению частоты обменов. На участке между генами *lt* и *stw* при 25°C нормальной для дрозофилы температуры - выявлены низкая частота обменов 0,05%. После теплового шока она возрастает более чем в 30 раз (т.е. достигает значения 1,7%).

Обнаружены и другие факторы, влияющие на частоты перекреста, такие как дополнительные хромосомы в геноме, хромосомные перестройки и т.д. (см. детали у: Ashburner, 1989, p. 454-460).

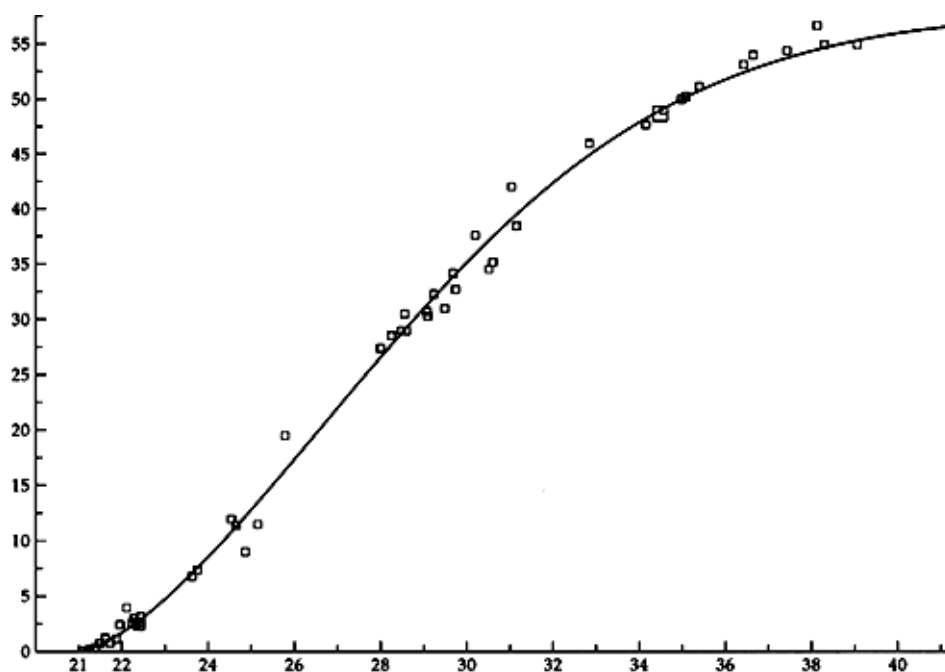


Рис. 3.7. Кривая, характеризующая частоты кроссинговера в левом плече второй хромосомы *D. melanogaster*. По оси абсцисс - положение локуса на цитологической карте политенных хромосом. 21-40 - подразделения цитологической карты. По оси ординат - положение локуса на генетической карте (в сМ). (Из: Ashburner, 1989, p. 454)

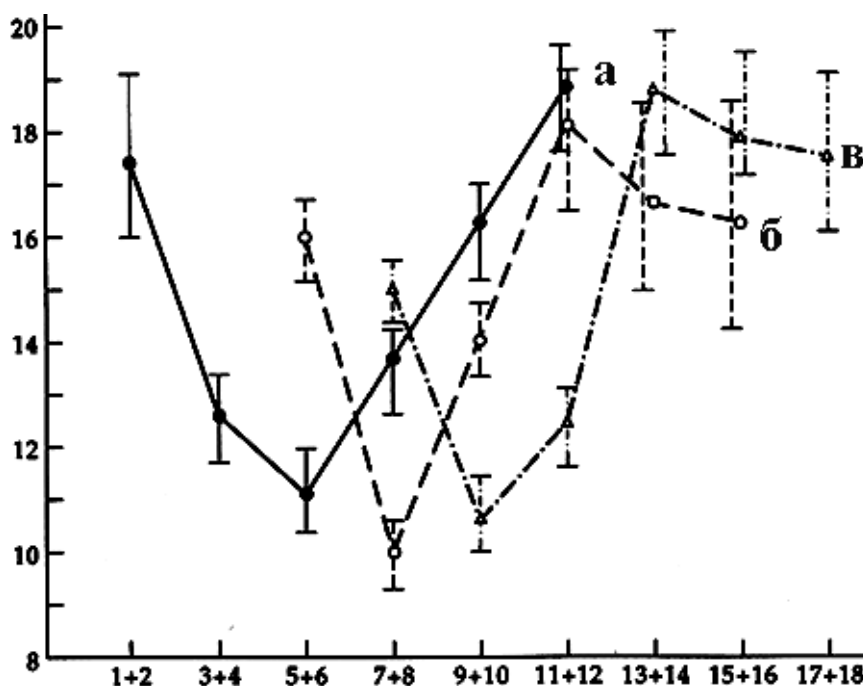


Рис. 3.8. Влияние возраста самки на частоту кроссинговера между генами *st* и *Sb* у дрозофилы. Самок скрещивали с самцами сразу после вылупления (кривая “а”), через 5-6 дней после вылупления (“б”), или после 6 дней (“в”). По оси абсцисс: возраст самок после вылупления (в днях), по оси ординат: частота рекомбинации на участке *st - Sb*. (Из: Ashburner, 1989, p. 460)

Литература

Гершкович И. Генетика. Москва, Наука, 1-702, 1968.

Захаров И.А. Генетические карты высших организмов. Ленинград, 1979.

Жученко А.А., Король А.Б. Рекомбинация в эволюции и селекции. Москва, Наука, 1-400, 1985.

Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. Москва, Высшая школа, 1-592, 1989.

Кушев В.В. Механизмы генетической рекомбинации. Ленинград, Наука, 1-97, 1971.

Лобашев М.Е. Генетика. Ленинград, Изд-во ЛГУ, 1-751, 1967.

Синнот Э., Денн Л. Курс генетики: теория и задачи. Москва-Ленинград, Гос. изд. биол. мед. лит. 6 1-430, 1934.

Чадов Б.Ф., Бузыканова Г.Н. Механизм хромосомной интерференции. Докл. АН 348, N3, 407-409, 1996.

Ashburner M. *Drosophila*. A laboratory handbook. Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1-1331, 1989.

Lindsley D.L., and Zimm G.G. The genome of *Drosophila melanogaster*. Academic Press, San Diego, New York, Boston, London, 1-1133, 1992.

O'Brien S. Genetic maps. Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Laboratory Press, V. 2, 1-405, 1982.

Stern C. Biol. Zentral., V. 51, P. 586, 1931