ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ЛЕКЦИИ ПО БИОЛОГИИ.
ЧАСТЬ I. ЦИТОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

Уфа
2015

УДК 57(075.32)
ББК 28.0я723
Б 63

Рецензенты:
Д.м.н., профессор, зав. кафедрой медицинской биологии и генетики ГБОУ ВПО «Казанский ГМУ» МЗ РФ *Р.Р. Исламов*
Д.б.н., профессор, зав. отделом геномики Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН *Э.К. Хуснутдинова*

Б 63 **Лекции по биологии. Часть I. Цитология и генетика** / Т.В. Викторова, Ф.Ф. Мусыргалина, Г.И. Лукманова (под ред. проф. Т.В. Викторовой). – Уфа: Изд-во ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, 2015. - 223 с., ил.

Учебное пособие «Лекции по биологии» подготовлено в соответствии с требованиями ФГОС ВО по дисциплине «Биология» на основании рабочей программы (2014 г.), действующего учебного плана (2014 г.) и основано на обобщении опыта чтения лекций по биологии для студентов БГМУ.

В первой части освещены вопросы организации биологических систем на молекулярном, клеточном и организменном уровнях. Существенное внимание уделено значимости современных достижений в области биологии и генетики для развития современной медицины.

Учебное пособие предназначено для самостоятельной внеаудиторной работы студентов, обучающихся по специальностям Лечебное дело и Педиатрия для изучения дисциплины Биология.

Рекомендовано в печать Координационным научно-методическим советом и утверждено решением Редакционно-издательского совета ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России.

УДК 57(075.32)
ББК 28.0я723

© ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, 2015

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ…….. 4-7

Лекция 1. БИОЛОГИЯ – НАУКА О ЖИВОЙ ПРИРОДЕ. ФОРМЫ ЖИВОГО…… 8-21

Лекция 2. КЛЕТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИВОГО. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МЕМБРАНЫ И ЦИТОПЛАЗМЫ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК…….. 22-33

Лекция 3. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ КЛЕТОЧНОГО ЯДРА. КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ И СПОСОБЫ РЕПРОДУКЦИИ КЛЕТОК…… 34-61

Лекция 4. БИОЛОГИЯ ИНДИВИДУАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ: ЭМБРИОНАЛЬНЫЙ И ПОСТЭМБРИОНАЛЬНЫЙ ПЕРИОДЫ……. 62-90

Лекция 5. ГЕННЫЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ НАСЛЕДСТВЕННОГО МАТЕРИАЛА……. 91-112

Лекция 6. ОСНОВНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ НЕЗАВИСИМОГО НАСЛЕДОВАНИЯ ГЕНОВ И ПРИЗНАКОВ…… 113-131

Лекция 7. ОСНОВНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ. ГЕНЕТИКА ПОЛА…… 132-142

Лекция 8. ФОРМЫ ИЗМЕНЧИВОСТИ. МОДИФИКАЦИОННАЯ И ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ…… 143-168

Лекция 9. ЧЕЛОВЕК КАК ОБЪЕКТ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА……. 169-202

Лекция 10. МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ. ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ…….. 203-220

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА…… 221-222

Медицина, взятая в плане теории, – это, прежде всего, общая биология

академик Академии медицинских наук СССР

И.В. Давыдовский

ВВЕДЕНИЕ

Современная медицина характеризуется стремительным накоплением новой информации о фундаментальных и системных основах жизнедеятельности. Необходимым условием прогресса современной медицины является высокий уровень развития общебиологических и экологических дисциплин, таких как цитология, генетика, эволюционное учение, паразитология и экология. В предложенном вашему вниманию учебном пособии по биологии основное место отведено описанию общебиологических закономерностей, свойственных всем живым организмам. Вместе с тем, авторы старались раскрыть эти процессы с учетом особенностей организма человека, поскольку изучение человека как биосоциального субъекта с акцентом на его биологические характеристики, представляет первостепенную значимость для формирования медицинского мышления у студентов первого курса медицинских и биологических вузов.

Учебное пособие «Лекции по биологии» состоит из 2-х частей:

Часть I. Цитология и генетика.

Часть II. Медицинская паразитология. Общебиологические закономерности филогенеза и эволюции живого.

В первой части освещены основные свойства жизни и эволюционные процессы на молекулярно-генетическом и онтогенетическом уровнях. Особое внимание уделяется характеристике наследственного материала прокариот и эукариот, проблемам генетического груза популяций и генетической предрасположенности людей к многофакторным заболеваниям. В лекциях, посвященных антропогенетике, большое внимание уделяется последним достижениям медицинской генетики, рассматриваются самые современные методы и подходы генетического анализа и медико-генетического консультирования.

Вторая часть посвящена вопросам синэкологии и медицинской паразитологии. Здесь рассматриваются экологические аспекты паразитизма, а также отражены вопросы этиологии, патогенеза, клиники, диагностики и профилактики инвазионных заболеваний. Здесь раскрыты вопросы филогенеза, эволюции и экологии биологических систем. Существенное внимание уделено описанию влияния экологических факторов на организм человека. С учетом современных требований медицины затронуты проблемы гомеостаза и регенерации.

Отличительной чертой пособия является включение региональных особенностей распространения наследственных заболеваний и паразитарных инвазий. Отмечены природно-очаговые паразитарные заболевания, характерные для Южного Урала и Республики Башкортостан.

Учебное пособие содержит обширный иллюстрационный материал, включающий 120 рисунков. Рисунки, ссылки на которые содержатся в тексте пособия, оформлены в электронном виде на отдельном диске (прилагается к печатному изданию).

Изучение учебного пособия направлено на формирование следующих компетенций:

общекультурные компетенции (ОК):

- способность к абстрактному мышлению, анализу, синтезу (ОК-1);
- готовность к саморазвитию, самореализации, самообразованию, использованию творческого потенциала (ОК-5);
- готовность к работе в коллективе, толерантно воспринимать социальные, этнические, конфессиональные и культурные различия (ОК-8).

общепрофессиональные компетенции (ОПК):

- готовность решать стандартные задачи профессиональной деятельности с использованием информационных, библиографических ресурсов, медико-биологической терминологии, информационно-коммуникационных технологий и учетом основных требований информационной безопасности (ОПК-1);
- готовность к коммуникации в устной и письменной формах на

русском и иностранном языках для решения задач профессиональной деятельности (ОПК-2);

- способность и готовность анализировать результаты собственной деятельности для предотвращения профессиональных ошибок (ОПК-5);
- готовность к ведению медицинской документации (ОПК-6);
- готовность к использованию основных физико-химических, математических и иных естественнонаучных понятий и методов при решении профессиональных задач (ОПК-7);
- готовность к медицинскому применению лекарственных препаратов и иных веществ и их комбинаций при решении профессиональных задач (ОПК-8);
- способность к оценке морфофункциональных, физиологических состояний и патологических процессов в организме человека для решения профессиональных задач (ОПК-9).

профессиональные компетенции (ПК):

в профилактической деятельности:

- способность и готовность к осуществлению комплекса мероприятий, направленных на сохранение и укрепление здоровья и включающих в себя формирование здорового образа жизни, предупреждение возникновения и (или) распространения стоматологических заболеваний, их раннюю диагностику, выявление причин и условий их возникновения и развития, а также направленных на устранение вредного влияния на здоровье человека факторов среды его обитания (ПК-1);

в диагностической деятельности:

- готовность к сбору и анализу жалоб пациента, данных его анамнеза, результатов осмотра, лабораторных, инструментальных, патологоанатомических и иных исследований в целях распознавания состояния или установления факта наличия или отсутствия заболевания (ПК-5);
- способность к определению у пациентов основных патологических состояний, симптомов, синдромов стоматологических заболеваний, нозологических форм в соответствии с Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем (МКБ) (ПК-6);

в лечебной деятельности:

- способность к определению тактики ведения больных с различными заболеваниями (ПК-8);
- готовность к ведению и лечению пациентов в амбулаторных условиях и условиях дневного стационара (ПК-9);

в реабилитационной деятельности:

- готовность к определению необходимости применения природных лечебных факторов, лекарственной, немедикаментозной терапии и других методов у пациентов, нуждающихся в медицинской реабилитации и санаторно-курортном лечении (ПК-11);

в психолого-педагогической деятельности:

- готовность к обучению населения основным гигиеническим мероприятиям оздоровительного характера, навыкам самоконтроля основных физиологических показателей, способствующим сохранению и укреплению здоровья, профилактике заболеваний (ПК-12);
- готовность к просветительской деятельности по устранению факторов риска и формированию навыков здорового образа жизни (ПК-13);

в организационно-управленческой деятельности:

- способность к применению основных принципов организации и управления в сфере охраны здоровья граждан, в медицинских организациях и их структурных подразделениях (ПК-14);

в научно-исследовательской деятельности:

- готовность к анализу и публичному представлению медицинской информации на основе доказательной медицины (ПК-17);
- способность к участию в проведении научных исследований (ПК-18);
- готовность к участию во внедрении новых методов и методик, направленных на охрану здоровья граждан (ПК-19).

При подготовке настоящего пособия использован многолетний опыт преподавания биологии в Башкирском государственном медицинском университете. Авторы выражают искреннюю благодарность рецензентам и будут рады всем высказанным замечаниям и пожеланиям.

Лекция 1

БИОЛОГИЯ – НАУКА О ЖИВОЙ ПРИРОДЕ. ФОРМЫ ЖИВОГО

ПЛАН ЛЕКЦИИ:

1. БИОЛОГИЯ – НАУКА О ЖИВОЙ ПРИРОДЕ.

2. ЗНАЧЕНИЕ БИОЛОГИИ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ.

3. СВОЙСТВА ЖИВОГО.

4. УРОВНИ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИВОГО.

5. ФОРМЫ ЖИВОГО.

6. ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ.

БИОЛОГИЯ – НАУКА О ЖИВОЙ ПРИРОДЕ. ЗНАЧЕНИЕ БИОЛОГИИ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ

Биология (от лат. ***bios*** – жизнь, ***logos*** – учение) – наука, которая изучает жизнь как особую форму движения материи, законы ее существования и развития. Термин «биология» был впервые предложен французским естествоиспытателем Ж.-Б. Ламарком в 1802 г. для обозначения науки о жизни, как особом явлении природы.

Биология зародилась в античное время (Гиппократ, Аристотель, Гален), однако свое название получила только в 1802 г., когда этот термин в современном его толковании был предложен французским ученым Ж.Б. Ламарком и немецким исследователем Г.Р. Тревиранусом.

Первые сведения о живых существах человек начал собирать с тех пор, как выделил себя из окружающей природы, осознавая свое отличие от ее объектов. Из сохранившихся литературных памятников известно, что уже древние индейцы, вавилоняне, египтяне и другие народы немало знали о растениях и животных. В XIV в. в Месопотамии систематизировались знания о растениях, подразделявшихся на деревья, овощи, лекарственные травы и т. п., а также о плотоядных и травоядных животных, что следует из дошедших до нас клинописных табличек тех времен.

Изучение живой природы диктовалось двумя насущными потребностями человечества: потребностью познания растений и животных с целью удовлетворения своих нужд в растительной и животной пище и необходимостью познания тела человека с целью совершенствования древнейшего искусства врачевания.

Основной задачей биологии является изучение общих закономерностей развития живой природы, раскрытие сущности жизни, систематизация живых существ. Предметом биологии являются строение и жизнедеятельность живых организмов, происхождение, развитие и распространение живых существ на Земле, их связи друг с другом и с неживой природой.

В развитии биологии условно выделяют три основных этапа:

Первый этап – разработка классификации и систематика живого. Большой вклад в развитие биологии внес Карл Линней, предложивший систему классификации животных и растений, Карл Максимович Бэр (1792–1876) в своих работах сформулировал основные положения теории гомологичных органов и закона зародышевого сходства, заложившие научные основы эмбриологии, в 1808 г. в работе «Философия зоологии» Жан Батист Ламарк поставил вопрос о причинах и механизмах эволюционных преобразований и изложил первую по времени теорию эволюции.

Второй этап – становление эволюционного учения. На основе многочисленных наблюдений Ч. Дарвин опубликовал в 1859 г. свой основной труд «О происхождении видов путем естественного отбора или Сохранении благоприятствуемых пород в борьбе за жизнь», в котором сформулировал основные положения теории эволюции, предложил механизмы эволюции и пути эволюционных преобразований организмов.

Третий этап – развитие микробиологии. В XIX в. благодаря работам Луи Пастера (1822–1895), Роберта Коха (1843–1910), Ильи Ильича Мечникова в качестве самостоятельной науки оформилась микробиология. К концу XIX в. как отдельные науки выделились паразитология и экология.

XX век начался с переоткрытия законов Грегора Менделя, что ознаменовало собой начало развития генетики как науки.

В 40–50-е годы XX в. в биологии стали широко использоваться идеи

и методы физики, химии, математики, кибернетики и других наук, а в качестве объектов исследования – микроорганизмы. В результате возникли и стали бурно развиваться как самостоятельные науки биофизика, биохимия, молекулярная биология, радиационная биология, бионика и др. Исследования в космосе способствовали зарождению и развитию космической биологии. В XX в. появилось направление прикладных исследований – биотехнология.

В настоящее время условно можно выделить три направления в биологии.

Первое направление – это *классическая биология.* Ее представляют ученые-натуралисты, изучающие многообразие живой природы. Они объективно наблюдают и анализируют все, что происходит в живой природе, изучают живые организмы и классифицируют их.

Второе направление – это *эволюционная биология*. В настоящее время изучение эволюции живых организмов активно продолжается. Синтез генетики и эволюционной теории привел к созданию так называемой синтетической теории эволюции. Но и сейчас еще есть много нерешенных вопросов, ответы на которые ищут ученые-эволюционисты.

Третье направление – *физико-химическая биология*, исследующая строение живых объектов при помощи современных физических и химических методов. Это быстро развивающееся направление биологии, важное как в теоретическом, так и в практическом отношении. Можно с уверенностью говорить, что в физико-химической биологии нас ждут новые открытия, которые позволят решить многие проблемы, стоящие перед человечеством.

В настоящее время биологические знания используются во всех сферах человеческой деятельности: в промышленности и сельском хозяйстве, медицине и энергетике. Чрезвычайно важное значение имеют экологические исследования. Перед человечеством встала грандиозная задача – сохранение биосферы с целью поддержания условий существования и развития цивилизации. Без биологических знаний и специальных исследований решить ее невозможно.

Современная биология представляет собой комплекс естественных наук, изучающих живую природу. Так, биология тесно связана с химией, физикой, математикой и другими науками. На стыке наук получили развитие биохимия, биофизика, физиология и другие. Биология является теоретической базой медицинской генетики, микробиологии, иммунологии, паразитологии, непосредственно связанных с медициной.

Все биологические науки можно подразделить на следующие группы:

- общебиологические (цитология, генетика, эволюционное учение и др.);
- морфологические дисциплины (например: анатомия, гистология, патологическая анатомия);
- физиологические (физиология растений, животных, нормальная физиология, патологическая физиология);
- экологические (экология, биогеография, паразитология);
- пограничные (биохимия, биофизика, молекулярная биология и др.).

ЗНАЧЕНИЕ БИОЛОГИИ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ

Многие биологические науки являются основой теоретической и практической медицины. Так, на основе морфологических наук (анатомия, гистология, цитология) успешно развивается патологическая анатомия, а на основе физиологии, биохимии и генетики – патологическая физиология. Эпидемиология своими успехами обязана зоологии, паразитологии, бактериологии, вирусологии. Становление акушерства было тесно связано с эмбриологией. На успехах анатомии, физиологии и биохимии основывались многие достижения терапии и хирургии. С учетом этого нет необходимости в специальном объяснении роли изучения биологических наук в подготовке врача. Познание закономерностей развития патологических процессов, диагностика, лечение и профилактика заболеваний немыслимы без знания о строении и жизнедеятельности клеток, тканей, органов и целостного организма человека в норме, без знания закономерностей наследственности и изменчивости, а также приспособляемости организма человека к изменяющимся условиям внешней среды.

В настоящее время современная биология находится на полосе открытий, значение которых трудно переоценить. Это, прежде всего, успехи, связанные с развитием генетики, а именно, расшифровка генома человека, клонирование, успехи в пересадке органов и работы со стволовыми клетками. Сегодня смело можно утверждать, что во многом от успехов биологии будут зависеть перспективы будущего развития всего человечества.

Роль биологии в системе подготовки врача определяется формированием общекультурных, общепрофессиональных и профессиональных компетенций, системных фундаментальных знаний, умений и навыков по общим биологическим закономерностям, представляющих наибольший интерес для практического здравоохранения, в подготовке студентов к системному восприятию общемедицинских, социальных и клинических дисциплин и формировании у них естественнонаучного мировоззрения, логики биологического мышления, необходимых для последующей практической деятельности врача

СВОЙСТВА ЖИВОГО

Основной задачей биологии является познание сущности жизни. Вопрос этот сложный и ответить на него пытались многие ученые - естествоиспытатели, философы древности, начиная с Аристотеля.

Рассмотрим *основные свойства живых организмов, отличающие их от объектов неживой природы* и выделяющие живое вещество в особую форму существования материи.

1. Живые организмы характеризуются сложной упорядоченной структурой. Создание порядка – важнейшее свойство живого. Упорядоченность в пространстве сопровождается упорядоченностью во времени. Уровень их организации значительно выше, чем в неживых системах. По химическому составу в живом 98% приходится на четыре элемента: углерод, кислород, азот и водород. Строительный материал структур живого в большинстве состоит из регулярных полимеров: ДНК и РНК, белков, жиров и углеводов.

2. Раздражимость – универсальное свойство всего живого, как растений, так и животных, связана с передачей информации извне в любую биологическую систему и отражает реакцию этой системы на внешний раздражитель. Это свойство лежит в основе приспособления организмов к изменяющимся условиям окружающей среды. Благодаря раздражимости живые организмы способны избирательно реагировать на условия внешней среды и извлекать из нее только необходимое для своего существования. С раздражимостью связана саморегуляция живых систем по принципу обратной связи: продукты жизнедеятельности способны оказывать тормозящее или стимулирующее воздействие на те ферменты, которые стояли в начале длинной цепи химических реакций;

3. Все живые организмы – открытые биологические системы. Живые системы не могут существовать без притока из внешней среды энергии, в первую очередь энергии солнечного света и энергии химических связей компонентов пищи. Энергетическая открытость живого предполагает непрерывный обмен веществ между организмом и окружающей средой.

4. Наследственность – свойство живых организмов передавать свои признаки и особенности развития в ряду поколений, которые обеспечивают приспособление к среде обитания;

5. Изменчивость – способность живых организмов приобретать новые признаки и свойства в процессе индивидуального развития, в зависимости от условий среды. В первую очередь изменчивость связана с ошибками при репродукции: изменения в структуре нуклеиновых кислот приводят к появлению новой наследственной информации. Появляются новые признаки и свойства. Если они полезны для организма в данной среде обитания, то они подхватываются и закрепляются естественным отбором. Создаются новые формы и виды. Таким образом, изменчивость создает предпосылки для видообразования и эволюции.

6. Самовоспроизведение – способность создавать себе подобных, т.е. способность к размножению и репродукции. Самовоспроизведение обеспечивает преемственность между сменяющимися генерациями биологических систем. Это свойство связано с потоками информации, заложенной в

структуре нуклеиновых кислот. В связи с этим живые структуры постоянно воспроизводятся и обновляются, не теряя при этом сходства с предыдущими поколениями (несмотря на непрерывное обновление вещества). Нуклеиновые кислоты способны хранить, передавать и воспроизводить наследственную информацию, а также реализовывать ее через синтез белков. Информация, хранимая на ДНК, переносится на молекулу белка с помощью молекул РНК.

7. Самообновление связано с потоком вещества и энергии. Основу обмена веществ составляют сбалансированные и четко взаимосвязанные процессы ассимиляции (анаболизм, синтез, образование новых веществ) и диссимиляции (катаболизм, распад). В результате ассимиляции происходят обновление структур организма и образование новых его частей (клеток, тканей, частей органов). Диссимиляция определяет расщепление органических соединений, обеспечивает клетку пластическим веществом и энергией. Для образования нового нужен постоянный приток необходимых веществ извне, а в процессе жизнедеятельности (и диссимиляции, в частности) образуются продукты, которые нужно вывести во внешнюю среду.

8. Саморегуляция. Биологические системы, получая необходимую информацию, осуществляют саморегуляцию всех протекающих в них биологических процессов и явлений. Саморегуляция живых систем обеспечивает их гомеостаз – относительное постоянство химического состава, структуры и свойств. В каких бы условиях среды ни оказывался живой организм, какие бы вещества ни поступали внутрь живых систем, организмы всегда будут сохранять благодаря гомеостатическим механизмам постоянство состава, структуры и свойств.

9. Дискретность и целостность.Жизни как явлению свойственны непрерывность (целостность) и прерывность (дискретность), присущие как структуре, так и функции. Например, материальный субстрат наследственности целостен, т. к. представлен молекулой нуклеиновой кислоты. Но нуклеиновая кислота дискретна, т.к. состоит из двух полинуклеотидных цепей, дискретность которых, в свою очередь, заключается в образовании каждой нуклеотидами. Процесс реализации наследственной информации

непрерывен и в то же время дискретен, т. к. состоит из транскрипции и трансляции.

10. Иерархическая соподчиненность – последовательное и строго упорядоченное усложнение организации живого. Под **иерархией** (от греч. hieros – священный, arche– власть) понимают расположение элементов целого ступенчатым рядом – от низшего к высшему. На каждом новом уровне организации появляются новые (эмерджентные) свойства.

Только совокупность всех данных свойств может характеризовать живое. Из совокупности этих признаков вытекает следующее обобщенное определение сущности живого: жизнь – есть форма существования сложных, открытых систем, способных к самоорганизации и самовоспроизведению.

УРОВНИ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИВОГО

Методологической основой биологии является **концепция структурных уровней организации** живой материи (от лат. organizo - придаю стройный вид). Согласно этой концепции, элементы, составляющие живую материю, образуют системы, находящиеся между собой в иерархической зависимости (соподчиненности). При этом каждый предшествующий уровень образует подсистемы в составе последующих. Все живое на планете Земля существует в виде дискретных единиц – организмов, каждый из которых, с одной стороны, состоит из единиц соподчиненных ему уровней организации, а с другой – сам является единицей, входящей в состав надорганизменных макросистем (популяций, биогеоценозов, биосферы).

Условно выделяют следующие основные уровни организации живой материи: молекулярный, субклеточный (органоиды), клеточный, тканевой, органный, организменный (онтогенетический), популяционно-видовой, биогеоценотический, биосферный (рис.1.1.).

Молекулярный уровеньявляется начальным (наиболее глубинным) уровнем организации живого, представлен биомолекулами, в первую очередь молекулами нуклеиновых кислот, белков, углеводов, липидов, стероидов и др. Элементарной единицей этого уровня является ген – участок

молекулы ДНК, в котором записан определенный объем генетической информации в виде генетического кода, передаваемый из поколения к поколению. Элементарное явление – воспроизведение генетического кода на основе редупликации (самовоспроизведения) молекулы ДНК. Молекулярный уровень организации живого является основным предметом новой биологической науки – *молекулярной биологии.*

Субклеточный уровень рассматривается переходным между молекулярным и клеточным уровнями. Дискретной единицей уровня являются надмолекулярные образования – мембраны, части органелл, органеллы и аппараты клетки. Элементарное явление – функции этих образований. Процессы жизнедеятельности этого уровня обеспечивают рост и дифференциацию клетки, самовосстановление и саморазрушение клеток.

Клеточный уровень представлен клетками как самостоятельных организмов (бактерии, простейшие), так и клетками многоклеточных организмов. Обладая способностью к матричному синтезу, питанию, дыханию, росту, развитию и т. п., клетка является основной формой организации живой материи, структурно-функциональной единицей жизни. Субклеточный и клеточный уровни жизни – специальный предмет изучения *цитологии, или клеточной биологии.*

Тканевый уровень возник в ходе эволюции в связи со становлением многоклеточности как следствие дифференциации клеток. Его дискретная единица – ткань объединяет клетки и их производные, характеризующиеся однородностью происхождения, сходством функции, расположения, а в ряде случаев и строения. На тканевом уровне происходит специализация новообразующихся клеток. Этот уровень организации жизни является предметом изучения науки о тканях – *гистологии.*

Органный уровень характеризует сложные многоклеточные живые системы. Дискретная единица уровня – орган представляет собой часть организма, имеющую определенную форму и выполняющую специфические функции. У более высокоорганизованных живых существ взаимосвязанные (в первую очередь общей функцией или биологической ролью в организме) органы формируют системы органов. Строение органов и систем

органов изучает *анатомия,* а процессы жизнедеятельности с их участием – *физиология.*

Организменный уровень представлен одноклеточными и многоклеточными организмами (элементарная единица – особь, организм). Элементарное явление – размножение и онтогенез, или индивидуальное развитие организмов. На этом уровне происходит реализация наследственной информации, обеспечивающая онтогенез – формирование и развитие фенотипа организма(всей совокупности его внешних и внутренних признаков). На организменном уровне осуществляется взаимодействие живого организма как единого целого с факторами внешней среды. В связи с тем, что жизнь представлена на Земле живыми организмами (особями, индивидуумами), организменный уровень изучается в разных аспектах многими биологическими науками(анатомия, физиология, онтогенетика, или биология развития, генетика и др.).

Популяционный уровень представлен минимальными группами особей, вовлеченными в эволюционный процесс – популяциями.Дискретная единица этого уровня – популяция является элементарной единицей эволюции.Объединение отдельных особей в популяции обеспечивает их приспособление, выживание, репродуктивный успех и успех в эволюции в целом. Популяционный уровень наряду с другими биологическими науками специально изучает молодая интенсивно развивающаяся наука – *популяционная биология.*

Видовой уровень представлен надпопуляционными объединениями особей – биологическими видами. Вид – реально существующая в природе группа особей. Основой существования вида является ничем не ограниченный половой процесс – свободное скрещивание особей вида между собой с образованием плодовитого потомства. Наряду с этим вид представляет собой единицу классификации живых организмов. Видовой уровень организации живых систем является предметом изучения *систематики, экологии* и др. биологических наук.

Биоценотический уровень представлен сообществами взаимозависимых организмов разных видов – биоценозами.В ходе эволюции сформи-

ровались биогеоценозы (экосистемы), в состав которых, кроме взаимозависимых организмов, входят абиотические факторы окружающей среды. Между теми и другими устанавливается подвижное равновесие, характеризующее экосистему в целом. На биоценотическом уровне осуществляются потоки веществ и энергии. Рассматриваемый уровень является предметом исследования бурно развивающейся биологической науки – *экологии.*

Биосферный уровень – высшая форма организации живых систем. Дискретной единицей уровня является биосфера.На биосферном уровне все биоценотические круговороты вещества и энергии объединяются в единый биосферный (глобальный) круговорот вещества и энергии. Биосферный уровень организации живого изучают многие биологические науки и, прежде всего, *экология,* а также созданная В.И. Вернадским в 1926 г. *наука о биосфере (учение о биосфере).*

Целостное представление о наиболее сложной биологической форме организации материи можно получить только при комплексном изучении жизни на всех отмеченных структурно-функциональных уровнях организации живого.

ФОРМЫ ЖИВОГО

Мир живого чрезвычайно многообразен и имеет сложную структуру. В настоящее время на Земле обнаружено около 3 миллионов разных видов живых организмов. Самое большое по разнообразию видов царство – животные. При этом интересно отметить, что 98% биомассы на Земле приходится на растения.

В настоящее время на Земле представлены следующие *формы живого*, которые принято разделять на *систематические категории:*

Империя: Клеточные и неклеточные организмы.

К неклеточным организмам относятся ***царства*** вирусов (растений, животных, бактерий).

От неживой материи вирусов (рис. 1.2.) отделяет наличие свойств: способность воспроизводить себе подобные формы (репродуцироваться), наследственность и изменчивость.

Находясь в клетке – хозяине, вирус представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты. В свободном состоянии вирусы находятся в форме *вириона* или *вироспоры,* которые состоят из белковой оболочки и нуклеокапсида, в котором сосредоточен генетический материал ДНК или РНК.

Группа вирусов, приспособившаяся к паразитированию в теле бактерий и вне этих клеток не проявляющая свойства жизни, получила название фагов. Многие фаги имеют головастикообразную форму, т.е. состоят из головки и хвоста. Фаги, проникая в определённые виды бактерий, размножаются и вызывают растворение (лизис) бактериальной клетки.

Иногда проникновение фагов в клетку не сопровождается лизисом бактерии, а ДНК фага включается в наследственные структуры бактерий и передаётся её потомкам. Это может продолжаться на протяжении многих поколений потомков бактериальной клетки, воспринявший фаг. Такие бактерии называются лизогенными. Под влиянием внешних факторов, особенно лучистой энергии, фаг в лизогенных бактериях начинает проявлять себя, и бактерии подвергаются лизису.

Бактериофаги – это важный объект научных исследований в области молекулярной биологии.

Клеточные организмы включают два ***надцарства***: Прокариоты и Эукариоты.

Основными отличиями строения и жизнедеятельности прокариотических клеток от эукариотических клеток являются следующие.

1. Клетка прокариот не имеет оформленного (ограниченного мембраной) ядра, наследственная информация в ней содержится в кольцевой молекуле ДНК. ДНК не заблокирована белками, в первую очередь гистонами, поэтому все гены в ней активны, т. е. постоянно функционируют. У эукариотических клеток имеется оформленное ядро, а генетический аппарат представлен молекулами ДНК в комплексе с белками – гистонами, упаковывающими ДНК в компактные структуры и регулирующими активность ее генов.

2. Цитоплазма прокариотической и эукариотической клеток окружена мембраной (плазмолеммой), однако у бактерий, растений и грибов сна-

ружи от плазмолеммы располагается клеточная стенка, образованная веществом полисахаридной природы – муреином (бактерии), целлюлозой (растения) или хитином (грибы). Клеточная оболочка животной клетки образована плазмолеммой, покрытой снаружи слоем гликокаликса.

3. В цитоплазме прокариотической клетки отсутствуют мембранные органеллы (митохондрии, пластиды, эндоплазматическая сеть, пластинчатый комплекс, лизосомы, пероксисомы), а ограниченное количество мембран представляет собой впячивания плазмолеммы внутрь цитоплазмы.

4. Синтез белка осуществляется свободными рибосомами, имеющими меньший размер (70S), чем рибосомы эукариотнческих клеток (80S). Большая субъединица рибосомы прокариотической клетки содержит 2 молекулы рибосомной РНК (рРНК), тогда как субъединица рибосомы эукариотической клетки – 3 молекулы рРНК.

5. Специальные органеллы прокариотической клетки – жгутики устроены проще, чем жгутики эукариотической клетки: они лишены внутреннего каркаса из микротрубочек и микрофиламентов.

6. В цитоплазме многих прокариотических клеток имеются газовые вакуоли.

7. В прокариотических клетках отсутствует клеточный центр.

8. Прокариоты размножаются простым делением клетки,уэукариот имеет место половой процесс с образованием гамет.

9. У прокариотических клеток отсутствует амебоидное движение и внутриклеточные перемещения цитоплазмы.

10. Синтез АТФ осуществляется в прокариотических клетках на мембране плазмолеммы.

Эукариоты появились около 1,5 млрд. лет назад. Они включают три ***царства***: Грибы, Растения и Животные, которые могут относиться к ***подцарству*** одноклеточные или многоклеточные. Первоначально эукариоты имели одноклеточное строение. Многоклеточные формы появились около 600 млн. лет назад. Около 500 млн. лет назад среди многоклеточных появляются хордовые животные, которые в процессе дальнейшей эволюции дали начало позвоночным. Примерно 250 млн. лет назад появляются мле-

копитающие, которые впоследствии дали ветвь, ведущую через приматов к человеку (примерно 1,8 млн. лет назад).

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ:

1. Дайте определение понятия «биология».

2. Какое значение имеет биология для современной медицины.

3. Назовите основные свойства живого.

5. Перечислите и охарактеризуйте основные уровни организации живого.

6. Какие выделяют элементарные единицы и элементарные явления на каждом уровне?

7. Назовите основные формы живого.

Лекция 2

КЛЕТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИВОГО. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МЕМБРАНЫ И ЦИТОПЛАЗМЫ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

ПЛАН ЛЕКЦИИ:

1. КЛЕТКА – ЭЛЕМЕНТАРНАЯ ЖИВАЯ СИСТЕМА.

2. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ СОВРЕМЕННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ТЕОРИИ.

3. ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ МЕМБРАНА.

4. ЦИТОПЛАЗМА И ЕЕ КОМПОНЕНТЫ.

5. ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

КЛЕТКА – ЭЛЕМЕНТАРНАЯ ЖИВАЯ СИСТЕМА

Клетка – основная структурная, функциональная, генетическая единица организации живого, элементарная живая система. Клетка может существовать как отдельный организм (бактерии, простейшие), или в составе тканей многоклеточных организмов. Термин «клетка» был предложен английским исследователем Робертом Гуком в 1665 г.

Появлению и формированию отдельных положений клеточной теории предшествовал длительный (более 300 лет) период накопления знаний о строении различных одноклеточных и многоклеточных организмов, растений и животных. Этот период связан с конструированием, применением и усовершенствованием различных светооптических приборов, в т. ч. микроскопов.

В 1838 г. вышла в свет работа немецкого ботаника М. Шлейдена «Материалы к фитогенезу», в которой он показал, что клетка является основной структурной единицей растений и поставил вопрос о способе образования новых клеток. Эти и другие результаты изучения клеток обобщил немецкий зоолог Т. Шванн в книге «Микроскопические исследования о

соответствии в структуре и росте животных и растений» в 1839 году, который и считается годом создания клеточной теории, а также годом возникновения цитологии как самостоятельной науки.

Основные положения клеточной теории Шлейдена-Шванна заключаются в следующем:

1. Все без исключения растительные и животные организмы состоят из клеток.

2. Клетки растений и животных гомологичны (однородны) по происхождению и аналогичны (сходны) по функции.

3. Клеточное строение, однородность по происхождению и сходство по функции клеток характеризуют рост и развитие организмов.

Существенным недостатком клеточной теории Шлейдена-Шванна является ошибочное признание возможностей возникновения клеток из бесструктурного неклеточного вещества. Тем не менее даже в таком виде клеточная теория стала одним из трех величайших достижений естествознания XIX в., первой фундаментальной теорией биологии, обосновавшей общий принцип организации живой природы и доказавшей единство происхождения жизни. Закономерности строения, функции и эволюции клетки являются общебиологическими и составляют фундамент изучения многих разделов биологии.

В 40-х гг. появилась целая серия исследований, в которых на разных растительных и животных объектах было убедительно показано, что новообразование клеток происходит путем их деления: «Каждая клетка – от клетки» – так подытожил эти исследования в 1855 году немецкий патолог Р. Вирхов.

Введение в цитологию современных методов исследования, изобретение в 30-х годах XX века электронного микроскопа позволило изучить структуру и функционирование различных компонентов клетки. На основании полученных результатов были сформулированы основные положения современной клеточной теории.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ СОВРЕМЕННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ТЕОРИИ

1. Все живые организмы состоят из клеток. Клетка – единица строения, функционирования, размножения и индивидуального развития живых организмов. Вне клетки нет жизни.

2. Клетки всех организмов сходны между собой по строению и химическому составу.

3. Клетки могут образовываться только из клеток путем деления.

4. Клеточное строение всех ныне живущих организмов – свидетельство единства происхождения.

Согласно современному определению ***клетка – это открытая биологическая система, ограниченная полупроницаемой мембраной, состоящая из ядра и цитоплазмы, способная к саморегуляции и самовоспроизведению.***

Клеточное строение имеют два типа организмов – прокариоты (бактерии и сине-зеленые водоросли) и эукариоты.

Эукариотические клетки состоят из поверхостного аппарата (цитоплазматическая мембрана), цитоплазмы и ядра (рис. 2.1).

ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ МЕМБРАНА

Цитоплазматические мембраны выполняют ряд важных функций: барьерную (отграничивающую), регуляторную (осуществляют регуляцию метаболических потоков), транспортную (обеспечение избирательной проницаемости веществ путем пассивного и активного транспорта), структурную, обменную. Биологические мембраны построены в основном из липидов, белков и углеводов.

Предложено несколько моделей строения цитоплазматических мембран (модель «сэндвича» - модель Даниели и Даусона, модель Ленарда и др.). По-видимому, в зависимости от функции существует несколько типов мембран. В настоящее время принята за основу жидкостно-мозаичная модель, предложенная Сингером-Николсоном в 1972 г. (рис. 2.2). Согласно

этой модели в состав мембран входит бимолекулярный слой фосфолипидов, в который погружены молекулы белков.

Фосфолипиды – соединения глицерина, жирных кислот и остатка фосфорной кислоты. Это водонерастворимые соединения, которые состоят из полярной (заряженной) головки (азот-содержащая группа) и двух длинных неполярных (незаряженных) хвостов (цепи жирных кислот). Молекулы липидов обращены друг к другу неполярными хвостами, а их полярные полюса (головки) остаются снаружи, образуя гидрофильные поверхности (рис.2.3).

В бимолекулярный слой липидов погружены белковые молекулы. Белки мембран можно разделить на три группы: периферические (наиболее слабо связаны с мембраной), погруженные (полуинтегральные) и пронизывающие (интегральные, трансмембранные), формирующие поры и каналы мембраны. В функциональном отношении белки мембран подразделяются на ферментативные, транспортные, структурные и регуляторные (рис. 2.4).

На внешней поверхности плазматической мембраны белковые и липидные молекулы связаны с углеводными цепями (гликопротеиды и гликолипиды), образуя ***гликокаликс*** – рецепторный аппарат клетки. Гликопротеиды выполняют роль рецепторов, клетка приобретает способность специфически реагировать на воздействия извне. Так, взаимодействие гормона со «своим» рецептором снаружи вызывает изменение структуры интегрального белка, что приводит к запуску клеточного ответа. В частности, такой ответ может проявиться в образовании «каналов», по которым растворы некоторых веществ начинают поступать в клетку или выводятся из нее. Гликолипиды обеспечивают одну из важных функций мембраны – обеспечение межклеточных контактов.

Под плазматической мембраной со стороны цитоплазмы имеются белковые фибриллы, формирующие ***опорно-сократительный аппарат клетки***.

У растительных клеток кнаружи от мембраны расположена плотная структура – клеточная оболочка, состоящая из полисахаридов (целлюлозы).

Одно из важнейших свойств цитоплазмы связано со способностью пропускать в клетку или из нее различные вещества. Это необходимо для поддержания постоянства ее состава. Малые молекулы и ионы проходят через мембраны путем пассивного и активного транспорта.

Пассивный транспорт происходит без затрат энергии путем свободной диффузии, облегченной диффузии и осмоса.

Диффузия – транспорт молекул и ионов через мембрану из области с высокой в область с низкой их концентрацией, т.е. по градиенту концентрации (рис. 2.5.). Если вещества хорошо растворимы в жирах, то они проникают в клетку путем простой диффузии (кислород, углекислый газ).

Облегченная диффузия – транспорт веществ, нерастворимых в жирах и не проходящих сквозь поры, через ионные каналы с помощью белков-переносчиков.

Транспорт воды через полупроницаемые мембраны называется ***осмосом*** (рис. 2.6). В цитоплазматической мембране присутствуют специальные каналы для транспортировки воды с растворенными в ней ионами и молекулами. В 1989 году американский ученый Питер Эгр выделил мембранный белок, образующий водные каналы, и назвал ***аквапорином***. В тканях человека было обнаружено 11 аналогов аквопорина, причем ряд из них может привести к появлению тех или иных заболеваний человека, например, к некоторым формам диабета и хронической сердечной недостаточности.

Вода переходит из области с меньшей концентрацией солей в область, где их концентрация больше. Возникающее давление на полупроницаемую мембрану называют осмотическим.

Напряженное состояние клеточной оболочки, создаваемое давлением внутриклеточной жидкости, называется ***тургором***. Тургор обуславливается тремя факторами: внутренним осмотическим давлением клетки, которое вызывает напряжение клеточной оболочки, внешним осмотическим давлением, а также упругостью клеточной оболочки. Снижением тургора сопровождаются процессы обезвоживания, автолиза (распада), увядания и старения клеток.

Активный транспорт веществ через мембрану осуществляется против градиента концентрации с затратой энергии АТФ и при участии белков-переносчиков. Так транспортируются аминокислоты, сахар, ионы калия, натрия, кальция и др.

Примером активного транспорта может быть работа калий-натриевого насоса (рис. 2.7). Концентрация K^+ внутри клетки в 10 – 20 раз выше, чем снаружи, а Na^+– наоборот. Для поддержания данной концентрации происходит перенос трех ионов Na^+ из клетки на каждые два ионаK^+ в клетку. В этом процессе участвует белок в мембране, выполняющий функцию фермента, расщепляющего АТФ с высвобождением энергии, необходимой для работы насоса.

Примером активного транспорта может быть работа калий-натриевого насоса (рис. 2.7). Концентрация К внутри клетки в 10-20 раз выше, чем снаружи, а Na – наоборот. Для поддержания данной концентрации происходит перенос трех ионов Na из клетки на каждые два иона К в клетку. В этом процессе участвует белок в мембране, выполняющий функцию фермента, расщепляющего АТФ с высвобождением энергии, необходимой для работы насоса.

Перенос макромолекул и крупных частиц внутрь клетки осуществляется за счет эндоцитоза, а удаление из клетки - путем экзоцитоза (рис. 2.8). При эндоцитозе мембрана образует впячивания или выросты, которые затем отшнуровываясь превращаются во внутриклеточные пузырьки, содержащие захваченный клеткой продукт. Этот процесс происходит с затратой энергии АТФ. Различают два вида эндоцитоза – фагоцитоз (поглощение клеткой крупных частиц) и пиноцитоз (поглощение жидких веществ). Мембрана принимает участие в выведении веществ из клетки в процессе экзоцитоза. Таким способом из клетки выводятся гормоны, белки, жировые капли и др.

ЦИТОПЛАЗМА И ЕЕ КОМПОНЕНТЫ

Цитоплазма – внутреннее содержимое клетки, состоит из основного вещества, органелл и включений.

Гиалоплазма (цитозоль) – основное вещество цитоплазмы, заполняющее пространство между клеточными органеллами. Гиалоплазма содержит около 90% воды и различные белки, аминокислоты, нуклеотиды, ионы неорганических соединений и др.

Крупные молекулы белка образуют коллоидный раствор, который может переходить из золя (невязкое состояние) в гель (вязкий). В гиалоплазме протекают ферментативные реакции, метаболические процессы, синтез аминокислот, жирных кислот. Гиалоплазма содержит множество белковых нитей – филаментов, которые пронизывают цитоплазму и образуют цитоскелет.

Органеллы

Органеллы (органоиды) – постоянные структуры цитоплазмы, выполняющие в клетке жизненно важные функции. В зависимости от функции различают органоиды общего и специального назначения. К органоидам специального назначения относятся микроворсинки, реснички, жгутики. Органеллы общего назначения делятся на немембранные (рибосомы, клеточный центр (центросома), микротрубочки, промежуточные филаменты, микрофиламенты) и мембранные. К одномембранные органеллам относятся эндоплазматическая сеть (ретикулум), аппарат Гольджи, лизосомы, пероксисомы, вакуоли. К двумембранным органеллам относятся митохондрии и пластиды растительных клеток.

Одномембранные органоиды цитоплазмы

Эндоплазматическая сеть (ЭПС) – это система цистерн и каналов, стенка которых образована мембраной (рис. 2.9). Нередко цистерны имеют пузыревидные утолщения. ЭПС пронизывает цитоплазму в разных направлениях и делит ее на изолированные ячейки – компартменты. Компартментализация способствует пространственному разделению веществ и процессов в клетке. ЭПС выполняет синтетическую и транспортную функции.

Если на поверхности мембран каналов ЭПС располагаются рибосомы, она называется гранулярной или шероховатой, если рибосом нет – гладкой. Функции ЭПС: 1) биосинтез белков (гранулярная ЭПС), жиров и углеводов (гладкая ЭПС), 2) транспортировка всех веществ в клетке,

3) компартментализация цитоплазмы (разделение на отсеки), 4) участие в образовании мембран цитоплазмы. Отчленяющиеся от ЭПС пузырьки представляют исходный материал для других одномембранных органелл.

Аппарат Гольджи (пластинчатый комплекс) назван в честь К. Гольджи, который обнаружил органеллу в 1898 г. Обычно расположен около клеточного ядра.

Основным элементом органеллы является мембрана, образующая уплощенные цистерны – диски, которые располагаются друг над другом (4-6). Края цистерн переходят в трубочки, от которых отчленяются пузырьки, транспортирующие заключенное в них вещество к месту его потребления (лизосомы, вакуоли) (рис. 2.10). Поэтому наиболее крупные аппараты Гольджи находятся в секретирующих клетках. Диски-цистерны формируются из пузырьков, отпочковывающихся от гладкой ЭПС. Функции: секреция веществ, их сортировка и упаковка, образование комплексных соединений, формирование лизосом.

Лизосомы (от греч. lisis – разрушение, soma – тело) – пузырьки больших или меньших размеров, заполненные ферментами (протеазами, липазами, нуклеазами). Лизосомы образуются в ЭПС и аппарате Гольджи (рис. 2.10). Основная функция лизосом – внутриклеточное расщепление и переваривание веществ, поступивших в клетку и удаление их из клетки. Выделяют первичные и вторичные лизосомы (рис. 2.11). Пузырьки с набором ферментов, отделившиеся от цистерн аппарата Гольджи, называются ***первичными лизосомами***. Они участвуют во внутриклеточном пищеварении. Если первичные лизосомы сливаются с фагоцитарными и пиноцитарными вакуолями, образуются ***вторичные лизосомы***. Если в них происходит переваривание веществ, поступивших в клетку путем эндоцитоза, то эти вторичные лизосомы называются ***пищеварительными вакуолями***, если происходит переваривание компонентов самой клетки (остатки фрагментов ЭПС, митохондрий, рибосом и др.) при их регенерации, то они называются ***аутофагирующими вакуолями.*** Продукты переваривания поглощаются клеткой, а лизосомы, содержащие нерасщепленные материал, называются ***остаточными тельцами***, которые путем экзоцитоза выводятся наружу.

Аутофагирующие вакуоли в больших количествах выявляются при голодании, итнтоксикациях, старении, гипоксии и т.д. При механическом разрушении клетки (например, при травме), происходит аутолиз, т.е. самопереваривание под действием ферментов лизосом. Таким образом, лизосомы участвуют во внутриклеточном пищеварении, физиологической и репаративной (восстановительной) регенерации, в защитных реакциях клетки, когда происходит переваривание и обезвреживание чужеродных веществ, например, микробов, поглощенных путом фагоцитоза.

Пероксисомы, или микротельца – это органоиды, освобождающие клетки от перекисей. Они имеют форму пузырьков и содержат два основных фермента – каталазу и пероксидазу. Перекисные соединения накапливаются в клетке при разрушении мембранных органоидов вследствие неферментативного окисления жирных кислот, входящих в состав липидов биомембран. Перекиси оказывают токсичное воздействие на клетку, вызывают денатурацию белка, снижают активность ферментов, и подвергаются утилизации при участии пероксисом.

Вакуоли содержатся в цитоплазме клеток растений, занимая до 90% объема. Они образуются из мелких пузырьков, отщепляющихся от ЭПС. В вакуолях запасается вода, питательные вещества (белки, сахара), откладываются пигменты. Вакуоли являются главными поставщиками молекул воды, необходимых для фотосинтеза, а также поддерживают тургор (давление) в клетке. В животных клетках встречаются временные вакуоли, которые занимают не более 5% объема.

ЭПС, комплекс Гольджи, лизосомы и вакуоли в совокупности образуют единую вакуолярную систему клетки, отдельные элементы которой могут переходить друг в друга.

Двумембранные органоиды цитоплазмы

Митохондрии – это структуры округлой или палочковидной формы. Обычно митохондрии скапливаются в тех участках, где велика потребность в АТФ (скелетные мышцы, сердце). Состоит из двух мембран. Наружная мембрана гладкая, внутренняя образует многочисленные складки – кристы (рис. 2.12).

Митохондрии содержат три группы ферментов: во внутреннем матриксе находятся ферменты цикла Кребса, которые катализируют окислительно-восстановительные реакции, на кристах находятся ферменты тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования (АТФ-сомы). В митохондриях происходит аэробное окисление пировиноградной и молочной кислот, в результате чего высвобождается большое количество энергии (достаточное для синтеза в результате фосфорилирования 36 молекул АТФ). Это ключевой цикл клеточного дыхания (поскольку протекает с поглощением кислорода и выделением углекислого газа), который называется циклом Кребса, или циклом трикарбоновых кислот. Благодаря этому свойству митохондрии называют «энергетическими станциями» клетки.

Энергия АТФ используется: 1) для биосинтеза веществ (50%), 2) для транспортировки (30-40%), 3) для механической работы – сокращение мышц, 4) для деления клеток, 5) рассеивается в виде тепла.

Образование митохондрий происходит путем саморепродукции, поскольку в них содержится собственная ДНК в виде 2-10 кольцевых молекул.

Пластиды – это тоже двумембранные органеллы, присутствующие в растительных клетках. Различают три вида пластид: хлоропласты (синтезируют зеленый пигмент), хромопласты (красный), лейкопласты (бесцветный) (рис. 2.13).

В матриксе пластид имеются телокоиды, расположенные стопкой – граны. Различают три вида пластид: хлоропласты (синтезируют пигмент зеленого цвета, участвуют в фотосинтезе), хромопласты (синтезируют каротиноиды - пигменты красного и желтого цвета) и лейкопласты (бесцветный или неактивный пигмент). Иногда в растениях можно видеть преобразование пластид из зеленых в красные и желтые (изменение осенью цвета листьев на деревьях), из бесцветных в зеленые (картофель на свету) и др. Наличие в пластидах собственной ДНК, как и в митохондриях, обеспечивает возможность саморепродукции.

Немембранные органоиды цитоплазмы

Рибосомы – комплекс рРНК и белка (рибонуклеопротеид). На рибосомах осуществляется соединение аминокислот в полипептидные цепочки

((второй этап биосинтеза белка – трансляция). Каждая рибосома состоит из двух частей: малой и большой субъединиц. Объединение их происходит в присутствии мРНК (рис.2.14-А).

Клеточный центр – это органоид характерен для животных клеток. Располагается около ядра. Состоит из парных центриолей, расположенных перпендикулярно, и центросферы и астросферы (рис.2.14-Б). Центриоль имеет вид полого цилиндра, стенка которого образована 27 микротрубочками (9 триплетов). В функцию центриолей входит образование нитей митотического веретена деления, которые также образованы микротрубочками. Центриоли поляризуют процесс деления клеток, обеспечивая расхождение сестринских хроматид.

Микротрубочки – тончайшие трубочки, стенки которых образованы белком тубулином (рис.2.14-В). ***Микрофиламенты*** – тонкие белковые нити, состоят из белка актина. Участвуют в образовании нитей веретена деления и цитоскелета (рис. 2.15).

Промежуточные филаменты (ПФ) – нитевидные структуры из особых белков, один из трех основных компонентов цитоскелета клеток эукариот. Содержатся как в цитоплазме, так и в ядре большинства эукариотических клеток. Средний диаметр ПФ – около 10 нм (9–11 нм), меньше, чем у микротрубочек (около 25 нм) и больше, чем у актиновых микрофиламентов (5–9 нм). В ядре известен только один тип ПФ – ламиновых, остальные типы — цитоплазматические. В большинстве животных клеток ПФ образуют «корзинку» вокруг ядра, откуда направлены к периферии клеток. ПФ особенно много в клетках, подверженных механическим нагрузкам: в эпителиях, где ПФ участвуют в соединении клеток друг с другом через десмосомы, в нервных волокнах, в клетках гладкой и поперечно-полосатой мышечной ткани.

Органоиды специального назначения

Реснички, жгутики и микроворсинки – органеллы передвижения. Представляют собой тонкие цилиндрические выросты цитоплазмы, покрытые плазматической мембраной (рис. 2.16). Жгутики отличаются от ресничек длиной. Микроворсинки формируются только на одной поверхности клетки.

Включения - это относительно непостоянные (временные) компоненты цитоплазмы, которые не имеют мембраны и представляют собой продукты, подлежащие выведению из организма (секреторные (например, инсулин в клетках поджелудочной железы), экскреторные (например, мочевая и щавелевая кислоты)); запасные питательные вещества (гликоген, крахмал, белки, жиры, углеводы); пигменты (меланин, гемоглобин).

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ:

1. Укажите особенности строения эукариотических клеток.
2. Перечислите основные положения клеточной теории.
3. Опишите жидкостно-мозаичную модель строения цитоплазматической мембраны.
4. Как происходит транспорт микромолекул через мембрану клетки?
5. Что такое эндоцитоз и экзоцитоз?
6. Охарактеризуйте строение цитоплазмы клетки.
7. Что такое гиалоплазма?
8. Перечислите строение и функции клеточных органелл в соответствие с их классификацией.

Лекция 3

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ КЛЕТОЧНОГО ЯДРА. КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ И СПОСОБЫ РЕПРОДУКЦИИ КЛЕТОК

ПЛАН ЛЕКЦИИ:

1. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ КЛЕТОЧНОГО ЯДРА.

2. УРОВНИ КОНДЕНСАЦИИ ДНК В СОСТАВЕ ХРОМАТИНА И ХРОМОСОМ.

3. МОРФОЛОГИЯ ХРОМОСОМ. КАРИОТИП.

4. ПРОДОЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ХРОМОСОМ.

5. КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ. СПОСОБЫ РЕПРОДУКЦИИ СОМАТИЧЕСКИХ И ПОЛОВЫХ КЛЕТОК (МИТОЗ, МЕЙОЗ).

6. ГАМЕТОГЕНЕЗ.

7. ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ.

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ КЛЕТОЧНОГО ЯДРА

Ядро является постоянным структурным компонентом всех клеток высших растений и животных. Оно присутствует во всех эукариотических клетках за исключением зрелых эритроцитов крови человека и некоторых животных. Биологическое значение ядра заключается в регуляции всех жизненноважных функций клетки и в передаче наследственной информации. В ядре хранится наследственная информация, заключенная в ДНК, которая при делении клетки передается дочерним клеткам. Ядро определяет специфичность белков, синтезируемых данной клеткой. В ядре синтезируется РНК.

Ядро имеет ядерную оболочку, отделяющую его от цитоплазмы, кариоплазму (ядерный сок), хроматин. Внутри ядра можно увидеть темные участки – ядрышки (рис. 3.1).

Ядерная оболочка состоит из двух липидных бислоёв – наружной ядерной мембраны и внутренней ядерной мембраны. Пространство между мембранами называется *перинуклеарным пространством*; оно составляет

единый компартмент с полостью эндоплазматического ретикулума. Обычно ширина перинуклеарного пространства составляет около 20–40 нм.

Наружная ядерная мембрана непосредственно переходит в мембрану эндоплазматической сети, но при этом наружная ядерная мембрана содержит различные белки в значительно более высоких концентрациях, чем они присутствуют в ЭПС.

Внутренняя мембрана ограничивает кариоплазму и изнутри покрыта ядерной ламиной, сетью промежуточных филаментов, которая поддерживает форму ядерной мембраны, обеспечивает прикрепление хроматина к оболочке ядра и участвует в регуляции экспрессии генов. Ядерная ламина состоит из белков ламинов. Хотя ЭПС и обе мембраны соединены друг с другом, многие белки, входящие в их состав, фиксированы в мембране, а не диффундируют свободно в ее пределах.

Структурным компонентом ядерной оболочки является **поровый комплекс.** Поры – участки соединения наружной и внутренней ядерных мембран. Они занимают до 10-15% поверхности всего ядра и имеют сложную гетерогенную белковую структуру – белковые гранулы, образующие каналы для транспортировки веществ. Число ядерных пор и их размер может существенно варьировать в зависимости от размеров ядра и функционального состояния клетки.

Ядерный сок (кариоплазма) – внутреннее содержимое ядра, представляет собой раствор белков, нуклеотидов, ионов, более вязкий, чем гиалоплазма. В кариоплазме находятся ядрышки и хроматин. Ядерный сок обеспечивает нормальное функционирование генетического материала.

Хроматин представляет собой дезоксирибонуклеопротеин. Это комплекс молекулы ДНК с гистоновыми белками. Хроматин в электронный микроскоп выявляется в виде тонких нитей, глыбок и гранул. В процессе митоза хроматин спирализуется и образует хорошо видимые окрашенные структуры – хромосомы.

Ядрышки – непостоянные образования, они исчезают при делении клеток и восстанавливаются после окончания деления. В составе ядрышка различают фибриллярный центр (рДНК), периферический фибриллярный

компонент (рРНК) и гранулярный компонент (РНП) (см. рис. 3.2). Т.о. в ядрышках происходит формирование рибосомных субъединиц, которые затем через поры выходят из ядра в цитоплазму.

У высших эукариот (животных и растений) оболочка ядра разрушается в прометафазе митоза, позволяя сформироваться веретену деления. Механизм перестройки ядерной мембраны ещё не до конца понятен. В настоящее время обсуждаются две основные гипотезы:

- путем слияния везикул ядерной мембраны;
- благодаря переформировке участков ЭПС.

УРОВНИ КОНДЕНСАЦИИ ДНК В СОСТАВЕ ХРОМАТИНА И ХРОМОСОМ

ДНК, входящая в состав хроматина, представляет собой двухцепочечную спиральную молекулу, которая укомплектована в комплексе с белками. Такая структура называется дезоксирибонуклеопротеидом – ДНП. На долю белков приходится 65% массы хромосом. Все хромосомные белки разделяются на 2 группы: гистоны (основные) – 40% и негистоновые (кислые) белки – 20%.

Гистоны играют особую роль в структурной организации ДНП. Гистоны имеют «+» заряд, что обусловлено высоким содержанием в них 3–х основных аминокислот: аргинина, лизина и гистидина. Они обладают высоким сродством к молекуле ДНК, которая имеет «–» заряд и образует с ней прочные структурные комплексы. Это препятствует считыванию заключенной в молекуле ДНК биологической информации , в чем заключается важная регуляторная роль гистонов). Число фракций негистоновых белков превышает 100. Среди них – ферменты синтеза и процессинга РНК, редупликации и репарации ДНК.

Длина интерфазных хромосом (хроматина) в 1 клетке человека равна примерно 2 м (2.000.000 мкм). При переходе в метафазное состояние нить ДНК уменьшается в линейном размере почти в 8000 раз!, а диаметр увеличивается в 500-600 раз что свидетельствует о громадных масштабах физического преобразования.

Рассмотрим основные закономерности поперечной и продольной укладки хромосом. Выделяют 4 уровня укладки ДНК в хроматине: 1) нуклеосомный; 2) нуклеомерный; 3) хромомерный (петлевой); 4) хромонемный (рис. 3.3).

Первый уровень укладки молекулы ДНК - нуклеосомная нить.

Этот уровень организации хроматина обеспечивается четырьмя видами гистонов: H2A, H2B, H3, H4. Они образуют, напоминающие по форме шайбу, белковые тела – ***нуклеогистоны***, или ***коры (cor),*** состоящие из восьми молекул (по две молекулы каждого вида гистонов). Вокруг кор двойная спираль ДНК образует около двух витков. При этом в контакте с каждым кором оказывается участок ДНК, состоящий из 146 пн, образуя ***нуклеосому***. Свободные от контакта с белковыми телами участки ДНК называются ***связывающими*** или ***линкерными***. Они включают от 15 до 100 пн (в среднем 60 пн) в зависимости от типа клетки. Образованная таким способом нуклеосомная нить имеет диаметр 10–13 нм. Длина молекулы ДНК уменьшается в 5–7 раз.

Второй уровень укладки – нуклеомерный «соленоид».

Дальнейшая компактизация нуклеосомной нити обеспечивается гистоном H1, который соединяясь с линкерной ДНК и двумя соседними белковыми телами, сближает их друг с другом, укладывает эту фибриллу в спираль. В результате образуется более компактная структура, построенная по типу соленоида. Такая хроматиновая фибрилла называется «элементарной», имеет диаметр около 25 нм. Один виток спирали содержит 6–10 нуклеосом. Этим достигается укорочение нити еще в 6 раз.

Первый и второй уровни компактизации соответствуют хроматиновым нитям, выявляемым в интерфазном ядре.

Третий уровень укладки – петлевой – хромомерный.

Происходит укладка хроматиновой фибриллы в петли. В их образовании участвует негистоновые белки. Они узнают специфические нуклеотидные последовательности вненуклеосомной ДНК, отдаленные друг от друга на расстояние в несколько тысяч пар нуклеотидов. Эти белки сбли-

жают указанные участки с образованием петель из расположенных между ними фрагментов хроматиновой фибриллы. Этот участок ДНК, соответствующей одной петле, содержит от 20 000 до 80 000 пн. Считают, что каждая петля является функциональной единицей генома. Диаметр петель около 50 нм. Нить ДНП укорачивается в 10–20 раз.

Третий уровень компактизации соответствует профазным хромосомам.

Четвертый уровень укладки – хромонемный.

Наиболее простым и приемлемым является признание спиральной укладки каждой хроматиды. У самых крупных хромосом человека (1 и 2) – 14–15 таких витков. У мелких – 2–4 витка.

Четвертый уровень компактизации соответствует метафазной хромосоме.

МОРФОЛОГИЯ ХРОМОСОМ. КАРИОТИП

Метафазные хромосомы – самая компактная стадия укладки хроматина, что делает возможным их изучение в световой микроскоп. Фактически хромосома – это удвоенный и конденсированный хроматин. Хромосомы состоят из 2-х хроматид, соединенных в области первичной перетяжки - центромеры (рис. 3.4.). Различают короткое плечо – p и длинное плечо – q.

В зависимости от места положения центромеры и длины плеч, выделяют несколько типов хромосом: метацентрические (равноплечие, p=q); субметацентрические (неравноплечие, центромера сдвинута к одному из концов, p<q); акроцентрические (с центромерой, расположенной практически на конце хромосомы p<<q) (рис. 3.5). Телоцентрические хромосомы характеризуются полным отсутствием одного из плеч и в норме у человека не встречаются. В области центромеры локализуется кинетохор – это участок, к которому прикрепляются микротрубочки веретена деления. Концевые участки хромосом называются теломерами.

Характерной особенностью акроцентрических хромосом человека (13, 14 и 15, 21 и 22 пары) является наличие вторичной перетяжки и спутников. В области II перетяжки локализованы участки рДНК, отвечающие

за синтез рРНК. Они называются ядрышко образующими районами (ЯОР). Спутник (саттелит) - это концевой участок (теломера) коротких плеч акроцентрических хромосом, следующий за вторичной перетяжкой.

ПРОДОЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ХРОМОСОМ

Существует химическая, структурная и функциональная неоднородность хромосомы по ее длине. В зависимости от состояния хроматина выделяют эухроматин и гетерохроматин.

Эухроматиновые участки менее компактные, являются функционально активными, т.е. транскрибируемыми. В течение клеточного цикла могут компактизоваться и декомпактизоваться. **Гетерохроматиновые** участки всегда плотно конденсированные, генетически не активны и не транскрибируются.

Различают два типа гетерохроматина: конститутивный (структурный) и факультативный.

Конститутивный гетерохроматин содержится в основном в околоцентромерных и теломерных участках всех хромосом. Его роль заключается в поддержании общей структуры хромосомы, прикреплении хроматина к ядерной оболочке, разделении структурных генов.

Конститутивный гетерохроматин присутствует в одних и тех же районах обеих гомологичных хромосом, в основном, в центромерных и теломерных участках и во вторичных перетяжках акроцентриков, образующих спутники. Его роль заключается в поддержании общей структуры хромосомы, прикреплении хроматина к ядерной оболочке, разделении структурных генов.

Факультативный гетерохроматин присутствует не в обеих, а только в одной из пары гомологичных хромосом. Примером факультативного гетерохроматина у человека является тельце Барра - половой хроматин, который образуется за счет инактивации (утрата активности) одной из Х-хромосом у женщин, поскольку гены этой хромосомы не транскрибируются.

Диплоидный набор хромосом соматических клеток данного вида организмов, характеризующийся определенным числом, строением и генети-

ческим составом хромосом, называется ***кариотипом.*** Термин был введен в 1924 г. советским генетиком Левитским. У каждой хромосомы имеется гомолог, т.е. хромосома, с таким же набором генов (рис. 3.6). Один набор хромосом организм получает от матери, другой – от отца. Если число хромосом в гаплоидном наборе (в половых клетках) обозначить как n, то формула кариотипа будет 2n.

Изучение полного набора хромосом называется кариотипированием. Для анализа кариотипа строится идиограмма – рисунок или фотография определенного расположения хромосом в порядке уменьшения размера.

Нормальный кариотип человека включает 46 хромосом, или 23 пары, из них 22 пары – аутосомы аутосомы (одинаковые по строению и набору генов у представителей разного пола) и 1 пара половых хромосом (гетерохромосомы): XX у женщин (рис. 3.7) и XY – у мужчин. Кариотип клетки изучают на стадии метафазы, когда хромосомы максимально конденсированы. Именно на этой стадии можно наиболее точно определить морфологию каждой хромосомы.

КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ

Клеточный цикл (КЦ) - это период существования клетки от образования до следующего деления или гибели (рис. 3.8.). В КЦ различают две фазы: автосинтетическую, или интерфазу (подготовка клетки к делению) включающую *пресинтетический* (G_1, от англ. Gap – промежуток), *синтетический* – (S), *постсинтетический* – (G_2) периоды, и деление клетки – *митоз*. У большинства клеток период роста сопровождается выходом из КЦ (период G_0) в течение которого происходит окончательная дифференцировка и специализация. Образуются высокодифференцированные клетки, которые осуществляют специфические функции и погибают (например, эритроциты).

Слабо дифференцированные клетки сохраняют способность к делению и продолжают следовать по G_1, S,G_2 периодам и заканчивается цикл делением (митозом, или мейозом).

Пресинтетический (G_1) период. В течение этого периода в клетке усилены биосинтетические процессы (синтез РНК, негистоновых белков) и происходит подготовка к репликации ДНК: синтез белков-ферментов, необходимых для синтеза нуклеотидов ДНК, пуриновых (А, Г), пиримидиновых (Т, Ц) нуклеотидов и четырех нуклеозидтрифосфатов, входящих в состав молекулы ДНК, ДНК-полимеразы, осуществляющий полимеризацию нуклеотидов-трифосфатов в полимерную молекулу ДНК, накопление ионов магния, которые принимают участие в процессе полимеризации.

Длительность периода – 8–10 часов. Набор хромосом в ядре клетки диплоидный, каждая хромосома состоит из одной хроматиды – однонитевая хромосома (*2n2c*).

Синтетический (S) период.В клетке продолжается транскрипция РНК, синтезируются гистоновые белки, удваиваются центриоли клеточного центра. Основной процесс, который происходит в ядре – это репликация ДНК, в результате которого происходит удвоение генетического материала. Набор генетического материала *2n4c* (диплоидный набор двухроматидных хромосом – двунитевых хромосом). Длительность этого периода 4–8 часов.

Постсинтетический (G_2) период или премитотический.

В течение премитотического периода совершаются синтезы, необходимые для обеспечения непосредственно процесса деления.Происходит синтез АТФ, белков-тубулинов для формирования митотического аппарата. Обе материнские центриоли окутаны фибриллярным гало и осуществляют сборку микротрубочек, продолжается синтез РНК.

В этом периоде усиливается формирование лизосом, делятся митохондрии и синтезируются новые белки, необходимые для осуществления митоза. К концу интерфазы хроматин конденсирован, ядрышко хорошо видно, ядерная оболочка не нарушена, органеллы не изменены. Длительность периода составляет 4–6 часов. Набор генетического материала *2n4c*. После завершения подготовки к делению начинается непосредственно деление клетки.

СПОСОБЫ РЕПРОДУКЦИИ СОМАТИЧЕСКИХ И ПОЛОВЫХ КЛЕТОК (МИТОЗ, МЕЙОЗ)

К основным формам деления клеток относятся митоз, который лежит в основе бесполого деления соматических клеток, и мейоз, тип деления половых клеток при котором формируются гаметы.

Основные закономерности митоза

Деление клеток путем митоза включает следующие стадии (рис. 3.9.):

Профаза. Основные события происходят в ядре, продолжается конденсации хроматина (III уровень укладки), разрушаются ядрышки. Центриоли попарно расходятся к противоположным сторонам клетки, которые теперь называют полюсами. Одновременно на сателлитах центриолей идет интенсивная сборка микротрубочек. Набор генетического материала 2n4c.

Метафаза. Во время метафазы лизосомы растворяют ядерную оболочку. Фрагменты распавшейся ядерной оболочки формируют мелкие мембранные пузырьки, цитоплазма клетки смешивается с кариоплазмой. Комплекс Гольджи и ЭПС распадаются на мелкие фрагменты в виде пузырьков. На центромере каждой хромосомы выявляется скопление специальных белков –*кинетохор.*

Сборка микротрубочек на материнских центриолях продолжается, так что в результате возникает биполярное митотическое веретено, состоящее из этих микротрубочек и ассоциированных с ними белков. Различают несколько видов микротрубочек. Многие нити расходятся от центриолей (как от полюсов) во все стороны. Часть их образует направленную к поверхности клетки *астральную лучистость.* Другая их часть направлена к экватору клетки – это *полярные микротрубочки.* У экватора полярные микротрубочки, связанные с разными полюсами, перекрывают друг друга. От полюсов также отходят *кинетохорные микротрубочки*, которые в области экватора прикрепляются к кинетохорам хромосом. В клетках человека каждый кинетохор связан с 20–40 микротрубочками. Прикрепления микротрубочек к сестринским хроматидам гомологичных хромосом происходят в случайном порядке. Хромосомы максимально конденсированы (IV

уровень укладки), расположены в экваториальной плоскости веретена деления клетки, образуя метафазную пластинку. Набор генетического материала 2n4c.

Анафаза. В S-периоде удваивается не вся ДНК одной хромосомы, а остается нереплицированным центромерный участок. В начале *анафазы* происходит быстрая репликация ДНК в области центромеры, что и служит сигналом к началу анафазы. Анафаза начинается внезапно с резкого разделения общей центромеры хромосомы, в результате чего сестринские хроматиды становятся самостоятельными хромосомами. Микротрубочки начинают укорачиваться: у кинетохоров происходит их разборка. В результате этого хроматиды направляются к полюсам клетки. Образуется две *дочерних звезды* (по одному одинаковому набору хромосом на полюсах клетки). Набор генетического материала в клетке *4n4c*.

В конце анафазы плазматическая мембрана как бы инвагинируется перпендикулярно к продольной оси митотического веретена, образуя борозду. В этой области под плазмалеммой появляется сократимое кольцо, состоящее из актин- и миозин-содержащих нитей, которое распадается после разделения клетки.

Телофаза завершает деление. Под плазмалеммой активируются элементы цитоскелета – актиновые микрофиламенты. Рядом с ними полимеризуется миозин. Актино-миозиновое кольцо сжимается, и возникает перетяжка плазмалеммы. Разделившиеся группы хромосом подходят к полюсам, теряют хромосомные микротрубочки, разрыхляются, деконденсируются, переходя в хроматин, и начинают транскрибировать РНК. К концу телофазы восстанавливается ядерная оболочка, формируются ядрышки. Перетяжка плазмалеммы становится все более глубокой, и в конце концов одна клетка разделяется на две. Обе дочерние клетки диплоидны (*2n2c*). Однако не всегда деление ядра сопровождается разделением клетки. Поэтому помимо телофазы (при полном делении клетки) и выделяют цитокинез (деление цитоплазмы).Из мембранных пузырьков собираются комплекс Гольджи и ЭПС.

Затем следует деление цитоплазмы клетки – цитокинез.

Биологическое значение митоза: в результате этого деления из одной материнской клетки образуются две генетически равноценные дочерние клетки, идентичные материнской. Благодаря митозу поддерживается постоянство кариотипа (т.е. набора хромосом) в поколениях клеток.

Генетический контроль митоза

Процесс митоза находится под контролем особых генов – циклинов и циклин-зависимых киназ (CDK). Установлено, что определенные гены контролируют строго определенные стадии митотического цикла. В процессе МЦК имеются контрольные точки – checkpoint (КТ-G_1, КТ-G_2, КТ-М), где происходит проверка готовности клетки к делению (рис. 3.10). CDK являются ингибиторами пролиферации (останавливают деление клеток). Если в контрольных точках CDK связываются с циклинами, инициируется определенный этап деления клетки.

Основные формы бесполого размножения

Деление путем митоза лежит в основе бесполого размножения организмов. Рассмотрим основные формы бесполого размножения.

Деление надвое приводит к возникновению из одного родительского организма двух дочерних. Оно является преобладающей формой у прокариот и простейших. У прокариот – это деление нуклеоида (молекулы ДНК) с последующим делением клетки.

У одноклеточных эукариот различают следующие способы бесполого размножения:

1. ***Простое деление на два (бинарное деление).*** Оно характерно для амеб, жгутиковых простейших, водорослей и др. При этом происходит митотическое деление ядра, затем цитокинез. Дочерние клетки получают равное количество наследственной информации. Органоиды обычно распределяются равномерно. После деления дочерние особи растут и, достигнув величины материнского организма, вновь делятся.

2. ***Множественное деление (шизогония, эндогония).*** Характерна для представителей класса Споровики (например, малярийного плазмодия и токсоплазмы). При этом происходит многократное деление ядра без цитокинеза, а затем вся цитоплазма разделяется на частички, обособляющие-

ся вокруг ядер. Из одной клетки образуются много дочерних.

3. ***Почкование*** заключается в том, что на материнской клетке образуется небольшой бугорок, содержащий дочернее ядро, образовавшееся в результате митоза. Почка растет, достигает размеров материнской особи и затем отделяется от нее. Эта форма размножения встречается у бактерий, дрожжевых грибов, сосущих инфузорий.

4. ***Спорогония*** характерна также для предс тавителей класса Споровики (например, малярийного плазмодия). В результате копуляции (слияния гамет) образуется зигота, которая затем покрывается плотной оболочкой и называется ооцистой. Внутри ооцисты происходит спорогония с образованием дочерних клеток – спорозоитов.

Формы бесполого размножения многоклеточных организмов:

1. ***Вегетативное размножение.*** В основном распространено у растений. Новый организм образуется из части материнского растения (размножение отводками, отростками, делением куста, черенками и т. п.) Образование почек, стеблевых и корневых клубней, луковиц.

2. ***Упорядоченное деление***. Радиально-симметричное (медузы), поперечное (кольчатые черви).

3. ***Почкование.*** Потомок формируется первоначально как вырост на теле родителя (губки, гидра, кишечнополостные).

У губок и гидры за счет размножения группы клеток на теле образуются выпячивания (почки). В почку входят клетки экто- и энтодермы. У гидры почка постепенно увеличивается, на ней формируются щупальца, и она отделяется от материнской особи. Ресничные и кольчатые черви делятся перетяжками на несколько частей, в каждой из которых восстанавливаются недостающие органы. У некоторых кишечнополостных в жизненном цикле встречается размножение стробиляцией. При этом материнский организм интенсивно растет, а затем поперечными перетяжками делится на дочерние особи. В это время полип напоминает стопку тарелок. Образовавшиеся особи – медузы отрываются и начинают самостоятельно жить.

4. ***Спорообразование*** присуще всем споровым растениям – водорослям, мхам, папоротникообразным, а также грибам и лишайникам.

5. ***Полиэмбриония***. Является особой формой вегетативного размножения. В этом случае зародыш (эмбрион) делится на несколько частей, каждая из которых развивается в самостоятельную особь (например, рождение однояйцевых близнецов у человека – в результате одного оплодотворения появляется 2 или более организмов).

Другие способы репродукции соматических клеток

Помимо митоза к другим способам репродукции соматических клеток относятся амитоз, эндомитоз и эндоредупликация.

Амитоз – это прямое деление интерфазного ядра путем перетяжки.

Особенности амитоза:

- ядро находится в интерфазном состоянии;
- хромосомы не спирализуются;
- веретено деления не образуется;
- равномерного распределения генетического материала не происходит (из одной клетки образуются две не идентичные друг другу клетки);
- могут возникать дву- и многоядерные клетки, если после кариокинеза не происходит цитокинез;
- образовавшиеся клетки не могут делиться путем митоза.

Такое деление встречается у одноклеточных организмов (например, так делятся большие полиплоидные ядра инфузорий), а также в некоторых высокоспециализированных с ослабленной физиологической активностью, дегенерирующих, обреченных на гибель клетках растений и животных либо при различных патологических процессах, таких как злокачественный рост, воспаление и т. п.

Амитоз можно наблюдать в тканях растущего клубня картофеля, эндосперме семян, стенках завязи пестика и паренхиме черешков листьев. У животных и человека такой тип деления характерен для клеток печени, хрящей, роговицы глаза, в клетках специализированных тканей (зародышевые оболочки, фолликулярные клетки яичника), при необходимости быстрого восстановления тканей (после операций, травм и т. д.), в отживших стареющих клетках и др.

Амитоз в отличие от митоза является самым экономичным способом

деления, так как энергетические затраты при этом весьма незначительны.

Эндомитоз (от греч. endon – внутри и mitos – нить).В отличие от митоза при эндомитозе не распадается ядерная оболочка, не формируется митотический аппарат, но внутри ядра происходит репликация ДНК, в результате которого хромосомы становятся двухроматидными (набор генетического материала *2n4c*) и разделение этих хромосом на хроматиды (хромосомы) в области центромеры. В результате набор хромосом в ядре увеличивается в два раза.

При повторных эндомитозах число хромосом в ядре может значительно увеличиваться при соответствующем кратном двум нарастании содержания в нем ДНК - ***полиплоидии*** (от греч. *poly* - много и *ploon* - складываю) и увеличении объема ядра (рис. 3.11). Полиплоидия может явиться также результатом неоконченных обычных митозов. Основной смысл развития полиплоидии заключается в усилении функциональной активности клетки.

Наличие полиплоидных - тетра- (*4n*) и октаплоидных (*8n*) клеток характерно для печени, эпителия мочевого пузыря, клеток концевых отделов поджелудочной и слюнных желез. Мегакариоциты (гигантские клетки костного мозга) начинают формировать кровяные пластинки при достижении определенного уровня полиплоидии (*16 - 32n*) в результате нескольких эндомитозов.

Эндоредупликация (политения) характеризуется тем, что происходит многократное удвоение хроматид за счет репликации ДНК, но они не расходятся и остаются объединенными одной центромерой (см. рис. 3.11). В результате образуются гигантские политенные хромосомы: *2n2c – 2n4c – 2n8c - ... - 2n1000..c.* Политения в норме встречается в некоторых зародышевых клетках, поскольку многократное копирование одних и тех же генов в составе одной хромосомы обеспечивает синтез одномоментно большого количества необходимого белка. Гигантские политенные хромосомы – удобный объект исследования генной экспрессии на стадии интерфазы, когда обычный хроматин не видим.

Основные закономерности мейоза

Мейоз – это вид деления клеток, при котором из одной диплоидной клетки образуются 4 гаплоидные (рис. 3.12).

Мейоз включает два следующих сразу друг за другом деления: 1 – редукционное и 2 - эквационное (уравнительное).

Особенностью интерфазы, предшествующей мейозу, является то, что в клетке не полностью происходит репликация ДНК (от 0,3 до 2% участков ДНК остаются недореплицированными) и синтез белков-гистонов (не образуется от 7 до 25% гистонов). Это является необходимым условием для последующей конъюгации хромосом в профазе I путем соединения комплементарных недореплицированных участков гомологичных хромосом. Набор генетического материала - *2n4c*.

Редукционное деление начинается с профазы I, которая *принципиально отличается* от профазы митоза. Профаза I состоит из стадий: лептотена, зиготена, пахитена, диплотена, диакинез. Формула хромосом – *2n4c*.

Лептотена (стадия тонких нитей). Хорошо видны отдельные нити очень тонких (слабо спирализованных) и длинных (в 2-5 раз длиннее метафазных) хромосом. Хромосомы в это время состоят из двух хроматид, соединенных общим участком — центромерой. Это говорит о том, что удвоение хромосом, их редупликация, в основном произошла в интерфазе, предшествующей мейозу.

Зиготена (стадия конъюгирующих нитей). Гомологичные хромосомы соединяются друг с другом (коньюгируют), образуя биваленты. Этот процесс начинается с недореплицированных участков и затем происходит по типу «застежки-молния» (рис. 3.13). Такое объединение хромосом-гомологов осуществляется благодаря присущей только мейозу уникальной структуре – синаптонемальному комплексу. Синаптонемальный комплекс обеспечивает тесный контакт между гомологичными сегментами хроматид. Это важное генетическое событие, поскольку конъюгация делает возможным обмен участками между несестринскими хроматидами гомологичных хромосом, приводя к качественному изменению внутренней генетической структуры хромосом. Этот обмен участками между хроматидами

гомологичных хромосом получил название «кроссинговер». Каждая пара конъюгирующих гомологичных хромосом образует бивалент. Бивалент, таким образом, состоит из четырех хроматид, поэтому бивалент называют тетрадой.

Пахитена (стадия толстых нитей). Хромосомы несколько укорачиваются и утолщаются. Между хроматидами материнского и отцовского происхождения в нескольких местах возникают соединения – *хиазмы* (от греч. *chiasma* – перекрест), или рекомбинантные узелки. Они представляют собой белковые комплексы размерами около 90 нм. В области каждой хиазмы происходит обмен соответствующих участков гомологичных хромосом – от отцовской к материнской и наоборот. Этот процесс называют *кроссинговером* (от англ. *crossing-over* – перекрест). Таким образом, кроссинговер обеспечивает многочисленные генетические рекомбинации.

В каждом биваленте человека в профазе I кроссинговер происходит в среднем в двух-трех участках. Количество рекомбинантных узелков равно количеству перекрестков. По окончании кроссинговера хроматиды разъединяются, но остаются связанными в области хиазм.

Диплотена (от греч. *diploos* –двойной) – стадия двойных нитей. Продолжается спирализация хромосом: происходит терминализация хиазм, в результате взаимного отталкивания гомологичных хромосом.

Синаптонемальные комплексы распадаются, конъюгировавшие хромосомы раздвигаются, и гомологичные хромосомы каждого бивалента отодвигаются друг от друга, но связь между ними сохраняется в зонах хиазм. Процесс отталкивания начинается в области центромеры и распространяется к концам бивалента. В это время хорошо видно, что бивалент состоит из двух хромосом (откуда и название стадии «двойные нити»). В биваленте обособлены четыре хроматиды, поэтому бивалент называют тетрадой. В это же время становится видно, что тела двух гомологичных хромосом переплетаются. Фигуры перекрещенных хромосом напоминают греческую букву «хи» (χ), поэтому места перекреста назвали хиазмами. Наличие хиазм связано с произошедшим кроссинговером. По мере прохождения этой стадии хромосомы как бы раскручиваются, происходит пе-

ремещение хиазм от центра к концам хромосом (терминализация хиазм). Это обеспечивает возможность движения хромосом к полюсам в анафазе.

Диакинез (стадия движения вдаль или стадия расхождения нитей). Биваленты, которые заполняли весь объем ядра, начинают перемещаться ближе к ядерной оболочке. К концу диакинеза контакт между хроматидами сохраняется только на концах бивалента. Исчезновение оболочки ядра и ядрышек и окончательное формирование веретена деления завершают профазу I.

Таким образом, в профазу I происходят два важных события - *конъюгация* гомологичных хромосом (образуются биваленты) и *кроссинговер* - обмен между гомологичными участками несестринских (отцовской и материнской) хроматид. Формула хромосом - *2n4c*.

Метафаза I. Хромосомы устанавливаются в экваториальной плоскости, образуя метафазную пластинку. В отличие от митоза, хромосомные микротрубочки прикрепляются к центромере лишь с одной стороны (со стороны полюса), а центромеры гомологичных хромосом расположены по обеим сторонам экватора. Связь между хромосомами с помощью хиазм продолжает сохраняться (биваленты-тетрады выстраиваются по экватору так, что оба члена каждой гомологичной пары направлены своими центромерами к противоположным полюсам). Набор генетического материала *2n4c*.

Анафаза I. К полюсам клетки расходятся гомологичные хромосомы из каждого бивалента, но центромеры пока не делятся. В результате расхождения хромосом происходит независимое сочетание отцовских и материнских клеток на противоположных полюсах клетки, у каждого полюса число хромосом уменьшается вдвое, т.е. происходит редукция числа хромосом (*n2c*). В этот редуцированный гаплоидный набор попадает обязательно по одной гомологичной хромосоме из каждого бивалента. Набор генетического материала в клетке *2n4c (2×n2c*).

Телофаза I. Хромосомы достигают полюсов, у каждого полюса оказывается гаплоидное число хромосом (истинная редукция хромосом). Полной деспирализации хромосом не происходит. Формируются ядерная оболочка и ядрышко, образуется и углубляется борозда деления, происходит

кариокинез. *Цитокинез* у многих организмов происходит не сразу после деления ядер, так что в одной клетке лежат два ядра, более мелких, чем исходное.

Затем наступает стадия *интеркинеза,* которая отличается от интерфазы I тем, что в ней не происходит синтеза ДНК и удвоения хромосом. Поэтому, вступая во второе мейотическое деление, клетка содержит гаплоидный набор удвоенных хромосом. Формула хромосом - *n2c* в каждом ядре. Интеркинез – это промежуточная стадия между редукционным и эквационным делениями мейоза.

Вслед за интеркинезом наступает **второе деление мейоза— эквационное**. Оно проходит по типу митоза, только в него вступает клетка не диплоидным (*2n4c*), а с гаплоидным (*n2c*) числом хромосом, состоящих из двух хроматид (их удвоение произошло еще в интерфазу перед мейозом 1). Эквационное деление состоит из тех же фаз, что и митоз: *профаза II, метафаза II* , *анафаза II* (хроматиды расходятся к полюсам), *телофаза II* (в каждом ядре - гаплоидное число однонитевых хромосом). После окончания мейоза происходит цитокинез, в результате которого образуются четыре гаплоидные клетки с набором хромосом *nc* в каждой.

Основные отличия мейоза от митоза представлены на рис. 3.14.

Биологическое значение мейоза

1. Благодаря мейозу во всех живых организмах при половом размножении поддерживается постоянство числа хромосом (кариотипа) в поколениях организмов.

2. Мейоз - мощный фактор комбинативной изменчивости. Механизмы комбинативной изменчивости:

1. Благодаря кроссинговеру происходит рекомбинация генов гомологичных хромосом (отцовской и материнской). В результате образуются качественно новые, рекомбинантные хромосомы.

2. В связи с независимым расхождением отцовских и материнских хромосом в анафазе 1 деления происходит рекомбинация на уровне целых хромосом - рекомбинация отцовских и материнских хромосом в гаметах. Благодаря такому механизму достигается большое число новых сочетаний

наследственной информации. Оно может быть выражено формулой 2^n, где n – число хромосом в гаплоидном наборе. Например, у дрозофилы n = 4 и количество типов гамет, обеспечиваемое комбинацией родительских хромосом в них, равно $2^4 = 16$. У человека n = 23, и разнообразие гамет, обусловленное этим механизмом, соответствует 2^{23}, или 8 388 608.

3. Независимое сочетание хромосом в зиготе при оплодотворении.

ГАМЕТОГЕНЕЗ

Гаметогенез – процесс формирования половых клеток: мужских – сперматогенез, женских - овогенез.

Сперматогенез

Сперматогенез происходит в мужских половых железах – семенниках (рис. 3.15-А). Семенник состоит из многочисленных канальцев. На поперечном разрезе через каналец видно, что его стенка состоит из нескольких слоев клеток, которые представляют собой последовательные стадии развития сперматозоида. Наружный слой – сперматогонии. Сперматогонии развиваются из первичных половых клеток, образующих семенники на ранних стадиях эмбрионального развития.

Когда организм достигает периода половой зрелости (у мальчиков – в возрасте 13-16 лет) сперматогонии начинают быстро делиться путем митоза. Это ***период размножения (I)*** сперматогониев, который продолжается на протяжении всего периода половой зрелости мужской особи. Часть сперматогониев перемещается в следующую зону – зону роста, расположенную ближе к просвету семенного канальца.

В ***период роста (II)*** происходит увеличение объема цитоплазмы и клеточных размеров. Важным событием этого периода является репликация ДНК и удвоение хромосом (набор хромосом *2n4c*) – сперматоциты I порядка.

Следующий период – ***период созревания (III).*** Основным событием этого периода является мейоз, включающих два последовательных деления (редукционное и эквационное). В результате редукционного деления образуются сперматоциты II порядка (набор *n2c*), затем – сперматиды (хромо-

сомный набор *nc*). Сперматиды – клетки с гаплоидным набором хромосом.

Процесс сперматогенеза завершается ***периодом формирования (IV).*** Сперматиды перемещаются ближе к просвету семенного канальца, меняется их форма, формируются зрелые сперматозоиды – клетки, способные к передвижению, которые выходят в просвет канальца.

Таким образом, сперматогенез включает 4 периода: размножение, рост, созревание и формирование. Из одного сперматогония образуется 4 зрелых сперматозоида.

Морфология сперматозоидов

Сперматозоиды – очень маленькие клетки, обладающие способностью к передвижению. Сперматозоид имеет головку, шейку и хвост (см. рис. 3.15-Б). На переднем конце головки расположена акросома, состоящего из видоизмененного комплекса Гольджи. В ней содержится фермент для растворения оболочки яйца. Основную массу головки занимает ядро. В шейке находятся центриоль и много митохондрий. От шейки отрастает хвост, представляющий собой жгутик – специализированный органоид для передвижения.

Овогенез

Процесс развития женских половых клеток (яйцеклеток) называется овогенезом. Овогенез происходит в женских половых органах – яичниках (рис. 3.15). Периоды развития яйцеклеток сопоставимы с периодами сперматогенеза.

Овогонии развиваются из первичных половых клеток, мигрирующих в яичник на ранней стадии эмбриогенеза. ***Период размножения (I)*** овогоний у млекопитающих и человека заканчивается еще до рождения. Сформировавшиеся к этому времени овоциты I порядка (*2n4c*) находятся в специальных пузырьках – фолликулах и сохраняются в яичнике без изменения многие годы. С наступлением половой зрелости (12-15 лет для девочек) один раз в 28-32 дня один из фолликулов начинает расти, овоцит увеличивается в размерах – это ***период роста (II),*** окружается фолликулярными клетками, обеспечивающими его питание.

Наступает ***период созревания (III).*** Под влиянием женских половых

гормонов овоцит I порядка проходит редукционное деление мейоза. Образуется один овоцит II порядка и одно полярное тельце. Второе мейотическое деление в яичнике проходит только до стадии метафазы II. На этой стадии фолликул находится на поверхности яичника, происходит овуляция – выход овоцита II порядка из фолликула в брюшную полость и затем в маточные трубы. Дальнейшее созревание овоцита не произойдет до тех пор, пока не наступит оплодотворение – слияние со сперматозоидом, который стимулирует завершение мейоза в овоците.

Т.о., овогенез включает 3 периода: размножение, рост и созревание. Из одного овоцита I порядка образуется только 1 зрелая яйцеклетка и 3 полярных тельца.

Морфология яйцеклеток

Зрелая яйцеклетка имеет шарообразную форму или слегка вытянутую форму. Она содержит все основные компоненты, т.е. плазмолемму, ядро, цитоплазму. Цитоплазма заполнена свободнолежащими рибосомами. Хорошо развита ЭПС, митохондрии развиты умеренно. Комплекс Гольджи на ранних стадиях развития яйцеклетки располагается около ядра, окружая центросому. В ходе созревания яйцеклетки центросома исчезает, а комплекс Гольджи смещается на периферию цитоплазмы. Из включений особое внимание заслуживает желток – питательный материал. Ядро имеет сферическую форму, содержит одно или несколько ядрышек.

Размеры яйцеклеток значительно крупнее соматических и зависят от количества накапливаемого желтка. Размер яйцеклетки человека в поперечнике достигает 130–200 мкм. У некоторых видов животных накапливается столько питательного желтка, что они могут быть видны невооруженным глазом (икринки рыб, земноводных). У сельдевой акулы – 29 см в диаметре. У птиц считается яйцом то, что в повседневной жизни называется «желтком». Диаметр яйца страуса – 10,5, курицы – 3,6 см.

Яйцеклетки покрыты оболочками, которые по происхождению бывают первичными, вторичными и третичными. Первичная оболочка образуется из поверхностного слоя, т.е. цитолеммы, еще незрелой половой клетки (овоцита) она пронизана микроворсинками и отростками фоллику-

лярных клеток. По этим структурам в овоцит поступают питательные вещества. Вторичная оболочка образована фолликулярными клетками. Третичные оболочки формируются во время прохождения яйцеклеток по яйцеводам из веществ, секретируемых железами стенок яйцеводов. Третичными оболочками являются белковая, подскорлуповая и скорлуповая оболочки яиц птиц. Яйцеклетки плацентарных млекопитающих и человека третичной оболочки не имеют.

Яйцеклетка человека также имеет первичную оболочку (вителлиновая). Снаружи от первичной оболочки располагаются фолликулярные клетки, образующие вторичную оболочку. Часть вторичной оболочки, которая представлена тонкими и прозрачными отростками, контактирующими с плазмолеммой, называется светлой или блестящей зоной (*Zonapellucida*). Каждое яйцо окружено лучистым венцом (*Coronaradiata*). Это та часть вторичной оболочки, где сконцентрированы ядра фолликулярных клеток. Фолликулярный эпителий принимает участие в питании яйцеклетки, а также выполняет защитную, барьерную и гормональную функции.

По количеству желтка различают 3 типа яйцеклеток: алецитальные (характерны для человека) и олиголецитальные (маложелтковые), мезолецитальные (среднежелтковые), полилецитальные (многожелтковые). По расположению желтка яйцеклетки бывают *изолецитальными*_(желтка немного, он распределен равномерно, такой тип характерен для низших хордовых, иглокожих, млекопитающих), *телолецитальными* (желтка много, он сосредоточен на одном из полюсов, характерен для птиц, земноводных, рептилий) и *центролецитальными* (желток находится в центре клетки вокруг ядра, встречается у насекомых).

В овогенезе яйцеклетки приобретают полярность: формируются вегетативный и анимальный полюса, возникает различие состава участков цитоплазмы. Это явление называется овоплазматической сегрегацией.

Основные формы полового размножения

Хотя в процессе развития жизни бесполое размножение возникло первым, половое размножение существует на Земле более 3 млрд. лет. Половое размножение характеризуется наличием полового процесса, при ко-

тором происходит слияние гаплоидных (т.е. с одинарным набором хромосом) половых клеток (гамет). Гаметы образуются в результате особого вида деления клеток – мейоза.

Половой процесс у одноклеточных происходит по типу конъюгации и копуляции.

Конъюгация – это половой процесс, заключающийся во временном объединении двух особей и обмене частями их ядерного аппарата, а также небольшим количеством цитоплазмы. Конъюгация происходит у инфузорий при неблагоприятных условиях (рис. 3.1). В ходе конъюгации макронуклеус каждой инфузории разрушается, а микронуклеус делится мейозом, после чего три ядра разрушаются, а четвертое делится митозом, в результате чего образуются два гаплоидных ядра. Одно из них (стационарное) остается в теле материнской клетки, второе (миграционное) по цитоплазматическому мостику переходит в тело партнера, после чего происходит слияние обменявшихся ядер с оставшимися и образуется синкарион с диплоидным набором хромосом. Затем инфузории расходятся, синкарион каждой особи делится, и образуются макро- и микронуклеусы. Конъюгация инфузорий – половой процесс без размножения, приводящий к комбинативной изменчивости.

Копуляция – это половой процесс у одноклеточных организмов, при котором две особи приобретают половые различия, т.е. превращаются в гаплоидные гаметы в результате размножения мейозом. Далее происходит попарное слияние гамет разных особей с образованием диплоидной зиготы.

В процессе эволюции степень различия гамет нарастает. В зависимости от размеров и подвижности сливающихся гамет различают виды копуляции:

a) изогамия – различия между гаметами отсутствуют: копулирующие гаметы подвижные и имеют одинаковые размеры (раковинная корненожка полистомелла);

b) анизогамия – сливаются гаметы разного размера (макрогамета и микрогамета, но подвижные (колониальные жгутиконосцы);

c) овогамия – сливаются неподвижная макрогамета и подвижная микрогамета (вольвокс).

Половое размножение многоклеточных организмов может быть с оплодотворением и без оплодотворения (партеногенез).

Оплодотворению предшествует осеменение, обеспечивающее встречу мужских и женских гамет. Осеменение может быть наружным (характерно для животных, обитающих в воде) и внутренним (у животных, обитающих на суше).

Процесс оплодотворения складывается из трех последовательных фаз: сближения гамет, активация яйцеклетки, слияние гамет (сингамия).

I фаза сближения гамет. Сближению сперматозоида с яйцеклеткой способствуют и повышают вероятность их встречи следующие факторы:

- скоординированность наступления готовности к оплодотворению у самца с самкой;
- поведение самцов и самок, обеспечивающие совокупление и осеменение;
- избыточная продукция сперматозоидов;
- крупные размеры яйцеклетки;
- вырабатываемые яйцеклеткой и сперматозоидами химические вещества, способствующие сближению и взаимодействию половых клеток. Эти вещества называется *гамонами* (гормоны). Гамоны активируют движение сперматозоида и их склеивание.

Перемещение сперматозоидов по половым путям самки (влагалище – матка – маточные трубы), во время которого происходит его активация – это дистантное взаимодействие сперматозоида и яйцеклетки. Движение сперматозоидов осуществляется за счет собственной двигательной активности (10 см. мин), сокращения половых органов (по типу «гармошки»), движения ресничек в женских половых путях, направленного тока жидкости от маточной трубы к влагалищу. Сперматозоиды двигаются в противоположном направлении, против тока и этим определяют направление своего движения. Встреча гамет происходит в верхних отделах маточных труб. Яйцеклетка сохраняет способность к оплодотворению не более суток (24 часа), сперматозоиды – до 5 дней, если находятся в половых путях самки. Оплодотворение происходит при определенной концентрации сперматозо-

идов (около 350 млн.) и их подвижности (10 см/мин).

У млекопитающих большое значение имеет пребывание сперматозоида в половых путях самки, в результате чего сперматозоиды приобретают оплодотворяющую способность (капацитация), т.е. способность к акросомной реакции.

II фаза активации яйцеклетки. Проникновение сперматозоида в яйцеклетку (рис. 3.18). К яйцеклетке подходит одновременно множество сперматозоидов, но проникает только один.

В акросоме сперматозоида локализуются протеолитические ферменты. В момент контакта сперматозоида с оболочкой яйцеклетки происходит *акросомная реакция*:

1) под действием протеолитических ферментов яйцевые оболочки растворяются;

2) плазматические мембраны яйцеклетки и сперматозоида сливаются и через образующийся вследствие этого цитоплазматический мостик цитоплазмы обеих гамет объединяются;

3) в цитоплазму яйца переходит ядро и центриоль сперматозоида, мембрана сперматозоида встраивается в мембрану яйцеклетки, хвостовая часть сперматозоида у большинства животных тоже входит в яйцеклетку, но потом отделяется и рассасывается, не играя какой-либо роли в дальнейшем развитии.

Таким образом, в результате контакта сперматозоида с яйцеклеткой происходит ее *активация* – это сложные структурные и физико-химические изменения. Благодаря тому, что участок мембраны сперматозоида проницаем для ионов натрия, ионы натрия начинают проникать внутрь яйца, изменяя мембранный потенциал клетки. Затем в виде волны, распространяющейся из точки соприкосновения гамет, происходит увеличение содержания ионов кальция, вслед за чем также волной растворяются кортикальные гранулы. Выделяемые при этом специфические ферменты способствуют отслойке желточной оболочки; она затвердевает и называется *оболочкой оплодотворения*. Эти процессы называются *кортикальной реакцией.*

У таких животных, как морской еж, костистые рыбы и земноводные, все изменения цитоплазмы сопровождаются видимыми морфологическими перестройками. Эти явления называются расслоением или *сегрегацией*.

Активация яйцеклетки завершается началом синтеза белка на трансляционном уровне, так как мРНК, тРНК, рибосомы и энергия были запасены еще в овогенезе.

Яйцеклетка в момент встречи со сперматозоидом обычно находится на одной из стадий мейоза, заблокированной с помощью специфического фактора. У большинства позвоночных этот блок осуществляется на стадии метафазы II; у многих беспозвоночных, а также у трех видов позвоночных (лошади, собаки и лисицы) блок происходит на стадии диакинеза. В большинстве случаев блок мейоза снимается после активации яйцеклетки вследствие оплодотворения. В то время как в яйцеклетке завершается мейоз, ядро сперматозоида, проникшее в нее, видоизменяется. Оно принимает вид интерфазного, а затем профазного ядра. За это время удваивается ДНК и *мужской пронуклеус* получает количество наследственного материала – *2с*, т.е. содержит гаплоидный набор редуплицированных хромосом.

III фаза сингамии. Ядро яйцеклетки, закончившее мейоз, превращается в*женский пронуклеус*, также приобретая *2с*. Оба пронуклеуса сближаются, затем сливаются (*синкарион*), образуя общую метафазную пластинку. Это и есть момент окончательного слияния гамет – *сингамия*. Формируется диплоиднай клетка - зигота (формула хромосом – *nc+nc=2n2c*). *Зигота* – это начальный этап развития нового организма. Первое митотическое деление зиготы приводит к образованию двух клеток зародыша (бластомеров) с набором хромосом *2n2c*. Последующие деления зародыша путем дробления продолжаются в течение 7 дней. В этот период зародыш перемещается по маточным трубам и попадает в полость матки, где происходит имплантация: 7-дневный зародыш (бластоцист) внедряется в слизистую матки, где происходит его дальнейшее развитие.

Партеногенез (от греч. *parthenos* – девстенница, *genos* – рождение) – развитие из неоплодотворенных яиц, позволяющее особи производить потомком без оплодотворения. Различают *естественный* и *искусственный партеногенез*.

В случае *естественного* партеногенеза развитие идет на основе цитоплазмы и пронуклеуса яйцеклетки (растения, черви, насекомые, ракообразные). Особи, формирующиеся из яйцеклетки, имеют либо гаплоидный, либо диплоидный набор хромосом, так как чаще всего в начале дробления срабатывает один их механизмов удвоения числа хромосом. В одних случаях в ходе мейоза выпадает стадия редукции числа хромосом и яйцеклетка получается с диплоидным пронуклеусом. В других случаях диплоидизация происходит во время первого деления дробления, при котором не происходит цитотомии.

У пчел, муравьев встречается *факультативный* партеногенез. У пчел он используется как механизм генотипического определения пола: женские особи (рабочие пчелы и царицы) развиваются из оплодотворенных яйцеклеток, а мужские (трутни) – партеногенетически. Таким образом регулируется численное соотношение полов.

Облигатный (лат. *obligato* – обязательство) партеногенез, например, наблюдается у кавказской скальной ящерицы. Он обеспечивает рост численности особей в условиях, затрудняющих встречу партнеров противоположного пола.

Партеногенез может быть у птиц. У одной из пород индеек некоторые яйца развиваются партеногенетически, из них появляются только самцы.

У многих видов партеногенез происходит циклически. У тлей, дафний в летнее время существуют только самки, размножающиеся партеногенетически, а осенью имеет место размножение с оплодотворением. Такое чередование форм размножения связано с большой гибелью особей.

Искусственный партеногенез обнаружен в 1886 году А.А. Тихомировым. Большой вклад внесли Б.Л. Астауров, В.А. Струнников.

В естественных условиях функцию активации яйцеклетки выполняет сперматозоид после проникновения в яйцеклетку. В эксперименте активация может быть вызвана различными воздействиями: химическим, механическим, электрическим, термическим и т.д. Эти факторы изменяют метаболизм яйцеклетки и активируют ее. На тутовом шелкопряде было показано, что с помощью искусственного партеногенеза можно регулировать

соотношение мужского и женского пола в популяции, получая большой экономический эффект.

Естественный партеногенез чаще всего случается при незавершенном оплодотворении, т.е. в тех случаях, когда имела место активация яйцеклетки, но ядро сперматозоида не участвовало в оплодотворении. В активированных яйцах используется информация только женского пронуклеуса. Такой вид партеногенеза называется *гиногенезом*. При искусственном партеногенезе можно удалить женский пронуклеус, и тогда развитие осуществиться только за счет мужских пронуклеусов. Это *андрогенез*. В специальных опытах на морских ежах было установлено, что потомки наследуют либо только признаки матери при гиногенезе, либо только признаки отца – при андрогенезе. Это указывает на то, что наследственные свойства особи определяются в основном ядром, а не цитоплазмой.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ:

1. Какое строение и функции имеет клеточное ядро?
2. Что такое клеточный цикл?
3. Как происходит регуляция клеточного цикла?
4. Назовите и охарактеризуйте периоды митоза. Какие преобразования хромосом характерны для митоза (формула хромосом)?
5. В чем заключается биологическое значение митоза?
6. Что такое амитоз, эндомитоз и эндоредупликация?
7. Назовите и охарактеризуйте периоды мейоза.
8. В чем заключается биологическое значение мейоза?
9. Что такое гаметогенез?
10. Охарактеризуйте сперматогенез и овогенез.
11. Перечислите и охарактеризуйте основные способы бесполого и полового размножения организмов.

Лекция 4

БИОЛОГИЯ ИНДИВИДУАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ: ЭМБРИОНАЛЬНЫЙ И ПОСТЭМБРИОНАЛЬНЫЙ ПЕРИОДЫ

ПЛАН ЛЕКЦИИ:

1. **СУЩНОСТЬ И ПЕРИОДИЗАЦИЯ ОНТОГЕНЕЗА**
2. **ЭМБРИОНАЛЬНЫЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ ХОРДОВЫХ**
3. **ТЕОРИИ ОНТОГЕНЕЗА. КРИТИКА ПРЕФОРМИЗМА И ЭПИГЕНЕЗА**
4. **ОСОБЕННОСТИ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ЧЕЛОВЕКА.**
5. **ПРОВИЗОРНЫЕ ОРГАНЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И ЧЕЛОВЕКА**
6. **ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ЭМБРИОГЕНЕЗА. ЭМБРИОНАЛЬНАЯ ИНДУКЦИЯ**
7. **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ**
8. **КРИТИЧЕСКИЕ ПЕРИОДЫ ЭМБРИОГЕНЕЗА**
9. **ПЕРИОДИЗАЦИЯ ПОСТЭМБРИОНАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА.**
10. **ГИПОТЕЗЫ СТАРЕНИЯ.**
11. **СМЕРТЬ, КАК ЗАКОНОМЕРНЫЙ ЭТАП ОНТОГЕНЕЗА**
12. **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ**

СУЩНОСТЬ И ПЕРИОДИЗАЦИЯ ОНТОГЕНЕЗА

Онтогенез - это процесс индивидуального развития организма, в основе которого лежит реализация наследственной информации на всех стадиях развития. Он начинается образованием зиготы и заканчивается смертью. Термин «онтогенез» введен в 1866 г. Э. Геккелем (1834–1919). В ходе онтогенеза в конкретных условиях среды реализуется наследственная программа, закодированная в ДНК синкариона зиготы.

В онтогенезе выделяют следующие основные периоды (рис. 4.1):

1. Предзародышевый (проэмбриональный, предэмбриональный), включающий развитие половых клеток (гаметогенез) и оплодотворение;

2. Зародышевый (эмбриональный), начинающийся с образования зиготы и заканчивающийся выходом организма из яйцевых или зародышевых оболочек;

3. Послезародышевый (постэмбриональный), включающий развитие с момента выхода из яйцевых (зародышевых) оболочек до смерти организма.

У плацентарных млекопитающих и человека выделяют *дородовый* (*антенатальный*) и *послеродовый* (*постнатальный*) периоды, соответствующие эмбриональному и постэмбриональному периодам.

ЭМБРИОНАЛЬНЫЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ ХОРДОВЫХ

Эмбриональный период развития происходит под покровом яйцевых оболочек (у плацентарных – в утробе материнского организма) и характеризуется ограниченным опосредованным действием факторов окружающей среды на развивающийся организм. Начало новому организму дает оплодотворенная яйцеклетка (исключение составляют случаи партеногенеза и вегетативного размножения). Оплодотворение представляет собой процесс слияния двух половых клеток (гамет) друг с другом, в ходе которого осуществляются две разные функции: половая (комбинирование генов двух родительских особей) и репродуктивная (возникновение нового организма). Первая из этих функций включает передачу генов от родителей потомкам, вторая – инициацию в цитоплазме яйцеклетки тех реакций и перемещений, которые позволяют продолжить развитие. В результате оплодотворения в яйцеклетке восстанавливается двойной *(2n*) набор хромосом. Центросома, внесенная спермием, после удвоения образует веретено деления, и зигота вступает в первую стадию эмбриогенеза – стадию дробления. В результате митоза из зиготы образуется две дочерние клетки – бластомеры.

Дробление – это ряд последовательных митотических делений зиготы, которые заканчиваются образованием многоклеточного однослойного

зародыша – бластулы (рис. 4.2).

Деления дробления отличаются от последующих делений следующими признаками:

1. Отсутствуют периоды G_1 и G_2, в промежутках между делениями клетки не растут, так что общий объем зародыша не увеличивается.

2. Образующиеся клетки - бластомеры - не дифференцируются; это означает, что они не приобретают признаков тканевой специфичности и являются тотипотентными (стволовые клетки).

3. В результате дробления формируется группа тесно прилегающих друг к другу клеток – морула.

4. В моруле образуется полость - бластоцель.

Завершается дробление образованием однослойного зародыша – бластулы, в которой различают бластоцель и бластодерму.

Яйцеклетка характеризуется анимально-вегетативным градиентом. Различают анимальный полюс, у которого происходило выделение редукционных телец, и вегетативный полюс, у которого скапливается желток при неравномерном распределении в цитоплазме. Ось, проходящая от анимального полюса к вегетативному, называется анимально-вегетативной осью. Количество желтка в олиголецитальных и мезолецитальных яйцеклетках возрастает по направлению от анимального к вегетативному полюсу.

Особенности дробления зиготы зависят от количества желтка и характера его распределения в цитоплазме зиготы (яйцеклетки). Различают два типа дробления, зависящие от количества желтка в яйце:

1) *полное, или голобластическое*, дробление, свойственное зиготам, образующимся из гомолецитальных (или изолецитальные, как у ланцетника, и мезолецитальных яиц (среднее количество яиц) как у амфибий;

2) *неполное*, или *меробластическое*, дробление, характерное для зигот, образующихся из яиц, содержащих большое количество желтка (полилецитальные и мезолецитальные яйца), который при дроблении не делится.

Полное (голобластическое) дробление бывает *равномерным* (ланцетник) и *неравномерным* (амфибии). У последних образуются малые и большие бластомеры, называемые соответственно микромерами и макромерами.

Стадия дробления разделяется на две фазы:

1) ***фаза синхронного дробления*** характеризуется одинаковой для всех клеток скоростью деления, обеспечивающей синхронность их деления;

2) ***фаза бластуляции***, на которой исчезает синхронность деления клеток (у млекопитающих первая фаза отсутствует).

Дробление характеризуется увеличением в бластомерах *количества ДНК по отношению к количеству цитоплазмы*, а также *ведущей ролью цитоплазмы бластомеров в их судьбе.* Бластомерами унаследуются разные участки цитоплазмы зиготы, которые по-разному влияют на активацию генов. Поскольку цитоплазма унаследована только от яйцеклетки, то развитие на стадии дробления протекает как бы по материнскому пути.

Гаструляция – формирование многослойного зародыша. Сущность стадии гаструляции заключается в том, что однослойный зародыш – бластула – превращается в многослойный (2 или 3-слойный), называемый *гаструлой* (рис. 4.3). Слои называются зародышевыми листками.

Этапы гаструляции:

1 этап – образование 2-х слойного зародыша, состоящего из экто и энтодермы.

2 этап – образование 3-го зародышевого листка - мезодермы.

Первый этап гаструляции у разных животных протекает по-разному. Различают четыре основных способа: инвагинация, иммиграция, делямминация, эпиболия. "Классический" вариант гаструляции - это гаструляция ***путем инвагинации***. В этом случае на поверхности бластулы (обычно - на вегетативном полюсе) образуется впячивание. Отверстие, ведущее из этого впячивания наружу называется бластопор (первичная кишка). Края бластопора образуют дорсальную, вентральную и две латеральные губы. У первичноротых бластопор превращается в дефинитинный (окончательный) рот, у вторичноротых он преобразуется в анальное отверстие, а рот формируется на противоположном конце зародыша. Полость первичной кишки называется гастроцель, или архентерон.

Другой путь - гаструляция путем ***иммиграции (перемещение)***. В

случае иммиграции происходит выселение отдельных клеток бластодермы в бластоцель из одного места (*униполярная иммиграция*) или из разных мест (*мультиполярная иммиграция*). Оказавшиеся внутри после миграции в бластоцель клетки дают начало энтодерме, а остальные клетки бластодермы превращаются в эктодерму. Гастроцель при этом не образуется (кишечнополостные).

Следующий способ – ***деляминация (расслоение)***. При деляминации митотическое веретено в клетках бластодермы ориентируется перпендикулярно поверхности бластулы, а борозда деления, в свою очередь, располагается параллельно последней. После деления клеток бластодермы происходит ее расслоение на наружный (эктодерма) и внутренний (энтодерма) листки.

Гаструляция путем ***эпиболии*** – характеризуется обрастанием мелкими клетками анимального полюса более крупных и менее подвижных, отстающих в скорости деления клеток вегетативного полюса. В этом случае располагающиеся снаружи микромеры дают начало эктодерме, находящиеся внутри макромеры формируют энтодерму.

Эти способы редко встречаются в чистом виде, обычно гаструляция происходит по смешанному типу: инвагинация сочетается с эпиболией (земноводные), деляминация с иммиграцией (иглокожие).

Третий или средний зародышевый листок называется **мезодермой**, он образуется между экто- и энтодермой. Различают два способа образования мезодермы: телобластический и энтероцельный. ***Телобластический способ*** заключается в том, что вблизи бластопора с двух сторон первичной кишки образуются две крупные клетки – телобласты. В результате их деления образуются мелкие клетки, располагающиеся между экто- и энтодермой и формирующие мезодерму. ***Энтероцельный способ*** характеризуется тем, что с двух сторон от первичной кишки образуются впячивания – карманы – целомические мешки, которые затем полностью отшнуровываются от первичной кишки и разрастаются между экто- и энтодермой, формируя мезодерму.

В результате гаструляции создается первичный план строения заро-

дыша, во многом, как правило, совпадающий с основным планом строения взрослого организма. Проспективные зародышевые листки, раньше граничившие лишь своими краями, теперь существуют реально и приходят в контакт своими поверхностями. Это создает возможность для взаимных влияний, которые служат пусковым механизмом для дальнейшего развития – возникновения различий между ранее одинаковыми клетками внутри зародышевого листка.

После завершения гаструляции начинается следующий этап – нейруляция (рис. 4.4). Это стадия первичного органогенеза, или стадия образования первичных органов, во время которого формируются осевые органы (нервная трубка, хорда, кишечная трубка).

Нейруляция – это процесс формирования хорды, нервной трубки, а также других осевых органов хордовых. Зародыш и фазе нейруляции называется *нейрулой*.

Нервная трубка закладывается дорсально, т.е. на спинной стороне зародыша. Вначале в ответ на индукционное воздействие клеток хордомезодермы пласт клеток эктодермы, расположенный над хордой (нейроэктодерма) обособляется в нервную пластинку. Края нервной пластинки (нервные валики) приподнимаются, возникает углубление (нервный желобок), валики смыкаются, образуя *нервную трубку с невроцелем* – полость трубки. Смыкание валиков происходит вначале в среднем, затем в заднем и, наконец, переднем отделах зародыша.

Под нервной трубкой располагается *хо рда*, по бокам хорды – *сегментированная мезодерма (сомиты*), от которой в латеральном и вентральном направлениях простирается несегментированная *мезодерма (спланхнотом).* Сомиты дифференцируются на *дерматом, миотом, склеротом.* Переходная зона между сегментированной и несегментированной мезодермой названа *нефротомом*. Еще до разделения зачатка мезодермы на сомиты из него выселяются клетки с отростками. К ним присоединяются клетки, выселяющиеся из эктодермы. Вместе они образуют *мезенхиму*, из которой развиваются все виды соединительных тканей, а также гладкая мускулатура, кровеносная и лимфатическая системы.

Гисто- и органогенез – процесс формирования постоянных (дефинитивных) органов. Сложные процессы, протекающие на этой завершающей стадии эмбриогенеза, являются объектом изучения частной эмбриологии. На рис. 4.5 показаны органы и ткани, развивающиеся из соответствующих зародышевых листков. Из эктодермы развиваются эпидермис кожи и его производные – перья, волосы, ногти, кожные и молочные железы, нервная система. Передний (расширенный) отдел нервной трубки преобразуется в головной мозг, остальная ее часть (передний и средний отделы) – в спинной мозг. *Энтодерма* дает начало внутренней выстилке пищеварительной и дыхательной систем, секретирующим клеткам пищеварительных желез. *Сомиты* претерпевают следующие преобразования: *дерматом*формирует дерму (глубокий слой кожи); *склеротом* участвует в образовании скелета (хрящевого затем костного); *миотом* дает начало скелетной мускулатуре. Из *нефротома* развиваются органы мочевыделения.

Несегментированная мезодерма (спланхнотом) дает начало плевре, брюшине, перикарду, участвует в развитии сердечно-сосудистой и лимфатической систем.

ТЕОРИИ ОНТОГЕНЕЗА. КРИТИКА ПРЕФОРМИЗМА И ЭПИГЕНЕЗА

Индивидуальное развитие представляет собой целостный непрерывный процесс, в котором отдельные события увязаны между собой во времени и пространстве. Биология индивидуального развития изучает способы генетического контроля развития и особенности реализации генетической программы в зависимости от условий. Под условиями понимают различные процессы и взаимодействия: внутриклеточные, межклеточные, тканевые, внутриорганные, организменные, популяционные, экологические и т.д. Усилия исследователей в области биологии развития концентрируются вокруг ключевой проблемы генетической предопределенности и лабильности онтогенетических процессов.

Сложность процессов, лежащих в основе онтогенеза, трудный и продолжительный путь их изучения стали одной из причин появления, разви-

тия и существования идеалистических течений в эмбриологии а затем и в биологии развития. Единой теории онтогенеза до сих пор не существует. Многие из предлагавшихся теорий характеризовались метафизическими и идеалистическими тенденциями. Это касается, прежде всего, теорий преформизма и эпигенеза.

Преформизм (от *лат.* «заранее образую») – учение о наличии в половых клетках материальных структур, предопределяющих развитие зародыша и признаки развивающегося из него организма(т.е. структура будущего организма во всех деталях представлена в половых клетках).

Преформизм возник на базе господствовавшего в XVII–XVIII вв. представления о преформации, согласно которому зародыш уже сформирован в половых клетках, и его дальнейшее развитие заключается только в увеличении в размерах.

Учёные того времени разделились на анималькулистов и овистов. Первые считали, что зародыш содержится в сперматозоидах, вторые – в яйцеклетках.

Преформистами были такие ученые, как Антони Левенгук, Марчелло Мальпиги и др.

Эпигенез – учение о постепенном развитии и новообразовании, в ходе которого строение организма усложняется. Это учение развивалось во второй половине XVIII в. П.-Л. Де Мопертюи, Ж.Л. Бюффоном и К.Ф. Вольфом (1734-1794), описавшим развитие зародыша курицы. В работе «Теория зарождения», К.Ф. Вольф продемонстрировал развитие зародышевых органов (кишечника, нервной системы) из примитивных пластов.

Значительный вклад в теорию эпигенеза внес К.М. Бэр (1792-1876), который в работе «История развития животных» (1828) показал преемственность последовательных стадий развития и усложнения строения зародыша, обнаружил сходство плана строения зародышей, оказавшегося тем большим, чем на более ранних этапах развития они рассматриваются (*закон «зародышевого сходства» К.М. Бэра*). Утверждающаяся концепция эпигенеза способствовала успешному развитию эмбриологии.

В конце XIX в. в связи с успехами цитологии оживились префор-

мистские взгляды, которые обобщили В. Ру (1850-1924) и другие основатели ***неопреформизма***. Они утверждали, что *каждый участок яйцеклетки представляет будущую определенную часть* организма (орган, систему органов).

В конце XIX в. возродилось эпигенетическое учение в форме ***неоэпигенеза***. Х. Дриш (1867-1945), изучивший развитие морских ежей из бластомеров, пришел к заключению, что пространственное упорядочение в развивающемся организме проходит под действием нематериального фактора – *энтелехии.* И только с развитием генетики в XX в. в эмбриологии получили распространение материалистические толкования закономерностей онтогенеза, основанные на признании ключевой роли генетической информации и факторов внешней среды в развитии живого организма.

Изменения в процессе онтогенеза включают изменения на разных уровнях организации особи: молекулярном, клеточном, тканевом, органном, системном. Являясь достаточно сложными, они исследуются учеными из различных областей биологии − генетиками, биохимиками, морфологами, эмбриологами и др. На стыке этих и других биологических дисциплин возникла самостоятельная биологическая наука − ***биология развития***, которая стала преемницей механики развития и эмбриологии в середине XX в. Биология развития изучает наследственные, молекулярные и структурно-функциональные основы развития организмов, механизмы клеточных взаимодействий и регуляции онтогенеза, обеспечивающие дифференцировку клеток, тканей и органов, а также целостность онтогенеза. Достижения биологии развития открывают большие перспективы для практики. Успешно разрабатываются, в частности, научные основы управления развитием животных и растений, регуляции пола и численности животных, опухолевого роста и др.

ОСОБЕННОСТИ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ЧЕЛОВЕКА. ФОРМИРОВАНИЕ ПРОВИЗОРНЫХ ОРГАНОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Эмбриональное развитие человека делится на начальный период (1 неделя), зародышевый (2-8 неделя), плодный (с 9 недели и до рождения).

В начальном периоде происходит полное неравномерное дробление с образованием морулы и бластоциста. Можно наблюдать стадии: 2; 3; 5; 7; 9 и 12 бластомеров. На стадии 12 бластомеров начинается дифференциация на темные бластомеры, располагающиеся по периферии, и светлые – находящиеся в центре. Из темных бластомеров образуется трофобласт, из светлых – зародышевый узелок – эмбриобласт. Затем происходит образование полости бластоцисты – бластоцеля (рис. 4.6).

На 6-7 день после оплодотворения зародыш погружается в стенку матки (имплантация) и начинает питаться секретом желез матки (маточное молочко).

В процессе органогенеза происходит развитие, а часто и замена одних органов другими. Органы зрелого организма называют **дефинитивными (окончательными).** На 16 сутки эмбрионального развития человека образуется зачаток хорды. В конце 3 недели начинается нейруляция. До 9 недели идет гисто и органогенез. К 9-й нед. (63 день) заложены все органы, наступает плодный период. Плодный период характеризуется ростом плода, дальнейшей дифференцировкой и началом функционирования.

ПРОВИЗОРНЫЕ ОРГАНЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И ЧЕЛОВЕКА

Важная роль в развитии зародыша позвоночных принадлежит **внезародышевым оболочкам, или провизорным органам**. Они являются временными органами и у взрослого организма отсутствуют. Провизорные органы обеспечивают важнейшие функции развивающегося зародыша, однако в состав его тела не входят, являясь, тем самым, внезародышевыми органами. К ним относятся *желточный мешок*, *амнион*, *хорион*, *аллантоис* и *плацента* (рис. 4.7).

Трофобласт, бурно размножаясь, внедряется в стенку матки, формируя ворсинки и превращается в ворсинчатую оболочку – ***хорион***. У живородящих млекопитающих хорион становится органом, обеспечивающим эмбрион питательными веществами. У сумчатых это происходит исключительно (или преимущественно) за счет выделяемой стенкой матки питательной жидкости – эмбриотрофа, или маточного молочка (смесь секрета маточных желез, а также распавшихся в полости матки лейкоцитов и капель жира). У плацентарных млекопитающих хорион в последующем участвует в формировании плаценты.

Клетки эмбриобласта дифференцируются на два пузыря: амниотический и желточный.

Желточный мешок формируется из энтодермы и внутреннего листка несегментированной мезодермы. У зародышей рыб, пресмыкающихся и птиц он выполняет функции питания и дыхания, у высших позвоночных – функции кроветворения и образования первичных половых клеток (гонобластов). У млекопитающих функционирующий лишь несколько дней желточный мешок выполняет, наряду с последними, также трофическую функцию, способствуя всасыванию секрета желез матки.

В отличие от рыб и земноводных (анамний) у пресмыкающихся, птиц и млекопитающих (амниот), кроме желточного мешка, развивается ***амнион.*** При этом вокруг эмбриона разрастается амниотическая складка, включающая эктодерму и наружный листок мезодермы. Ее края куполообразно смыкаются над эмбрионом и срастаются таким образом, что он оказывается окружен двумя оболочками (каждая состоит из эктодермы и мезодермы), отделенными друг от друга полостью, называемой *экзоцеломом*. Внешняя оболочка является хорионом, внутренняя – амнионом. Амнион заполнен амниотической жидкостью, что создает влажную среду для зародыша амниот. Он выполняет функции механической и, частично, биологической защиты, а также защиты зародыша от высыхания.

На участке, где амниотический и желточный пузыри соприкасаются, образуется двуслойный зародышевый щиток. Нижний слой щитка (гипобласт) является частью желточного мешка. Верхний слой (эпибласт) явля-

ется источником эктодермы, мезодермы, энтодермы.

Аллантоис - представляет собой вырост заднего отдела первичной кишки, образуемый энтодермой и внутренним листком несегментированной мезодермы. У птиц аллантоис является органом питания, дыхания и выделения. У млекопитающих аллантоис разрастается между амнионом и хорионом, затем сливается с хорионом, образуя хорионалантоисную оболочку, богатую кровеносными сосудами и участвующую в формировании плаценты. У человека, по мере роста зародыша, аллантоис, желточный мешок и кровеносные сосуды образуют пупочный канатик (пуповину).

Аллантоис прилегает к хориону своей внешней стенкой, а его сосуды, врастают в хорион и проникают в его ворсинки. Хорион вступает и тесную связь со стенкой матки, в которую внедряются его ворсинки. В этом месте материнский организм и соответствующий участок эмбриона образуют ***плаценту***.

В процессе эмбрионального развития человека плацента начинает формироваться на 18 день (2-3 нед.) из аллантоиса, хориона и слизистой оболочки матки. Плацента является единственным из известных для мира животных органом, в образовании которого принимают участие клетки двух разных организмов – материнского и дочернего (рис. 4.8). Связь между материнским организмом и эмбрионом у разных групп животных существенно различается. Она может быть такой слабой, что при рождении материнский организм и эмбрион разделяются без повреждений (плаценты 1-го и 2-го типов). В других случаях срастание зародышевой и материнской частей плаценты настолько прочно (3-й, 4-й типы), что при родах участвовавшие в образовании плаценты области стенки матки (*децидуальная оболочка*) отторгаются вместе с последом, образуя обширную раневую поверхность.

Плацента выполняет разнообразные функции:

1) обеспечивает эмбрион (плод) кислородом, транспортируя в обратном направлении образовавшуюся в результате его дыхания углекислоту (газообменная функция);

2) трофическая и выделительная функции: от материнского организ-

ма к плаценте передаются питательные вещества (аминокислоты, глюкоза, жирные кислоты), одновременно в обратном направлении поступают продукты распада, возникающие в ходе обмена веществ плода (например, мочевина);

3) эндокринная функция: не пропускает материнские половые гормоны, в результате чего половая система плода мужского пола развивается, как правило, нормально.

4) функция биологической защиты зародыша (плода). Однако плацента не служит барьером для вирусов, поэтому при вирусном заболевании матери (например, краснухой) органогенез плода оказывается под угрозой. У человека к концу беременности эритроциты плода обычно проникают и материнскую кровь, приводя в отдельных случаях к опасной резус-конфликтной ситуации (эритробластозу Rh^+ - плода у Rh^- - матерей).

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ЭМБРИОГЕНЕЗА

Организм человека образован огромным количеством ($\approx 10^{14}$) клеток, которые происходят в онтогенезе лишь от одной клетки − зиготы. В течение 285 дней из зиготы благодаря делению возникает 2×10^{12} клеток. Образующиеся клетки (бластомеры) вначале похожи друг на друга, но в дальнейшем развитии между ними возникают различия.

Возникновение в ходе онтогенеза биохимических, физиологических, морфологических и других различий между исходно однородными клетками и их объединениями называется дифференциацией, или дифференцировкой. Одни клетки приобретают способность к сокращению (мышечные), другие – к выделению секрета (железистые), третьи – к проведению импульса (нервные) и т. д.

Дифференциация − детерминированный, т. е. предопределенный и необратимый процесс. Клеточный материал считают детерминированным, начиная со стадии, на которой он впервые обнаруживает способность при пересадке в чуждое место дифференцироваться в орган, который образуется из него в норме.

Условно можно выделить три этапа дифференциации клеток, в ходе которой изменяется степень их детерминированности.

Первый этап – ***этап тотипотентности*** (сохранения равнонаследственности) клеток. Бластомеры видов с радиальным типом дробления сохраняют тотипотентность в течение нескольких поколений клеток (у гидромедузы до стадии 32 бластомеров, каждый из которых может развиваться в полноценный организм).

У человека случаи рождения 2-7 однояйцевых близнецов свидетельствуют о тотипотентности клеток на стадии до 7 бластомеров. На более поздних стадиях (бластула) клетки теряют тотипотентность, сохраняя, однако, способность к переопределению (трансдетерминации) пути дальнейшего развития. Тотипотентность сменяется однозначной детерминированностью постепенно.

Второй этап − ***этап зависимой дифференцировки***. Клеточный материал способен к трансдетерминации. Эксплантация зачатка органа, находящегося на втором этапе дифференцировки, в нетипичное окружение приведет к изменению хода его дифференцировки (трансдифференцировке). Например, пересаженный в эктодерму участок мезодермы амфибий развивается далее как эктодерма. Впоследствии возможность развития в нескольких направлениях резко сужается из-за канализации развития.

Третий этап − ***этап независимой дифференцировки***. Закономерные преобразования клеточного материала (ткани, органа) продолжаются даже при изменении внешних условий.

В основе дифференциации лежат:

1) различия цитоплазмы ранних бластомеров как следствие явления ооплазматической сегрегации; ***ооплазматической сегрегацией*** называют возникновение локальных различий в свойствах цитоплазмы яйцеклеток, осуществляющееся и периоды роста и созревания ооцита; она лежит в основе начальной дифференцировки зародыша: участки цитоплазмы зиготы (унаследованные от яйцеклетки), различающиеся по своим свойствам, попадают в различные бластомеры; их взаимодействие с одинаковыми по своим потенциям ядрам и приводит к дифференциальной активации генов

в ядрах различных бластомеров;

2) влияния соседних клеток − ***клеточная индукция (эмбриональная индукция).***

ЭМБРИОНАЛЬНАЯ ИНДУКЦИЯ

Эмбриональная индукция **–** механизм специализации клеток, который состоит во взаимодействии между частями развивающегося организма. В процессе этого взаимодействия одна часть развивающегося организма (индуктор), приходя в контакт с другой частью (реагирующей системой), определяет направление развития последней.

Явление эмбриональной индукции открыто в 1901 г. немецким эмбриологом, лауреатом Нобелевской премии 1935 г. Х. Шпеманом (1869-1941). Х. Шпеман показал, что для образования нервной пластинки из эктодермы гаструлы у земноводных необходим контакт эктодермы с мезодермальными клетками хорды (индуктор, или организатор).

Х. Шпеман и его сотрудница Х. Мангольд открыли у зародышей амфибий организатор. Контрольный эксперимент был проведен Хильдой Мангольд в 1921 году (рис. 4.9). Она вырезала кусочек ткани из дорсальной губы бластопора гаструлы гребенчатого тритона (*Triturus cristatus*) со слабопигментированным зародышем и пересадила его в вентральную область другой гаструлы близкого вида, тритона обыкновенного (*T. vulgaris*), зародыш которого характеризуется обильной пигментацией. Эта естественная разница в пигментации позволила различить в химерном зародыше ткани донора и реципиента. Клетки дорсальной губы при нормальном развитии образуют хорду и мезодермальные сомиты (миотомы). После пересадки у гаструлы-реципиента из тканей трансплантата развивалась вторая хорда и миотомы. Над ними из эктодермы реципиента возникала новая дополнительная нервная трубка. В итоге это привело к образованию осевого комплекса органов второго головастика на том же зародыше.

Участок дорсальной губы бластопора, который при пересадке вызывает на новом месте образование мезодермы и нейроэктодермы получил название «организатор Шпемана».

Этим опытом Х. Шпемана и Х. Мангольд была открыта ***первичная эмбриональная индукция,*** т. е. первый шаг в цепи последовательных (вторичных, третичных и т. д.) индукционных процессов в индивидуальном развитии организма.

Дальнейшие исследования показали, что не только дорсальная губа бластопора ранней гаструлы обладает индукционными способностями. Такой способностью обладает вся спинная часть краевой зоны, т. е. вся будущая крыша первичной кишки. Реагирующая система, дифференцирующаяся под влиянием индуктора, часто сама становится индуктором для возникающих позже зачатков органов. Все развитие зародыша, таким образом, представляет собой цепь следующих друг за другом индукционных взаимодействий. Например, продолговатый мозг индуцирует развитие слухового пузырька.

Эмбриональная индукция – лишь один из механизмов онтогенеза. Многим явлениям развития требуются иные механизмы.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ

Молекулярно-генетической основой дифференциации является избирательная активность генов, специфических для каждого типа клеток (для каждой ткани).

Все соматические клетки организма обладают одинаковым набором генов, ответственных за дифференцировку в данном направлении. Функционирование только определенных генов приводит к синтезу соответствующих белков, определяющих дифференцировку. Роль факторов дифференцировки сводится, таким образом, к избирательной активации («включению − выключению») этих генов.

Молекулярно-генетические процессы, определяющие течение эмбриогенеза, начинаются в презиготном периоде. Основу этого процесса составляет реализация наследственной информации, полученной от родителей, и влияние факторов среды. Для всех многоклеточных организмов характерна общая схема, состоящая из трех этапов: информация для индук-

ции и репрессии генов онтогенеза, информация от генов, информация от белков.

На первом этапе гены, регулирующие процесс онтогенеза, получают информацию от соседних клеток, от гормонов и других факторов. На втором этапе информация от генов, транскрибируется и транслируется в виде белков, регулирующих миграцию клеток, метаболизм, структурные функции и т.д. На третьем этапе поступает информация от указанных белков для формирования тканей и органов.

В овогенезе, в период роста происходит усиленный синтез рРНК, рибосом, иРНК, которые понадобятся в начальном периоде эмбриогенеза (чтобы не зависеть от условий окружающей среды). Запасы иРНК в яйцеклетке пополняются молекулами РНК, проникающими и из клеток яичника. Поэтому после оплодотворения, период дробления регулируется полностью информацией, полученной запасами РНК рибосом в яйцеклетке (сперматозоид не имеет рибосом), а материнский и отцовский геномы в этом периоде полностью подавлены. Образующиеся бластомеры равнонаследственны, т.е. в результате дробления происходит мультипликация генома и образуются много клеток с одинаковой наследственной информацией (тотипотентны). Затем начинается дифференцировка. Первопричиной дифференцировки клеток является химическая разнородность цитоплазмы яйцеклетки (овоплазматическая сегрегация), которая усиливается после оплодотворения; химическая разнородность цитоплазмы переходит в разнородность цитоплазмы бластомер, поэтому в разных бластомерах имеются разные индукторы; разные индукторы включают в работу разные транскриптоны; синтезируются разные белки, в том числе, ферменты; клетки приобретают морфологическую разнородность, а разные клетки образуют разные ткани.

Главный механизм дифференцировки – блокировка и активация разных генов на каждом этапе онтогенеза и альтернативный сплайсинг.

В ядрах дифференцированных клеток большинство генов репрессированы, причем в разных тканях и органах активно работает разное число структурных генов. Их можно подразделить на 3 группы:

1) гены, функционирующие во всех клетках организма (синтез ферментов энергетического обмена, гистонов ...) – это «гены домашнего хозяйства»;

2) гены, функционирующие только в тканях одного типа (например, синтез миозина в мышечной ткани);

3) гены специализированных клеток на узкие функции (синтез гемоглобина в эритроцитах) – «гены роскоши».

КРИТИЧЕСКИЕ ПЕРИОДЫ ЭМБРИОГЕНЕЗА

Экспериментальное изучение развития животных позволило установить периоды, когда зародыш наиболее чувствителен к повреждающему действию разнообразных факторов, которые могут нарушить нормальное развитие. Эти периоды наименьшей устойчивости зародышей к неблагоприятным факторам внешней среды называются **критическими периодами развития.** В критические периоды у зародышей изменяется характер метаболизма, резко усиливается дыхание, меняется содержание РНК, синтезируются новые белки, падают темпы роста. Критические периоды совпадают с активной морфологической дифференцировкой, с переходом от одной стадии развития к другой. Критические периоды соответствуют изменениям условий развития зародыша.

Критические периоды в антенатального онтогенеза:

- *имплантация* (6-7-е сутки после оплодотворения яйцеклетки);
- *плацентация* (окончание 2-й недели беременности);
- *перинатальный период* (роды). Этот период отличается резким изменением в организме характера кровообращения, газообмена, питания, выделения и др.

Неблагоприятные воздействия среды в течение критических периодов развития зародыша могут вызвать отклонения в развитии органа. Такие отклонения в развитии органа, приводящие к функциональным расстройствам, называются *уродствами, или пороками развития.* Факторы среды, вызывающие формирование уродств, или пороков развития, назва-

ны *тератогенными.* Непосредственным объектом действия неблагоприятных факторов могут быть половые клетки (*гаметопатии*) или же сам эмбрион (*эмбрионопатии*). Действуя на ранних этапах эмбриогенеза, тератоген, как правило, вызывает гибель зародыша. Возникновение уродств наиболее вероятно в период органогенеза, когда нарушаются клеточные взаимодействия и морфогенетические движения. Первые экспериментальные уродства получил в 1822 г. Ж. Сент-Илер в опытах на куриных зародышах. Он стал основателем учения об уродствах. Наука об уродствах – *тератология* – возникла на стыке эмбриологии, морфологии, физиологии, генетики и медицины.

Различают наследственные и ненаследственные пороки развития:

а) наследственные пороки развития (генетической природы), которые вызваны изменениями наследственного материала;

б) ненаследственные пороки развития (экзогенные), которые возникают в связи с действием на зародыш тератогенных факторов среды; некоторые из ненаследственных пороков являются фенокопиями определенных генетических пороков.

Зародыш млекопитающих, в том числе и человека, очень чувствителен к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды. На развитие зародыша влияют вещества, которые он получает с кровью матери. Например, каждая выкуренная матерью сигарета уменьшает снабжение зародыша кислородом на 10%. Еще не созревшая печень плода не может справиться с поступающими в организм ядовитыми веществами, и они накапливаются в его тканях.

Алкоголь, употребляемый матерью, концентрируется в крови плода и достигает 70% от содержания его в крови матери. Особенно плохо влияет алкоголь на центральную нервную систему (ЦНС) будущего ребенка. Считается, что ЦНС в ходе эволюции возникла сравнительно недавно и ее клетки очень чувствительны к недостатку кислорода. Алкоголь тормозит развитие клеток больших полушарий мозга. Вот почему при употреблении алкоголя родителями около 80% новорожденных оказываются с дефектами умственного развития. Сильное воздействие оказывают на плод поступа-

ющие в его кровь наркотические вещества. Еще не родившиеся дети наркоманов становятся зависимыми от наркотиков. После рождения они плохо развиваются и нуждаются в особом медицинском наблюдении и уходе.

Известны несколько разновидностей пороков развития:

1) *аплазия* (отсутствие органа или его части);
2) *гипоплазия* (недоразвитие органа);
3) *гипотрофия* (уменьшение массы органа);
4) *гипертрофия* (увеличение массы органа),
5) *гетеротопия* или *эктотопия* (нетипичная локализация органа или группы клеток);
6) *гетероплазия* (нарушение дифференцировки тканей);
7) *стеноз* (сужение канала);
8) *атрезия* (отсутствие канала или отверстия);
9) *персистирование* (сохранение эмбриональных структур).

Пороки развития, возникающие под действием тератогенных факторов, называются *первичными*. Вторичные пороки являются следствием первичных. Так, в результате атрезии водопровода мозга (первичного порока) возникает водянка головного мозга (вторичный порок).

Анализ уродств важен для понимания закономерностей индивидуального развития. Изучение причин возникновения уродств при действии на зародыш повреждающих химических и физических факторов необходимо для разработки эффективных мер профилактики, ранней диагностики и лечения уродств.

ПЕРИОДИЗАЦИЯ И ЗАКОНОМЕРНОСТИ ПОСТЭМБРИОНАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

Постэмбриональное развитие наступает после рождения или выхода зародыша из яйца и заканчивается смертью организма. Типы постэмбрионального развития разнообразны и протекают в несколько периодов. В развитии человека выделяют дорепродуктивный, репродуктивный, пострепродуктивный периоды. Согласно другой периодизации выделяют следу-

ющие периоды постнатального онтогенеза у человека:

1. Период новорожденности (1-10 дней). Это сложный период адаптации к совершенно новым условиям существования.

2. Грудной период(11 дней-1 год). Ребенок вскармливается молоком матери.

3. Период раннего детства (1-3 года). Ребенок учится ходить, говорить.

4. Первый период детства (4-7 лет). Познание окружающего мира.

5. Второй период детства (девочки – 8-11 лет, мальчики – 8-12 лет). Школьный период.

6. Подростковый период (девочки – 12-15 лет, мальчики – 13-16 лет). Период полового созревания.

7. Юношеский период (девушки – 16-20 лет, юноши – 17-21 год). Период окончания роста, полового и физического созревания.

8. I период среднего возраста (женщины – 21-35 лет, мужчины – 22-35 лет). Это оптимальный период для деторождения.

9. II период среднего возраста (женщины 36-55 лет, мужчины 36-60 лет); это период максимального профессионализма; после 35 лет обнаруживаются изменения некоторых физиологических и биохимических реакций обмена, которые предшествуют инволюции; к концу этого периода происходят изменения, определяющие начало процессов старения и включаются механизмы, обеспечивающие перестройку организма и его адаптацию;

10. Период зрелого возраста (женщины – 36-55 лет, мужчины – 36-60 лет). Период максимального профессионализма. После 35 лет обнаруживаются изменения некоторых физиологических и биохимических реакций обмена, которые предшествуют инволюции, определяющей процесс старения.

11. Период пожилого возраста (женщины – 56-75 лет, мужчины – 61-75 лет).

12. Период старческий возраст (75-90 лет).

13. Долгожители (более 90 лет). Доживают до этого возраста преимущественно женщины.

Критические периоды постнатального онтогенеза:

- *период новорожденности*.

- *период полового созревания* (12-16 лет);

- *период полового увядания*, угасания функций половых желез; у женщин в возрасте 45-55 лет наступает менопауза, или климакс.

Индивидуальное развитие человека в постнатальный период включает сложные явления, характеризующиеся не только увеличением размеров (рост), но процессами дифференцировки и формообразования (развитие).

Рост – это увеличение размеров тела или его частей. В основе роста лежат следующие клеточные процессы:

1. увеличение числа клеток – гиперплазия;
2. увеличение размера клеток – гипертрофия;
3. увеличение межклеточного вещества – аккреция.

Понятие развитие включает в себя как минимум два основных аспекта: биологический, когда речь идет о развитии тканей, систем органов и т.д. и поведенческий, когда ребенок осваивает навыки общения и поведения.

Рост особи характеризуется либо ***изометрией*** – равномерным ростом частей и органов тела, либо ***аллометрией*** – неравномерным ростом частей тела. Аллометрия бывает отрицательной (например, замедленный рост головы по отношению к телу ребенка) и *положительной* (например, ускоренный рост рогов у жвачных). Скорость роста с возрастом, как правило, снижается. Животные с неопределенным ростом растут в течение всей жизни (моллюски, ракообразные, рыбы, земноводные). У животных с определенным ростом к определенному возрасту рост прекращается (насекомые, птицы, млекопитающие). Однако резкой грани между определенным и неопределенным ростом не существует. Человек, млекопитающие, птицы после прекращения роста все же могут несколько увеличиваться в размерах.

Процессы роста контролируются генотипом, одновременно завися от условий среды. Темпы прироста человека обнаруживают изменчивость (возрастную, половую, групповую, внутригрупповую или индивидуальную и эпохальную). Наиболее высокая константа роста отмечается в утробном периоде. Прирост в первый год жизни – 24 см; ежегодное увеличение ро-

ста до 3 лет – 10 см; с 3 до 7 лет – 6-6,5 см; в пубертатный период – 5-7 см. С 10 до 14 лет девочки растут более интенсивно и обгоняют мальчиков, но после 14 лет мальчики снова становятся выше. Процесс роста заканчивается у мужчин в 18-20 лет, у женщин – в 16-18 лет.

Эндотерриториальные различия роста человека не всегда связаны с географическим положением и климатом: малый рост (ниже 160 см у мужчин) имеют эскимосы, буряты, вьетнамцы; большой рост (выше 170 см) – шотландцы, шведы, жители Балканского полуострова. Средний рост пигмеев-бамбути, живущих в бассейне реки Конго всего 144 см, а африканцев племени тутси из Руанды – 176,5 см. Эпохальная изменчивость роста проявляется в наблюдавшейся в XX в. акселерации.

Наследуется также реакции на изменение условий среды, а которых происходит рост организма. Например, рост девочек более устойчив к недоеданию, чем рост мальчиков. Длительное недоедание в детстве приводит к удлинению туловища и укорочению ног у японца и к прямо противоположным изменениям у жителя Африки. Для нормального протекания процессов, обеспечивающих рост организма, необходима полноценная пища, содержащая белки, витамины, минеральные соли и микроэлементы.

На рост и развитие организма его генотип может оказывать также опосредованное влияние, через синтез биологически активных веществ – *гормонов*. Это – нейросекреты, вырабатываемые нервными клетками, гормоны эндокринных желез. Гормоны могут влиять как па обменные процессы (биосинтез), так и на экспрессию других генов, в свою очередь оказывающих влияние на рост. Между всеми эндокринными железами существует взаимосвязь, регулируемая по принципу обратных связей. Так, гормоны гипофиза влияют на эндокринную функцию половых желез, щитовидной железы и надпочечников. Гипофиз вырабатывает соматотропный гормон, недостаток которого приводит к карликовости – нанизму, а избыток – к гигантизму.

К основным закономерностям роста и развития относятся:

- необратимость (невозможность возвращения к предыдущим стадиям);
- постепенность (стадии идут последовательно одна за другой);

- гетерохрония (разные системы организма растут и развиваются неодновременно;
- эндогенность (отражает генетическую предопределенность ростовых процессов);
- индивидуальное разнообразие (результат взаимодействия генотипа с окружающей средой);
- цикличность (т.е. не плавно и постепенно, а циклами).

Закономерным этапом индивидуального развития является старение.

ГИПОТЕЗЫ СТАРЕНИЯ

Старение – это общебиологический процесс увядания организма, свойственный всему живому. Это заключительный естественный этап онтогенеза, заканчивающийся смертью. Наука о старости называется геронтологией. Она изучает основные закономерности старения, проявляющиеся на всех уровнях организации – от молекулярного до организменного. Раздел медицины, изучающий болезни старых людей, называется гериатрией.

Старческие изменения обнаруживаются вначале во внешних признаках: теряется эластичность кожи (образование морщин), изменяется зрение, слух, осанка, форма тела и пропорции, появляется седина, ухудшается память. На органном уровне у пожилых понижается физическая сила и выносливость, снижается жизненная емкость легких, повышается артериальное давление, развивается атеросклероз. Наблюдается инволюция половых желез, понижается интенсивность основного обмена.

В клетках снижается количество воды, снижается синтез АТФ, активный транспорт ионов, активность окислительного фосфорилирования, ферментов репликации и репарации ДНК, в соматических клетках накапливаются генные и хромосомные мутации.

Процесс старения находится под генетическим контролем. На сегодняшний день известно свыше 300 генов старения.

В геронтологии известно не менее 500 гипотез, объясняющих первопричину и механизмы старения.

Основные гипотезы старения

1. ***Эндокринная теория старения***, авторы которой полагали, что старение обусловлено угасанием деятельности эндокринных желез. Начало ей в XIX в. положил французский физиолог Ш. Броун-Секар (1817 – 1894), считавший, что главенствующая роль в процессе старения принадлежит половым железам. Опыты, проведенные позже австрийцем Г. Штейнахом и отечественным ученым С.А. Вороновым по введению в стареющий организм половых гормонов, пересадке человеку от обезьян семенников, показали, что после этого наступает временное «омоложение», не сказывающееся, однако, на закономерном ходе процесса старения в последующем.

2. ***Интоксикационная гипотеза*** (Мечников, 1903). Старение наступает под влиянием продуктов гниения в толстом кишечнике, в организме происходит накопление токсичных продуктов азотистого обмена, наступает самоотравление. В настоящее время хорошо известен омолаживающий эффект разнообразных диет, направленных на освобождение организма от шлаков. Они действительно способствуют нормализации функций многих органов и систем, повышению умственной и физической работоспособности.

3. ***Гипотеза перенапряжения ЦНС*** (Павлов, 1912, Селье, 1938). Нервные потрясения и перенапряжение вызывают преждевременное старение.

4. ***Соединительнотканная гипотеза***. Нарушение межтканевых взаимодействий.

5. ***Генетическая гипотеза.*** Происходит накопление ошибок при репликации ДНК. Программные гипотезы основываются на генетической детерминированности процесса старения (в определенное время запускаются механизмы старения). В организме генетически запрограммировано число митозов (50 для фибробластов кожи). Контроль осуществляется при помощи специальных генов или генетических программ. Хотя время наступления старческих изменений зависит от генетических факторов, этими факторами не являются специальные гены или программа.

6. ***Адаптационно-регуляторная теория старения,*** рассматривающая старение результатом расстройства регуляторных механизмов всех

уровней и снижением в связи с этим адаптационных возможностей организма. Румынский ученый К.И. Пархон усматривал причину старения в расстройстве тканевой корреляции, связанном с гормональными нарушениями.

7. ***Иммунологической теории старения.*** С возрастом ослабевает активность иммунологического аппарата по отсеиванию собственных стареющих и поврежденных клеток. Их количество вследствие этого возрастает, что приводит к нарушениям и ослаблению деятельности различных систем организма. Академик И.П. Павлов и его сотрудница М.К. Петрова показали большое значение состояния другой регуляторной интегрирующей системы (нервной) в профилактике преждевременного старения.

Единой гипотезы до сих пор нет. В целом механизм старения заключается в сложных взаимодействиях генетических, регуляторных, трофических изменений. Старение рассматривается как процесс износа биологических структур, а не генетически предопределенное саморазрушение. Биологический смысл старения заключается в том, что оно делает неизбежной смерть.

Реальная средняя продолжительность жизни человека зависит не столько от биологических, сколько от социальных факторов. Подтверждением этому являются исторические факты. Так, в Европе средняя продолжительность жизни составляла: в XVI в. – 21 год; в XVII в. – 26 лет; в XVIII в. – 34 года; в начале XX в. достигла 50 лет; в середине XX в. – 70 лет. В настоящее время в развитых странах она составляет примерно 70 лет для мужчин и около 76 лет для женщин. Известны случаи долгожительства: в 1951 г. умер наш соотечественник Василий Тишкин в возрасте 145 лет; в 60-х гг. XIX столетия в Пакистане умер вождь племени Махммад Афзал в возрасте 180 лет.

Предполагается, что при оптимальных условиях окружающей среды средняя продолжительность жизни человека может достигнуть 85 лет. Для дальнейшего ее увеличения потребуются более глубокие знания и радикальное вмешательство в механизмы старения. К настоящему времени не достигнуто единство взглядов на биологический возраст человека: авторы

указывают величины от 70 до 200 лет. Однако большинство их них сходятся в том, что биологическая продолжительность жизни человека превышает 100 лет.

СМЕРТЬ, КАК ЗАКОНОМЕРНЫЙ ЭТАП ОНТОГЕНЕЗА

Биологический смысл старения состоит и том, что оно делает неизбежной смерть, завершающий этап жизни. ***Смерть*** – это прекращение жизнедеятельности организма, гибель его как обособленной живой системы. У многоклеточных организмов смерть особи сопровождается образованием мертвого тела (у животных – трупа). У одноклеточных организмов индивидуальная жизнь может прекратиться наряду со смертью (образование трупа) также разделением на две новые особи. Наука о смерти получила название ***танатологии.***

Настоящий период жизни на Земле представлен сменой отдельных дискретных единиц – особей. Они недолговечны, и только благодаря размножению обеспечивается продолжение жизни вида.

Различают естественную смерть (физиологическую), наступающую в результате длительного постепенного угасания жизненных функций организма в процессе старения, и преждевременную смерть, вызываемую болезнями, поражением жизненно важных органов.

Смерть у высших многоклеточных – не одномоментное явление. Она включает два этапа: клиническую и биологическую смерть.

Признаками ***клинической смерти*** является прекращение важнейших жизненных функций: потеря сознания, прекращение сердцебиения, дыхания и т. п. Однако в это время большинство клеток и органов еще остаются живыми, их обмен веществ сохраняет упорядоченность.

Затем в трупе постепенно развивается ***биологическая смерть,*** связанная с прекращением самообновления, утратой обменом веществ упорядоченности, наступлением в клетках аутолиза (самопереваривания) и разложения. Первой погибает кора головного мозга: через 5-8 мин. после прекращения кровообращения в ней наступают необратимые процессы. Спустя некоторое время погибают клетки эпителия кишечника, легких, пече-

ни, затем сердечной мышцы и других органов. Этот процесс растягивается на много часов. Некоторое время у трупа продолжается перистальтика кишечника, растут волосы, ногти.

Продолжительность процессов умирания организма вызвала потребность выработки единого и удобного для врачебной практики критерия смерти. С этой целью в 1968 г. медики, юристы, специалисты в области этики многих стран собрались в Гарвардском университете. Ими был выработан так называемый ***«гарвардский критерий» смерти:*** *смерть мозга (включая ствол мозга, где находится дыхательный центр) является свидетельством смерти организма, проявляющейся внешне в остановке дыхания.*

Клиническая смерть представляет собой как бы переходное состояние между жизнью и смертью, когда признаки жизни уже отсутствуют, но ткани еще живы. Организм из состояния клинической смерти можно возвратить к жизни – реанимировать. Но вернуть к жизни можно только в том случае, когда не повреждены жизненно важные органы (при смерти от кровопотери, поражения электрическим током, утопления). В случаях смерти от рака, туберкулеза, повреждений сердца организм настолько разрушен дегенеративными заболеваниями, что после оживления (которое теоретически возможно) он неминуемо умрет снова. ***Оживление человека возможно лишь в течение 6-7 минут с момента начала клинической смерти,*** пока не начались необратимые процессы в коре головного мозга. Принципы реанимации широко внедрены в практику хирургии, например при операциях на сердце.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ:

1. Назовите основные периоды онтогенеза.
2. Охарактеризуйте эмбриональный период развития хордовых.
3. Каковы основные отличия стадий дробления, гаструляции, нейруляции, гисто и органогенеза?
4. В чем состоит сущность теорий преформизма и эпигенеза?
5. Назовите особенности эмбрионального развития человека.
6. Что такое провизорные органы млекопитающих?
7. Генетический контроль эмбриогенеза.
8. Назовите критические периоды эмбриогенеза.
9. Каковы особенности и периоды постэмбрионального онтогенеза?
10. Охарактеризуйте основные гипотезы старения.
11. Что такое клиническая и биологическая смерть?

Лекция 5

ГЕННЫЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ НАСЛЕДСТВЕННОГО МАТЕРИАЛА

ПЛАН ЛЕКЦИИ:

1. **СТРОЕНИЕ МОЛЕКУЛЫ ДНК.**
2. **ОСНОВНЫЕ ОТЛИЧИЯ ДНК ОТ РНК.**
3. **ВИДЫ И ФУНКЦИИ РНК.**
4. **ВАЖНЕЙШИЕ ФУНКЦИИ ДНК: ХРАНЕНИЕ, ПЕРЕДАЧА И РЕАЛИЗАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ.**
5. **СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОВ ПРОКАРИОТ И ЭУКАРИОТ.**
6. **РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ.**
7. **ЭПИГЕНЕТИКА**
8. **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ.**

Исследования, направленные на выяснение химической природы наследственного материала показали, что материальным субстратом генов являются нуклеиновые кислоты – ДНК и РНК. Нуклеиновые кислоты – это макромолекулы, т.е. отличаются большой молекулярной массой.

В структурной организации молекулы ДНК можно выделить 3 уровня:

Первичная структура – полинуклеотидная цепь

Вторичная структура – две комплементарные друг другу и антипараллельные полинуклеотидные цепи

Третичная структура – трехмерная спираль

СТРОЕНИЕ МОЛЕКУЛЫ ДНК

ДНК – это полимер, состоящий из мономеров – нуклеотидов. Каждый нуклеотид включает три основные компонента: азотистое основание (аденин, гуанин, цитозин, тимин, урацил), сахар (дезоксирибоза или рибоза), остаток фосфорной кислоты (рис. 5.1).

Первичная структура ДНК

Соединение нуклеотидов в макромолекулу нуклеиновой кислоты происходит путём взаимодействия фосфата одного нуклеотида с гидроксилом другого так, что между ними устанавливается фосфодиэфирная связь. В результате образуется полинуклеотидная цепь. Важно отметить, что сборка полипептидной цепи осуществляется строго в одном направлении, а именно, путем присоединения фосфатной группы, расположенной в 5'-положении последующего нуклеотида к 3'гидроксильной группе предыдущего нуклеотида.

Вторичная структура ДНК

В 1953 г Уотсон и Крик представили модель 3-х мерной молекулы ДНК (рис. 5.2-А). За это открытие в последующем они были удостоены Нобелевской премии. Ученые показали, что особенностью II структурной организации ДНК является то, что в ее состав входят 2 полинуклеотидные цепи, связанные между собой в соответствие с правилами комплементарности и антипараллельности. *Комплементарное* соединение означает возможность образования связи между пурином и пиримидином, а именно, Аденин (А) может связываться только с Тимином (Т), а Гуанин (Г, англ. G) – только с Цитозином (Ц, англ. С) и наоборот. При этом между А и Т образуются 2 водородные связи, а между Г и Ц – 3. Благодаря комплементарности соединения в цепь число пуринов в молекуле ДНК всегда равно числу пиримидинов, т.е.

<u>А + Г = Т + Ц</u> – это правило Чаргаффа (1951 г.)

Хотя водородные связи между парами оснований относительно слабы, каждая молекула ДНК содержит приблизительно 3,3 млрд. пар, так что в физиологических условиях (T^0, pH) цепи никогда не разрываются.

Сахаро-фосфатный остов находится по периферии молекулы ДНК, а пуриновые и пиримидиновые основания – внутри.

Другой важной особенностью молекулы ДНК является *антипараллельность* двух составляющих её цепей, т.е. 5'– конец одной цепи соединяется с 3'-концом другой.

Третичная структура ДНК

Данные рентгеноструктурного анализа показали, что молекула ДНК образует правозакрученную спираль диаметром 2 нм; длиной шага – 3,4 нм. В каждый виток входит 10 п.н. (рис. 5.2.-Б).

ДНК эукариот неоднородна по функциональной значимости и может быть подразделена на 3 класса:

1. Повторяющиеся последовательности (не транскрибируются) встречаются в геноме до 1 млн. раз.

2. Умеренно повторяющиеся последовательности (встречаются в геноме 10^2 - 10^3 раз). Это гены тРНК и белков, входящих в состав рибосом, хроматина и рРНК.

3. Уникальные участки с неповторяющимися сочетаниями нуклеотидов.

У человека уникальные участки ДНК составляют не более 10-15% от общей длины молекулы ДНК.

Уникальные участки ДНК являются структурной основой большинства генов человека, в которых закодирована информация о первичной структуре полипептида. Отсюда следует, что жизнедеятельность организма обусловлена, в основном, функциональной активностью уникальных участков, т.е. генов.

Главная функция ДНК заключается в том, что она предназначена для хранения и передачи наследственной информации в клетках про- и эукариот. У вирусов эту функцию выполняет РНК.

ОСНОВНЫЕ ОТЛИЧИЯ ДНК ОТ РНК

На рисунке 5.3. показаны принципиальные отличия в строении нуклеиновых кислот – ДНК и РНК.

1. Молекула ДНК – двухцепочечная, молекула РНК - одноцепочечная.

2. По строению РНК сходна с одной из цепей ДНК, только вместо Тимина, входящего в состав молекулы ДНК в молекуле РНК присутствует Урацил (У) (пиримидиновый нуклеотид).

3. Между ДНК и РНК существуют различия в характере углевода: в ДНК- дезоксирибоза, в РНК – рибоза. В отличие от ДНК, содержание ко-

торого в клетке постоянно, содержание в них РНК сильно колеблется и зависит от интенсивности синтеза белка.

ВИДЫ И ФУНКЦИИ РНК

В клетках прокариот и эукариот присутствует **около 10 видов РНК.** Связь между нуклеотидами осуществляется, как и в одной из цепей ДНК, то есть через углерод и остаток фосфорной кислоты. В отличие от ДНК, содержание которой в клетках относительно постоянно, содержание РНК колеблется. Оно повышается в клетка во время биосинтеза белка.

1. ***Рибосомная РНК (рРНК)*** – составляет 85% от всей РНК в клетке. Это самые крупные молекулы РНК, в их состав входит 3-5 тысяч нуклеотидов, молекулярная масса достигает 1,0-1,5 млн. рРНК синтезируется на специальных генах в ядрышке (ядрышковый организатор) и в комплексе с белками формирует субъединицы рибосом. На рибосомах идет синтез белка. Рибосомная РНК, входящая в состав цитоплазматических рибосом эукариот, больше по размерам, чем рРНК рибосом прокариот, митохондрий и пластид. Функции рРНК заключаются, прежде всего, в формировании активного центра рибосомы и обеспечении взаимодействия рибосомы и тРНК.

2. ***Информационная РНК (иРНК)***, или ***матричная РНК (мРНК)*** – составляет 5% от всей РНК в клетке, количество зависит от стадии клеточного цикла. Так, при интенсивном синтезе белков количество иРНК повышается. Размеры иРНК различны, в зависимости от объема копируемой информации. Молекулы мРНК состоят из 300-3000 нуклеотидов. Синтезируются иРНК в ядре, в процессе транскрипции (у прокариот), а также процессинга и сплайсинга (у эукариот). иРНК участвует в переносе генетической информации о структуре белка от ДНК к месту синтеза белка на рибосомы.

3. ***Гетерогенная ядерная РНК (гяРНК)*** – смесь транскриптов многих ядерных генов; локализована в ядре. Некоторые из них являются первичными транскриптами и имеют такую же длину, как и гены, с которых они скопированы, другие – частично подверглись процессингу и сплайсин-

гу и утратили ряд интронов, превратившись в зрелые мРНК.

4. ***Малые ядерные РНК (мяРНК, snRNA)*** **–** короткие стабильные молекулы РНК размером около 400 нуклеотидов, большинство которых в составе нуклеопротеидных частиц присутствуют в ядре. Они обнаружены в составе сплайсосом млекопитающих. Это структуры, где идет процесс сплайсинга. Эти РНК называют U-РНК из-за необычайно большого содержания урацила и его модифицированных форм. Нуклеотидные последовательности всех U-РНК позвоночных совпадают на 95%.

5. ***Транспортная РНК (тРНК*****)** – составляет 10 % от всей РНК в клетке (рис. 5.4). Существует более 40 видов тРНК. Молекулы тРНК самые короткие, состоят из 76 нуклеотидов. тРНК содержатся в цитоплазме клетки и образуют вторичную структуру, известную под названием «клеверный лист» (форма трилистника). На одном конце находится триплет нуклеотидов (антикодон), кодирующий определенную аминокислоту. На другом конце имеется триплет нуклеотидов, к которому присоединяется аминокислота. В результате специфического взаимодействия тРНК и соответствующей аминокислоты возникает аминоацил-тРНК – молекула, содержащая активированный аминокислотный остаток и соответствующий антикодон. Любая аминокислота, участвующая в синтезе белка, присоединяется к соответствующей тРНК вне рибосомы с помощью специальных ферментов, аминоацил-тРНК-синтетаз (кодаз). При комплементарности триплета т-РНК (антикодона) и триплета иРНК (кодона), аминокислота занимает определенное место в молекуле белка.

6. МикроРНК (мкРНК, miRNA), размер которых составляет 21-22 нуклеотида - это эндогенные самокомплементарные одноцепочечные РНК, которые ингибируют трансляцию или удаляют поли(А)-хвосты.

7. Малые интерферирующие РНК (миРН, siRNA) – двухцепочечные РНК размером 20-25 н., подавляющие активность генов во время и после транскрипции.

8. Малые ядрышковые РНК (мякРНК, snoRNA) принимают участие в химической модификации рРНК, тРНК, мяРНК

9. Рибозимы (каталитические РНК, cRNA) обладают каталитическим действием, расщепляя все виды РНК

Важно отметить, что все виды РНК синтезируются по матрице ДНК!

ВАЖНЕЙШИЕ ФУНКЦИИ ДНК: ХРАНЕНИЕ, ПЕРЕДАЧА И РЕАЛИЗАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

1. Хранение генетической информации - осуществляется в виде генетического кода.

Молекула ДНК - носитель всей генетической информации в клетке. Структура ДНК - набор нуклеотидов. Следовательно, структурной единицей генов являются нуклеотиды (ATGC). Структурной единицей белков являются аминокислоты. Первым белком, для которого была определена последовательность аминокислот, был белок инсулина. В молекуле ДНК зашифрована информация о последовательности аминокислот в полипептидах (или белках) с помощью биологического (или генетического) кода.

Генетический код – это определенная последовательность нуклеотидов, которая содержит информацию о последовательности аминокислот в молекуле полипептида (рис. 5.5.). Каким же образом в молекуле ДНК зашифрована информация о структуре полипептида (белка)? Ответ на этот вопрос был дан в 1961 году Фрэнсисом Криком.

Ф. Крик и его коллеги предположили, что информация должна быть выражена через блоки – кодоны. Они предположили, что кодоны должны включать не менее 3-х нуклеотидов. Почему?

В природе обнаружено 20 различных аминокислот, из которых комплектуются все белки. Для того, чтобы зашифровать 20 вариантов аминокислот, генетический код должен включить как минимум 3 нуклеотида, т.к. из двух нуклеотидов можно скомбинировать только 4^2 =16 вариантов, а из трех нуклеотидов – 4^3 = 64 варианта.

Полная расшифровка генетического кода проведена в 60-х годах XX века. Оказалось, что из 64 возможных вариантов триплетов 61 кодирует

различные аминокислоты, а 3 являются бессмысленными, или STOP-кодонами: UAG, UAA, UGA кодонами, на которых прекращается считывание наследственной информации.

Свойства генетического кода

1. *Триплетность*: каждый кодон включает 3 нуклеотида.

2. *Универсальность:* у всех живых организмов, существующих на Земле, генетический код одинаковый, что свидетельствует о единстве происхождения всего живого. Кодон AGA кодирует аминокислоту аргинин и у бактерий, и у человека, и у всего живого.

3. *Вырожденность:* 61 триплет на 20 аминокислот. Отсюда следует, что некоторые аминокислоты должны шифроваться несколькими триплетами. Это имеет очень важное значение, поскольку замена нуклеотида не всегда может приводить к замене аминокислоты). Например, аминокислоту валин кодируют четыре триплета: GTT, GTC, GTA, GTG.

4. *Специфичность:* каждый триплет соответствует только 1 аминокислоте: GTT- только валин. Кодон ATG является стартовым (метионин).

5. *Универсальность:* у всех живых организмов, существующих на Земле, генетический код одинаковый, что свидетельствует о единстве происхождения всего живого. Кодон AGA кодирует аминокислоту аргинин и у бактерий, и у человека, и у всего живого.

6. *Непрерывность и неперекрываемость* (считывается без пропусков).

2. Передача наследственной информации – осуществляется путем репликации (самовоспроизводства) ДНК.

Артур Корнберг в 1956 провел уникальные опыты. Он синтезировал ДНК in vitro, т.е. в пробирке. Репликация (удвоение) ДНК происходит в S-периоде клеточного цикла (S - sinthesis). В результате из одной молекулы ДНК образуются две идентичные двойные спирали. Каждая из двух цепей материнской молекулы служит матрицей для «дочерей». После репликации в обеих двойных спиралях одна цепочка – материнская, другая - дочерняя. Такой способ удвоения молекул ДНК называется полуконсервативным.

Репликация ДНК начинается в строго определенных точках, имею-

щих уникальные последовательности длиной около 300 п.н., которую узнают специальные инициирующие белки. Эти участки называются точками начала репликации - (Ori – Origine - источник). У прокариот имеется одна точка Ori, у эукариот их много.

Двойная спираль ДНК раскручивается и образуется *репликативная вилка.*

Участок молекулы ДНК от точки начала одной репликации до точки начала другой репликации называется ***репликоном.***

В процессе репликации ДНК принимает участие множество ферментов (рис.5.6).

1. *ДНК-геликаза* разрывает водородные связи и двойная спираль расплетается.

2. *Дестабилизирующие белки* соединяются с одноцепочечной ДНК и фиксируют ее.

3. В результате раскручивания цепи ДНК возникает суперспирализация. *ДНК-топоизомераза* – фермент, который разрывает одну из цепей ДНК и дает ей возможность свободно вращаться вокруг другой цепи. Это снимает напряжение в спирали ДНК.

4. Начало репликации активируется короткими фрагментами РНК (100-200 нуклеотидов), которые называются *РНК – затравкой или РНК-праймерами*.

5.*ДНК - полимераза* синтезирует цепь ДНК от места присоединения РНК- затравки. Новая цепь синтезируется в направлении от 5’ к 3’ , т.к. 5 конец последующего нуклеотида с остатком фосфорной кислоты присоединяется к 3’ОН-концу (гидроксильная группа) уже синтезированного участка ДНК.

Синтез ДНК происходит полунепрерывно, поскольку различают *лидирующую (ведущую цепь)* и *отстающую цепь*. На отстающей цепи синтезируются *фрагменты Оказаки* длиной 1000-2000 нуклетидов.

6. *ДНК-лигаза* соединяет (сшивает) отдельные фрагменты Оказаки.

За один митотический цикл ДНК клетки полностью реплицируется только один раз. Пока полностью не закончится репликация ДНК, не про-

исходит деления клетки.

Репликация ДНК и про- и эукариот в основных чертах протекает сходно. Однако скорость репликации у эукариот составляет около 100 нуклеотидов в секунду, что на порядок ниже, чем у прокариот (1000 н/сек). Это необходимо для высокой точности репликации ДНК (1 ошибка на 100.000 нуклеотидов). Но благодаря наличию множества точек Ori репликация ДНК у эукариот происходит достаточно быстро.

3. Реализация наследственной информации – осуществляется путем биосинтеза белка.

Весь процесс реализации генетической информации можно представить в виде очень простой схемы, которая получила название «Центральная догма молекулярной биологии» (рис. 5.7):

$$\textbf{ДНК} \xrightarrow[\textbf{транскрипция}]{} \textbf{РНК} \xrightarrow[\textbf{трансляция}]{} \textbf{белок}$$

Транскрипция – I этап биосинтеза белка.

Транскрипция – перенос генетической информации с определенных участков ДНК – генов, на РНК.

Ген – это участок молекулы ДНК, включающий регуляторные и структурные последовательности и соответствующий одной единице транскрипции. В генах закодирована информация о структуре белка (или молекулы РНК).

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОВ ПРОКАРИОТ И ЭУКАРИОТ

Генетическая система прокариот называется **опероном.** Оперон содержит регуляторную (неинформативную) часть (10%) и структурную (информативную) – (90%) (рис. 5.8-А).

В структурной части содержится информация об одном или нескольких белках (полицистронная единица транскрипции). Со структурной части считывается иРНК.

Регуляторная часть включает промотор, оператор и терминатор –

элементы, которые управляют работой гена. Промотор (Р) – точка узнавания начала (инициации) транскрипции. К данному участку прикрепляется фермент РНК-полимераза, синтезирующий мРНК. Оператор (О) может быть связан с белком-репрессором, тогда транскрипция заблокирована, но если оператор свободен, транскрипция возможна.

Этапы транскрипции у прокариот:

1 - инициация - обнаружение ферментом РНК-полимеразой промотора и соединение с ним. У прокариот РНК-полимераза состоит из пяти белковых единиц. Часть фермента РНК-полимеразы называется **сигма-фактором**. Сигма-фактор необходим для узнавания **промотора** — особого участка в начале гена, указывающего место связывания РНК-полимеразы с ДНК. РНК-полимеразы синтезирует все виды РНК: мРНК, тРНК, рРНК. Для активации РНК-полимеразы необходимо большое количество белков, которые называются **факторами транскрипции**. Общие факторы транскрипции объединяются в комплексы.

2 - элонгация – синтез и удлинение иРНК.

3 – терминация – остановка транскрипции.

Число генов у эукариот до сих пор точно не определено и по приблизительным оценкам составляет около 30 тыс. Генетическая система эукариот называется **транскриптоном (**рис. 5.8-Б). На долю регуляторной части приходится 90%, структурной (информативной) – (10%) (рис. 5.9). В отличие от генов прокариот регуляция транскрипции у эукариот значительно сложнее. Регуляторная зона транскриптона представляет ряд последовательно расположенных промоторов и терминаторов. Кроме того, либо в составе гена, но чаще - на некотором расстоянии от промотора у эукариот имеется регуляторный элемент, в котором локализуются специальные участки: энхансеры – усилители транскрипции, сайленсеры – гасители транскрипции, инсуляторы – участки, выполняющие функции операторов у прокариот, т.е. включающие или блокирующие регуляцию транскрипции. Регуляторные элементы у эукариот могут влиять на скорость транскрипции, даже если они расположены за тысячи пар нуклеотидов от промотора. Регуляторные участки ДНК служат местами для узнавания и свя-

зывания с регуляторными белками, активирующими РНК-полимеразу, а регуляторные белки, в свою очередь, могут активироваться путем связывания с гормонами. Энхансер может обладать ткане- и видоспецифичностью.

В структурной области генов эукариот закодирована информация только об одном белке. Структурный участок имеет мозаичное («прерывистое») строение, т.е. кодирующие участки – экзоны чередуются с некодирующими последовательностями нуклеотидов – интронами (экзон-интронная организация).

Этапы транскрипции генов эукариот:

1 – инициация – соединение промотора с РНК-полимеразой, сборка сложного ферментного и белкового комплекса на регуляторных участках ДНК и начало процесса. РНК-полимеразы эукариот имеют большую молекулярную массу, чем РНК-полимеразы прокариот и состоят из 8-12 субъединиц. У эукариот имеется три разные полимеразы – РНК-полимеразы I, II и III, каждая из которых транскрибирует разные категории генов, а также особые РНК–полимеразы митохондрий и хлоропластов:

- РНК-полимераза I – транскрибирует гены для рибосомальных РНК (рРНК);
- РНК-полимераза II – гены для синтеза белков (мРНК) и гены для малых РНК ядра (мяРНК);
- РНК-полимераза III – транскрибирует гены для транспортных РНК (тРНК), рибосомальных 5S РНК, малых РНК и др.

2 - элонгация – синтез пре-иРНК – первичного РНК-транскрипта.

3 – процессинг и сплайсинг.

4 – терминация – остановка транскрипции.

У эукариот в процессе транскрипции вначале синтезируется большая молекула *пре-иРНК - первичный РНК-транскрипт***.** В нем содержится информация и с экзонов, и с интронов. Затем в ядре клетки происходит посттранскрипционная модификация РНК – *процессинг.*

Процессинг включает следующие преобразования:

1) ***вырезание*** интронов.

2) ***сплайсинг*** – соединение экзонов.

Сплайсинг РНК происходит в ядре по мере образования РНК на ДНК-матрице. В число компонентов, катализирующих процесс сплайсинга, входят ***малые ядерные РНК*** (мяРНК) и десятки белков, обладающих ферментативной активностью, необходимых для эффективного сплайсинга. Эти белки, связанные с мяРНК, образуют ***рибонуклеопротеидные частицы*** (мяРНК) (рис. 5.9). Место соединения интрон/экзон узнается мяРНК. На границе интронов и экзонов существуют сигнальные последовательности нуклеотидов ГУ в области 5′-конца интрона и АГ в области 3′ конца. Структуры (мяРНК связанные с белком) затем собираются вместе, образуя более крупный комплекс, называемый ***сплайсосомой,*** которая отвечает за сплайсинг и удаление интронов. Экзоны «сшиваются», образуя в итоге зрелую молекулу иРНК, которая транспортируется из ядра в цитоплазму.

3) ***кэпирование*** 5’-конца цепи - образование «колпачка» (кэпа) на ′5-конце иРНК путем присоединения к первому нуклеотиду трифосфат нуклеозида, содержащего гуанин связью 5′- 5′ (рис. 5.10). Кэп предохраняет мРНК от действия 5'-эндонуклеаз, когда она переходит в цитоплазму, а также обеспечивает узнавание мРНК малой субъединицей рибосомы.

4) ***Полиаденилирование*** 3’ участка иРНК -– присоединение последовательности, состоящей из 100-200 остатков адениловой кислоты — поли-А-хвост, который определяет стабильность мРНК и время ее жизни в клетке (см. рис. 5.10). Кроме того, у эукариот поли-А-хвост возможно способствует выходу мРНК из ядра в цитоплазму, а также необходим для регуляции транскрипции мРНК.

Альтернативный сплайсинг

Несколько экзонов, содержащихся в мРНК, могут сшиваться в разных комбинациях с образованием различных матричных последовательностей (рис. 5.11). Альтернативный сплайсинг позволяет организму синтезировать разные по структуре и свойствам белки на базе одного гена. Альтернативный сплайсинг может проходить разными способами:

1) с использованием разных промоторов при синтезе разных иРНК на

одной матрице ДНК. В этом случае образуются транскрипты, имеющие разные по длине 5'-концы и разное количество экзонов;

2) путем изменения положения точки начала транскрипции;

3) выбором различных экзонов из одинаковых иРНК.

РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

Экспрессия генов начинается с момента связывания промотора с ферментом транскрипции – РНК-полимеразой. При **позитивном контроле** оператор находится перед промотором, регуляторный белок, присоединяясь к оператору, облегчает связывание с ним РНК-полимеразы, запуская, тем самым, транскрипцию. При этом регуляторный белок называется **белком-апоиндуктором**. При **негативном контроле** оператор находится после промотора, и, взаимодействуя с регуляторным белком, препятствует связыванию РНК-полимеразы с промотором, останавливая транскрипцию. В этом случае регуляторный белок называется **белком-репрессором**.

Рассмотрим классическую схему регуляции работы (экспрессии) генов прокариот ***на примере негативной регуляции*** (или негативного контроля) лактозного оперона у бактерии кишечной палочки E.coli. Эта схема была предложена французскими учеными Жакобом и Моно в 1961 г.

В состав **лактозного оперона** (lac-оперона) входят три структурных гена (lac Z, lac Y, lac A). Продуктами структурных генов lac Y и lac Z являются ферменты, обеспечивающие транспортировку и расщепление лактозы, а продукт гена lac A превращает лактозу в алло-лактозу, связывающуюся с белком-репрессором и, следовательно, являющуюся индуктором лактозного оперона (рис. 5.12).

Белок-репрессор блокирует оператор, оперон не работает. Если в клетку поступает индуктор - лактоза, то он связывает белок–репрессор. Оператор освобождается, происходит считывание информации с ДНК на мРНК, запускается биосинтез белка – фермента. Накопление фермента приводит к разрушению индуктора - лактозы. Белок–репрессор освобождается, оператор блокируется и работа оперона останавливается.

Другой тип **регуляции по типу репрессии** обнаружен при изучении

триптофанового оперона. Этот оперон содержит гены ферментов, участвующих в биосинтезе аминокислоты триптофан. В отличие от лактозного, триптофановый оперон подавляется триптофаном: при наличии триптофана он изменяет конформацию белка-репрессора и **позволяет** ему связаться с оператором, транскрипция ингибируется (в данном случае триптофан - **корепрессор**, белок-репрессор — **апорепрессор**); в отсутствие триптофана белок-репрессор распадается на мономеры и становится не активен, оператор не заблокирован, РНК-полимераза связывается с промотором и начинает транскрипцию структурных генов, происходит синтез триптофана.

Как и у прокариот, регуляция транскрипции у эукариот опосредована ДНК - белковыми взаимодействиями. **Белки позитивной и негативной регуляции** связываются со специфическими областями ДНК и стимулируют, или ингибируют, транскрипцию. Группу таких белков называют **транскрипционными факторами**. Индукция генной экспрессии может быть обусловлена влиянием факторов внешней среды: температуры, света, а также действием факторов внутренней среды, таких как **гормоны**. У многоклеточных эукариот один тип клеток может подавать сигнал другому путем секреции гормонов. Гормоны циркулируют по телу. Разные гормоны проникают в разные клетки, вступая в контакт с соответствующими целевыми клетками и затем инициируют серию событий, которые регулируют экспрессию определенных тканеспецифических генов. В эмбриональный период развития особей гормоны являются одним из факторов дифференцировки клеток.

Схематично генная экспрессия у эукариот может регулироваться на нескольких уровнях:

1. Регуляция уровня компактизации молекулы ДНК в виде эухроматина или гетерохроматина. На этом уровне работают ферменты, модифицирующие белковые молекулы гистонов, что позволяет осуществлять доступ ферментов транскрипции к определенным генам. В настоящее время этому уровню придается все большее значение. Процессы **модификации гистонов** и **метилирования ДНК** изучает новое направление генетики — **эпигенетика** (см. ниже).

2. Первичный контроль инициации транскрипции с участием регуля-

торных элементов ДНК и белковых факторов.

3. Регуляция формирования матричной РНК - процессинг транскрипта в зрелую мРНК. Различные формы мРНК обычно получаются из одного и того же гена путем альтернативного сплайсинга.

4. Контроль с участием особых молекул малых интерферирующих РНК (миРНК от англ. small interfering RNA или siРНК), способных комплементарно связываться с подавляемым геном или его транскриптом - **интерференционной РНК**.

РНК-интерференция — это способ управления активностью генов посредством коротких двухцепочечных РНК, их назвали **малые интерферирующие РНК** (миРНК от англ. small interfering RNA или siРНК). При этом происходит выборочная деградация или ингибирование трансляции определенных мРНК, комплементарных миРНК. МиРНК являются короткими двуспиральными молекулами РНК, состоящими из 21-23 пары оснований. Попадая в клетку молекулы миРНК дают сигнал работе ряда ферментов, которые разрезают комплементарную одноцепочечную мРНК на отдельные фрагменты и удаляют из нее подлежащие ликвидации участки. Содержащаяся в этих участках информация не передается рибосомам. РНК – интерференция может разрушать генетический материал попадающих в клетку вирусов, уничтожает подвижные элементы его генома и участвует в регуляции экспрессии функциональных генов, блокируя их работу. Тем самым осуществляется особый вид внутриклеточного иммунитета с помощью молекул РНК. Также миРНК могут связываться с комплементарными участками ДНК и изменять структуру хроматина.

5. Контроль на уровне трансляции путем **редактирования мРНК**.
6. Контроль на посттрансляционном уровне.

Трансляция

Трансляция – важнейший этап реализации генетической программы клеток, в процессе которого информация, закодированная в первичной структуре нуклеиновых кислот, переводится в аминокислотную последовательность синтезируемых белков, так же относится к реакциям матричного синтеза. Трансляция (синтез белка) у эукариот происходит вне кле-

точного ядра в рибосомах в цитоплазме.

Трансляция включает 3 фазы: инициация, элонгация и терминация синтеза белка.

Инициация – фаза начала синтеза полипептида (рис. 5.13-А). Рибосома в процессе трансляции выполняет ряд функций:

- связывает и удерживает мРНК;
- взаимодействует с аминоацил-тРНК, осуществляет синтез пептидной связи;
- удерживает растущий полипептид, участвует в гидролизе ГТФ (гуанизинтрифосфата) и продвигается по мРНК, взаимодействует с белками – факторами трансляции.

В присутствии иРНК происходит объединение субчастиц рибосом, формируется рибосома, в составе которой различают пептидильный (П) и аминоацильный (А) центры. В аминоацильном А-участке располагается аминоацил-тРНК, несущая определенную аминокислоту. В пептидильном П-участке располагается тРНК, которая нагружена цепочкой аминокислот, соединенных пептидными связями. Происходит присоединение к рибосоме первой аминоацил-тРНК.

Ферментом, участвующим в реакции присоединения аминокислоты к тРНК в цитоплазме, является **кодаза (т-РНК синтетаза).** Процесс узнавания молекулой тРНК своей аминокислоты называется **рекогницией.**

У эукариот мРНК имеет только один участок начала трансляции. Первый от 5'-конца АУГ-кодон оказывается инициирующим. Он кодирует стартовую аминокислоту – метионин. Единственным общепринятым и универсальным сигналом инициации является кэп-структура. Основную роль в поиске и закреплении малой субъединицы на инициирующем кодоне играют эукариотические инициирующие факторы, которые образуют белковый комплекс, связывающий малую субъединицу рибосомы с кэп-структурой мРНК.

Элонгация – удлинение полипептида (рис. 5.13-Б).

Внутри большой субчастицы рибосомы одновременно находятся

около 30 нуклеотидов мРНК и только 2 информативных триплета-кодона: один – в А-участке, другой – в П-участке. Молекула тРНК с аминокислотой вначале подходит к А–центру рибосомы. В том случае, если антикодон т–РНК комплементарен кодону иРНК, происходит временное присоединение тРНК к кодону иРНК. После этого рибосома передвигается на 1 кодон по иРНК, а тРНК с аминокислотой перемещается в П–участок. К освободившемуся А–участку приходит новая аминоацил-тРНК с аминокислотой и вновь останавливается там в том случае, если антикодон тРНК комплементарен кодону иРНК.

Основным ферментом, участвующим в образовании пептидной связи, является **пептидилтрансфераза**. Между аминокислотой и полипептидом в присутствии образуется пептидная связь и одновременно разрушается связь между аминокислотой и ее тРНК, а также между тРНК и иРНК. Освободившаяся от аминокислоты тРНК выходит из рибосомы в цитоплазму. Рибосома снова перемещается на 1 триплет.

Терминация – завершение синтеза полипептида (рис. 5.13-В).

Когда на рибосоме появляется один из Стоп-кодонов мРНК (УАА, УАГ или УГА) синтез белка прекращается. Стоп-кодоны соединяются с особыми белками – релизинг-факторами. К последней аминокислоте сформировавшегося полипептида присоединяется вода и ее карбоксильный конец отделяется от тРНК. В результате пептидная цепь теряет связь с рибосомой, и вся структура рибосомы распадается. Синтезировалась полипептидная цепь – первичная структура белка.

Синтез однотипного полипептида в большом количестве происходит на полирибосомах (рис. 5.14).

Посттрансляционная модификация белка. Некоторые синтезированные белки неактивны без последующего «созревания» – модификации. В процессе «созревания» белковые молекулы могут терять концевые аминокислоты, при участии фермента – **экзопептидазы**, преобразоваться во вторичную и третичную белковые структуры (рис. 5.15). Если полипептидные цепочки объединяются, могут образовываться четвертичные

структуры. Синтезированные макромолекулы могут объединяться с углеводами и липидами, встраиваясь в биомембраны.

В результате пострансляционной модификации белки приобретают специфические свойства и функциональную активность.

Классификация генов

Все гены по функциям подразделяются на структурные и функциональные.

1. **Структурные гены** несут информацию о белках-ферментах и гистонах, о последовательности нуклеотидов в различных видах РНК.

2. Среди **функциональных генов** выделяют:

- **гены-модуляторы,** усиливающие или ослабляющие действие структурных генов **(супрессоры (ингибиторы), активаторы, модификаторы);**

- гены, регулирующие работу структурных генов **(регуляторы и операторы).**

Все клетки многоклеточного организма, возникая из зиготы путем митоза, получают полноценный набор генетической информации. Несмотря на это, они отличаются друг от друга по морфологии, биохимическим и функциональным свойствам. В основе этих различий лежит активное функционирование в разных клетках неодинаковых частей генома. Большая часть генома находится в клетках организма в неактивном, *репрессированном,* состоянии, и только 7-10% генов *активны,* т. е. транскрибируются. Спектр функционирующих генов зависит от тканевой принадлежности клетки, от периода ее жизненного цикла и стадии индивидуального развития организма.

Конститутивные гены, или гены «домашнего хозяйства» (от анг. housekeeping), обеспечивают функции, свойственные всем типам клеток. Эти гены кодируют белки общего назначения (гистоны, белки рибосом, тубулины и др.), тРНК, рРНК.

Индуцибельные гены или гены «роскоши» (англ. luxury) гены, обеспечивающие специализированные функции различным типам клеток. Изменение условий может привести к активации «молчащих» генов и ре-

прессии активных. Дифференцированная экспрессия одного генома у млекопитающих обусловливает развитие огромного множества типов клеток.

ЭПИГЕНЕТИКА

Эпигенетика представляет собой изучение закономерностей наследования, которые связаны с механизмами, не затрагивающими изменение последовательности ДНК. Эпигенетические изменения сохраняются в ряде клеточных делений при митозе, а также могут передаваться следующим поколениям при мейозе. При этом, они не вызывают каких-либо изменений в последовательности ДНК и приводят к дифференциальной экспрессии генов. Один генотип, следовательно, может проявиться в виде разных фенотипов в зависимости от «эпигенетического статуса» определенного участка или нескольких участков ДНК.

Эпигенетика изучает механизмы, при помощи которых, на основе генетической информации, заключенной в одной клетке (зиготе), за счет различной экспрессии генов в различных типах клеток, может осуществляться развитие многоклеточного организма, состоящего из дифференцированных клеток. Все клетки организма в начале развития тотипотентны, способны развиваться в любую клетку тела, поскольку генетически идентичны. В ходе развития они приобретают разные свойства, например, одни становятся кардиоцитами, другие – нейронами. Это происходит в результате активации различных наборов генов в разных клетках. В дифференцированных клетках экспрессируются только гены, необходимые для их специфической деятельности. Клетки получают на определенных этапах развития разные (гормональные и др.) сигналы, которые направляют их на тот или иной эпигенетический «маршрут». Примерами эпигенетических изменений являются ДНК метилирование нуклеотидов и деацетилирование гистонов. Эти механизмы служат для подавления или усиления экспрессии генов.

Метилирование ДНК

Метилирование ДНК – это добавление метильных групп к специфическим участкам на ДНК, обычно к цитозину, за которым следует гуанин.

Почти 10% цитозина у высших организмов метилируется, он присутствует в Ц- и Г- парах, обозначаемых CpG (цитозин и гуанин, связанные фосфатом). В процессе участвуют ДНК-метилтрансферазы. Обнаружены белки, способные связываться с ДНК, содержащей метилированные нуклеотиды CpG (MeCPs). Эти белки вовлекают в процесс репрессорные комплексы, связывающиеся с метилированными промоторными участками. Метилирование ДНК ведет к подавлению экспрессии гена без изменения последовательности нуклеотидов в ней.

Мутации гена человека ДНМТ3В, (DNmt3b), кодирующего ДНК-метилтрансферазу, вызывают заболевание, называемое синдром ICF (Immunodeficiency, Centromeric instability, and Facial abnormalities - синдром иммунодефицита, нестабильности центромерного участка и лицевых аномалий.) В результате мутации гена MeCP2, расположенного на Х-хромосоме, у человека нарушается состояние гетерохроматина и развивается синдром Ретта – психоневрологическое заболевание, встречающееся почти исключительно у девочек.

Обратимые изменения в структуре хроматина

В эухроматине гены доступны для транскрипции, в гетерохроматине – нет. Локальная структура хроматина может обратимо изменяться с помощью различных механизмов, называемых «ремоделирование хроматина». Ремоделирование хроматина является активным обратимым процессом, с помощью которого гистоны, связанные с молекулами ДНК перемещаются, делая гены доступными для транскрипции. Необходимая энергия обеспечивается путем гидролиза АТФ в больших ремоделирующих комплексах.

Модификация гистонов

Ключевым событием в ремоделировании хроматина является модификация гистонов Н3 и Н4. Метилирование (добавление CH_3-группы), ацетилирование (добавление ацетильных групп) и фосфорилирование (добавление фосфатных групп) являются основными типами модификации, которым подвергаются гистоны Н3 и Н4 по определенным аминокислотам в N-концевых участках (хвостах). Это приводит к изменению свойств гистонов

и, соответственно, к конденсации или деконденсации хроматина.

Геномный импринтинг

У эукариот часто только один аллель определенного гена экспрессируется, в то время как другой — постоянно репрессирован. Состояние экспрессии зависит от того, какой из родителей дает тот или иной аллель, то есть имеет ли он материнское или отцовское происхождение (родительско-специфическая экспрессия). Это явление называется **геномный импринтинг.** Импринтинг осуществляется посредством метилирования ДНК в промоторной области в результате чего экспрессия гена блокируется. Геномный импринтинг является важным изменением в клетках млекопитающих. Естественный отбор действует по-разному на геномы материнского и отцовского происхождения.

Невозможность установить нормальный образец импринтинга из-за генной перестройки вызывает важную гетерогенную группу болезней импринтинга.

Болезни импринтинга вызываются различными механизмами, поражающими один или несколько активных генов, нормально экспрессируемых только в одном родительском аллеле. Наиболее известными являются синдром Прадера—Вилли и синдром Ангельмана, обусловленные подавлением экспрессии или делецией генов 15 хромосомы. Синдром Прадера—Вилли, вызваный изменениями в отцовской хромосоме, характеризуется снижением мышечного тонуса, задержкой психического развития, косоглазием и ожирением. Для синдрома Ангельмана характерно более выраженная задержка психического развития, нарушение сна, хаотичность движения. Развитие данного синдрома обусловлено изменениями тех же генов в хромосоме матери.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ:

1. Назовите основные принципы организации нуклеиновых кислот.
2. Чем молекула ДНК отличается от РНК?
3. Опишите основные виды и функции РНК.
4. Перечислите и охарактеризуйте основные свойства генетического кода.
5. Каким образом осуществляется передача наследственной информации? Какие ферменты участвуют в репликации ДНК?
6. Каковы сходства и различия в структурной организации генов прокариот и эукариот?
7. Как осуществляется регуляция экспрессии генов прокариот и эукариот?
8. Что такое центральная догма молекулярной биологии?
9. Назовите основные этапы транскрипции и трансляции. Перечислите и охарактеризуйте сходства и отличия у прокариот и эукариот.
10. Что такое эпигенетика?

Лекция 6

ОСНОВНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ НЕЗАВИСИМОГО НАСЛЕДОВАНИЯ ГЕНОВ И ПРИЗНАКОВ

ПЛАН ЛЕКЦИИ:

1. **ИСТОРИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ГЕНЕТИКИ КАК НАУКИ.**
2. **ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ ГЕНЕТИКИ.**
3. **ЗАКОНЫ НЕЗАВИСИМОГО НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ (Г.МЕНДЕЛЬ).**
4. **АНАЛИЗИРУЮЩЕЕ СКРЕЩИВАНИЕ.**
5. **ВИДЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АЛЛЕЛЬНЫХ ГЕНОВ.**
6. **ВИДЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕАЛЛЕЛЬНЫХ ГЕНОВ.**
7. **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ.**

ИСТОРИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ГЕНЕТИКИ КАК НАУКИ

Генетика изучает закономерности наследственности и изменчивости - два основных свойства живой материи всех организмов. Термин «генетика» был предложен в 1906 г. (Бэтсон). В 1909 г. появились понятия «ген», «генотип», «фенотип» (Иогансен).

История развития генетики включает два основных периода: I – доменделевский и менделевский.

Доменделевский период

1. Гиппократ писал «О семени и природе ребенка». Значение работы – истоки эмбриологии. Выдвинул впервые предположение о наследственной предрасположенности к гемофилии и эпилепсии.

2. Платон – предлагал подбирать супружеские пары – истоки «евгеники».

3. Адамс, врач-педиатр (1756-1818). Автор работы: «Трактат о предполагаемых свойствах наследственных болезней» - своеобразный справочник для медико-генетического консультирования.

4. Ф. Гальтон (1883). Изучал наследование таланта и характера. Является родоначальником евгеники. Дал определение евгенике, как науке об улучшении потомства. Писал о преимуществе одной расы (более одаренной) над другой.

5. Флоренский писал о совершенствовании и вырождении человеческого рода (1881). Он указал на нежелательность кровнородственных браков.

6. Левенгук обнаружил сперматозоиды (считалось, что для зародыша главное – мужское начало).

Менделевский период

1. В 1865 году на заседании общества любителей естествознания в городе Брно (Чехия) он сделал сообщение о своих исследованиях. В 1866 году в работе «Опыты над растительными гибридами», ставшей впоследствии классической, Мендель описал результаты своих экспериментов. Но в то время его работа не привлекла внимания современников.

2. Лишь в 1900 г., спустя 34 года, те же закономерности вновь установили независимо друг от друга Ги Де Фриз в Голландии, Корренс в Германии и Чермак в Австрии. Вскоре было показано, что закономерности, открытые Менделем, свойственны как растениям, так и животным. Поэтому 1900 год можно считать годом второго рождения генетики.

Условно можно выделить следующие этапы Менделевского периода развития генетики:

I этап (1900-1920) – подтверждение законов Менделя на разных объектах. Биохимик Гаррольд писал о распространенности алкаптонурии и изучил химические особенностиэтой болезни. При этом он продемонстрировал действие законов Менделя (Менделевские болезни, менделирующие признаки), впервые на химическом уровне показал блок гена.

2 этап (1920-1940). Создание хромосомной теории наследственности Морганом и его учениками (Бриджес, Меллер, Стеревант). Заложены основы популяционной генетики (з-н Харди-Вайнберга).

3 этап (1940-1960). Развитие биохимической генетики, молекулярной генетики.

- в 1944 г. Мак-Карти определил: ДНК – химический субстрат наследственности;
- Бидл, Татум предложили гипотезу «один ген – один фермент»
- в 1953 г. Дж.Уотсон и Ф.Крик создали модель ДНК (двухцепочечная спираль); ониеще раз доказали, что ДНК – субстрат наследственности и изменчивости.
- Крик, Бреннер описали генетический код.

4 этап (1960-1970) – развитие клинической цитогенетики. Предложены Денверская и Парижская классификация хромосом. Обоснованы цитогенетические основы синдрома Дауна и Клайнфельтера.

V этап (1980 – 2003). Развитие молекулярной генетики.

- в 1980 г. предложен метод полимеразной цепной реакции.
- в 1991 г. стартует программа «Геном человека».
- 2001 – геном человека расшифрован в черновом варианте (90%).
- 2003 – завершена программа «Геном человека». Расшифровано 99% генома человека с точностью 99,9%.

VI этап – с 2003 г. развивается функциональная геномика, протеомика, метаболомика, транскриптомика и другие «омики».

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ ГЕНЕТИКИ

Наследственность – это свойство живых систем передавать из поколения в поколение особенности морфологии, физиологии и индивидуального развития в определенных условиях среды, свойство организмов повторять в ряду поколений сходные признаки. Благодаря наследственности родители и потомки имеют сходство в химическом составе тканей, характере обмена веществ, морфологических признаках и других особенностях. Вследствие этого каждый вид организмов воспроизводит себе подобных из поколения в поколение. Материальными носителями наследственности информации являются гены.

Ген - это участок молекулы ДНК, ассоциированный с регуляторными элементами и соответствующий одной единице транскрипции (один поли-

пептид или один белок). Ген - это функциональная единица наследственности, определяющая развитие какого-либо признака.

Геном - совокупность всех генов гаплоидного набора хромосом данного вида особей.

•*Генотип* - *с*овокупность всех генов диплоидного набора хромосом.

•*Фенотип* – внешнее проявление генотипа, реализация генотипа в определенных условиях среды.Гены находятся в хромосомах.

Гомологичные хромосомы - это хромосомы одинакового размера и морфологии, которые состоят из одних тех же генов, при этом одна из пары гомологичных хромосом является отцовской, другая- материнской.

Локус – термин, обозначающий местоположение конкретного гена в хромосоме. Оно постоянно для каждого гена.

• *Аллель* – это варианты одного и того же гена, обусловленные изменениями нуклеотидных последовательностей (м.б. одинаковыми или разными - альтернативными).

• *Гомозигота* – диплоидный организм, содержащий одинаковые аллели данного гена в идентичных локусах гомологичных хромосом (например, *DD, AA, rr, a*а).

• *Гетерозигота* – диплоидный организм, содержащий разные аллели данного гена в идентичных локусах гомологичных хромосом (например, *Aa*, *Gg*).

• *Доминантный аллель* определяет признак, проявляющийся как в гомо-, так и в гетерозиготном состоянии (например, *AA* и *Aa* – желтый цвет).

• *Рецессивный аллель* определяет признак, проявляющийся только в гомозиготном состоянии (например, *aa* – зеленый цвет).*Альтернативные аллели* - разные состояния одного и того же гена (например, аллель *A* – контролирует выработку пигмента желтого цвета, тогда как аллель *a* - зеленого).

Основные закономерности наследования свойств и признаков в поколениях были открыты Г. Менделем в опытах на горохе. Горох – самоопыляемое растение. В своих опытах Мендель использовал гибридологи-

ческий метод (скрещивал особей с различными генотипами).

Гибридизация – это скрещивание особей с различными генотипами.

Моногибридное скрещивание – скрещивание особей, различающихся по одной паре альтернативных признаков.

Дигибридное скрещивание – скрещивание особей, различающихся по двум парам альтернативных признаков.

Полигибридное скрещивание – скрещивание особей, различающихся по многим парам альтернативных признаков.

ЗАКОНЫ НЕЗАВИСИМОГО НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ (Г.МЕНДЕЛЬ)

В своих экспериментах Г.Мендель использовал гибридологический метод, который характеризовался следующими особенностями:

1) Все эксперименты Мендель начинал только с чистыми линиями.

Чистые линии - это особи, не дающие расщепления по изучаемым признакам, и имеющие только один тип гамет. Примером чистых линий являются особи с гомозиготными генотипами: *АА; ВВ; ааВВ; ААвв; аавв*.Мендель изучал наследование по отдельным признакам, а не по всему комплексу генов. Так, чистые линии гороха при моногибридном скрещивании отличались только по цвету (желтый и зеленый), при дигибридном – по двум признакам – по цвету и форме и т.д.

3) Мендель проводил точный количественный учет наследования каждого признака в ряду поколений.

4) Изучал характер потомства каждого гибрида в отдельности, т.е. устанавливал генотип каждой особи при проявлении доминантного признака с помощью анализирующего скрещивания.

Моногибридное скрещивание

На рис. 6.1. показаны 7 признаков, изученных Г.Менделем при моногибридном скрещивании гороха.

I закон Менделя – закон единообразия гибридов I поколения (или правило доминирования) (рис. 6.2). *При скрещивании гомозиготных особей, анализируемых по одной паре альтернативных признаков, наблюда-*

ется единообразие гибридов I поколения (F_1).

(Единообразие обусловлено доминированием аллеля *A* над аллелем *a*).

Затем Мендель скрестил гибридов I поколения между собой.

II закон Менделя – закон расщепления (см. рис. 6.2).

При скрещивании гомозиготных особей, анализируемых по одной паре альтернативных признаков, во втором поколении наблюдается расщепление в соотношении 3:1 по фенотипу и 1 : 2 : 1 – по генотипу.

Особи, содержащие хотя бы один доминантный аллель (*A*), имели желтую окраску семян (явление доминирования), а оба рецессивных аллеля (*aa*) - зеленую. То есть во втором поколении появились формы, свойственные прародителям.

Впоследствии, в 1902 г., после открытия мейоза, Бэтсон для объяснения II закона Менделя предложил цитологическое обоснование и ***гипотезу «чистоты» гамет*** (рис. 6.3)***:*** *аллельные гены в гетерозиготном состоянии не изменяют друг друга и не смешиваются. В гаплоидной гамете может быть лишь один аллель из пары аллельных генов, поэтому гаметы остаются «чистыми»*).Гамета чиста, т.к. в ней находится только одна хромосома.

- Вследствие независимого расхождения гомологичных хромосом и хроматид в мейозе из каждой пары аллелей в гамету попадает только один ген.
- Аллельные гены находятся в гетерозиготном состоянии.
- Гаметы, несущие доминантный или рецессивный аллели, при оплодотворении свободно и независимо комбинируются.

Дигибридное и полигибридное скрещивание

Изучив наследование по одному признаку, Г.Мендель решил проанализировать характер наследования двух признаков одновременно. Для этого он использовал гомозиготные растения гороха, различающиеся по 2-м парам альтернативных признаков: цвету (жёлтые и зелёные) и форме (гладкие и морщинистые). В результате в I поколении он получил все растения с жёлтыми гладкими семенами, т.е. было показано, что закон единообразия гибридов I поколения проявляется и при полигибридном скрещи-

вании.

Затем он опять скрестил гибриды I поколения между собой. В потомстве оказалось 16 комбинаций генотипов:

9/16 – жёлтые гладкие (генотип*A_B_*)

3/16 – жёлтые морщинистые (генотип*A_ bb*) – новая комбинация признаков

3/16 – зелёные гладкие (генотип *aa B_)* – новая комбинация признаков

1/16 – зелёные морщинистые (генотип *aabb*)

Этот радикал (9:3:3:1) служит основой для анализа всех видов расщепления и взаимодействия аллелей.

Отсюда вытекает

III закон Менделя – закон независимого наследования и комбинирования. (рис. 6.4).

При скрещивании гомозиготных организмов, анализируемых по двум (или более) парам альтернативных признаков, во втором поколении (F_2) наблюдается независимое наследование и комбинирование признаков в потомстве от двух родителей, если гены, определяющие эти признаки расположены в разных парах гомологичных хромосом, т.е. не сцеплены.

Мендель обнаружил, что признаки цвета и формы *наследуются* независимо друг от друга, а именно: в поколении F_2: желтых семян – (9+3=12); зеленых (3+1=4); т.е. 12:4=3:1. Такое же распределение наблюдалось по форме семян: гладких – (9+3=12); морщинистых – (3+1=4). 12:4=3:1. Т.е., и по цвету, и по форме соотношение сохраняется таким же, как и при обычном моногибридном скрещивании.

Независимое *комбинирование* признаков проявляется в том, что оба признака могут сочетаться в зиготе независимо друг от друга: 9:3:3:1.

9 – оба признака доминантные: *A_Bв*

3 – один признак доминантный: *A_bb*

3 – другой признак доминантный: *aaB_*

1 – оба признака рецессивные: *aabb*

Точный количественный учёт признаков позволил Менделю выявить статистические закономерности при полигибридном скрещивании:

1. Количество возможных гамет равно 2^n, где *n* – количество гете-

розигот. Например, по 3-м признакам генотип *AABbCc*

Т.к. *n* = 2 (гетерозиготы *Bb* и *Cc*), то количество гамет $2^2 = 4$.

При моногибридном скрещивании: *AA; n*= 0 (гетерозигот нет). $2^0 = 1$ (Один тип гамет *A*).

*AabbccDDKK*n = 1 (гетерозиготный генотип один –*Aa*); *n* = 1; $2^1 = 2$. Получаем два типа гамет (*A* и *a*).

2. Число возможных зигот равно $2^{n1}*2^{n2}$, где *n1* – число гетерозигот у первого родителя, *n2* – у второго.

3. При скрещивании гетерозиготных особей, отличающихся по нескольким парам альтернативных признаков, в потомстве наблюдается расщепление по фенотипу $(3+1)^n$, где n – число анализируемых признаков.

При дигибридном скрещивании $(3+1)^2 = 9+3+3+1$.

На основе своих экспериментов Мендель впервые показал:

1. наследственные задатки – дискретные единицы
2. за каждый признак отвечает не один, а пара наследственных задатков.
3. В этой паре один из генов может быть доминантным, другой – рецессивным.
4. Наследственные задатки у потомков могут наследоваться и комбинироваться независимо друг от друга.

У человека известно более 1000 признаков, которые наследуются в соответствии с законами Менделя (так называемые, менделирующие признаки). К доминирующим признакам у человека относятся карий цвет глаз; темная пигментация кожи, рыжий цвет волос и наличие веснушек, преобладающая рука; абсолютный музыкальный слух, курчавые волосы. Менделевское наследование установлено для групп крови человека по системе АВО, резус-фактора, моногенных заболеваний и т.д. (рис. 6.5.).

АНАЛИЗИРУЮЩЕЕ СКРЕЩИВАНИЕ

На практике для установления генотипа родительской особи, проявляющей доминантный фенотип (которая может быть как гомо-, так и гете-

розиготой), её скрещивают с рецессивной формой. Если от такого скрещивания все потомство окажется однородным, значит анализируемая особь гомозиготна (единообразие гибридов 1 поколения), если произойдет расщепление, то она гетерозиготна.

Однако далеко не все признаки наследуются в точном соответствии с законами Менделя. Причиной отклонения от законов Менделя являются ***летальные гены.*** Например, у каракульских овец ген окраски шерсти обладает ***плейотропным*** действием (множественный эффект гена); доминантный аллель (*A*) гена обусловливает серую окраску шерсти, в то же время обусловливает аномалию пищевода, а рецессивный аллель гена (*a*) – черную окраску шерсти и нормальное развитие пищевода. Поэтому особи с генотипом *AA* гибнут (летальный генотип), а особи с генотипами *Aa* (серые) и *aa* (черные) – жизнеспособны. В результате гибели эмбрионов с генотипом *AA* во втором поколении (при скрещивании гибридов I поколения) в потомстве наблюдается отклонение от ожидаемого расщепления. Вместо ожидаемого расщепления 3:1 наблюдаемое расщепление по фенотипу составит 2:1.

Однако наиболее частой причиной отклонения от законов Менделя является взаимодействие генов. Различают взаимодействие аллельных и неаллельных генов.

ВИДЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АЛЛЕЛЬНЫХ ГЕНОВ

1. *Полное доминирование: AA* (желтый цвет) = *Aa* (желтый цвет).

Доминантный аллель (*A*) полностью подавляет действие рецессивного аллеля (*a*). При этом гомозиготы по доминантному признаку и гетерозиготы фенотипически не отличимы (жёлтый горох). В F_2 наблюдается расщепление по фенотипу 3 : 1, по генотипу – 1 : 2 : 1.

2. *Неполное доминирование: AA* (красный цвет) > *Aa* (розовый цвет).

Доминантный аллель (*A*) не полностью подавляет рецессивный ал-

лель (*a*) (рис. 6.6), т.е. в присутствии рецессивного аллеля наблюдается ослабление действия доминантного аллеля. Фенотип особей с генотипом *AA* и *Aa* разный. Например, при скрещивании растений ночной красавицы, имеющей пурпурные цветки (*AA*), с растением, имеющим белые цветки (*aa*), все растения первого поколения будут иметь промежуточную розовую окраску. Это не противоречит правилу единообразия гибридов первого поколения Г. Менделя: ведь действительно в первом поколении все цветки розовые. При скрещивании двух особей ночной красавицы из первого поколения во втором поколении происходит расщепление, но не в соотношении 3:1, а в соотношении 1:2:1, т.е. одна часть растений имеют белые цветки (*aa*), две части – розовые (*Aa*) и одна часть пурпурные (*AA*).

Таким образом, в случае неполного доминирования расщепление по генотипу 1:2:1 совпадает с расщеплением по фенотипу 1: 2: 1 (красные, розовые, белые.

3. *Сверхдоминирование: AA < Aa.*

Доминантный аллель в гетерозиготном состоянии проявляет себя сильнее, чем в гомозиготном. Например, у дрозофилы имеется рецессивный летальный ген, гетерозиготы по которому обладают большей жизнеспособностью, чем доминантные гомозиготы (рис. 6.7). Сверхдоминантность – это лучшая приспособленность и более высокая селективная ценность (отборное преимущество) особей с гетерозиготным генотипом от моногибридного скрещивания (*Aa*) по сравнению с обоими типами гомозигот (*AA* и *aa*). Сверхдоминирование можно определить как возникший при моногибридном скрещивании. Наиболее известный пример сверхдоминирования взаимоотношения между нормальным (*S*) и мутантным (*s*) аллелями гена, контролирующего структуру гемоглобина человека. Люди, гомозиготные по мутантной аллели (*ss*), страдают тяжелым заболеванием крови – серповидноклеточной анемией, от которого гибнут в детском возрасте (эритроциты больного имеют серповидную форму и содержат гемоглобин, структура которого незначительно изменена в результате мутации). Однако в тропической Африке и других районах, где распространена малярия, в популяции человека постоянно присутствуют все три генотипа – *SS, Ss, ss*

(20 – 40% населения имеют гетерозиготный генотип). Оказалось, что сохранение в популяции человека летальной аллели (*s*) обусловлено тем, что гетерозиготы (*Ss*) более устойчивы к малярии, чем гомозиготы (*SS*) по нормальному гену, следовательно, обладают отборным преимуществом.

Примеры сверхдоминирования многочисленны как в животном, так и в растительном мире. Так, при скрещивании чистых линий двух сортов кукурузы (*AA* × *aa*) гетерозиготное потомство (*Aa)* оказывалось более выносливым и продуктивным, чем исходные гомозиготные родительские формы.

Однако при дальнейшем самоопылении по мере перехода кукурузы в гомозиготное состояние эти положительные качества гибридов утрачивались. Явление «гибридной мощности», или превосходства гибридов по ряду признаков и свойств над родительскими формами, названо Дж. Шеллом в 1914 г. «гетерозисом».

Гетерозис (гибридная мощность, гибридная сила), превосходство гибридов первого поколения над родительскими формами по жизнеспособности, урожайности, плодовитости и ряду других признаков. Для получения эффекта гибридной мощности важно в качестве родителей выбирать неродственные формы, представляющие различные линии, породы, даже виды. На практике наилучшие родительские пары, дающие наиболее ценные гибриды, отбираются в результате многочисленных скрещиваний, позволяющих выявить наиболее удачную сочетаемость различных линий. При скрещивании между собой следующих поколений гетерозис ослабевает и затухает.

В основе гетерозиса лежит резкое повышение гетерозиготности у гибридов первого поколения и превосходство *гетерозигот* по определённым генам над соответствующими *гомозиготами*. Таким образом, явление гибридной мощности противоположно результату близкородственного скрещивания – *инбридинга*, имеющему для потомства неблагоприятные последствия. Генетический механизм гетерозиса (он до конца не выяснен) связывают также с наличием у гибрида по сравнению с родителями большего числа доминантных генов, взаимодействующих между собой в бла-

гоприятном направлении. Гетерозис широко используется в практике сельского хозяйства для повышения урожайности сельскохозяйственных культур и продуктивности сельскохозяйственных животных. Одна из важных задач *селекции* – поиски путей «закрепления» гетерозиса, т. е. сохранения его в ряду поколений.

4. *Кодоминирование: A1+A2=C*

Этот тип взаимодействия аллельных генов, при котором два доминантных аллеля проявляют активность, внося равноценный вклад в формирование фенотипа. Наличие в генофонде одновременно различных аллелей гена называют *множественным аллелизмом*, причиной которого являются случайные изменения структуры гена (мутации), сохраняемые в процессе естественного отбора в генофонде популяции.

Примером множественных аллелей является наследование групп крови человека по системе АВО (рис. 6.8.). Формирование четырех групп крови по системе АВО обусловлено наследованием трех аллелей одного и того же гена: J^O, J^A, J^B. Аллель J^A (аллель II (А) группы крови) обусловливает синтез антигена А на мембранах эритроцитов, аллель J^B (аллель III (В) группы крови) – синтез антигена В, а аллель J^O, который по отношению к ним является рецессивным аллелем, обусловливает отсутствие на мембранах эритроцитов этих антигенов. Следовательно, генотип J^OJ^O характеризуется отсутствием антигенов и определяет I(O) группу крови, генотипы J^AJ^A и J^AJ^O характеризуются присутствием на эритроцитах антигена А и определяют II(А) группу крови, генотипы J^BJ^B и J^BJ^O характеризуются присутствием на эритроцитах антигена В и определяют III(В) группу крови, гетерозиготный по доминантным аллелям генотип J^AJ^B характеризуется наличием на мембране эритроцитов одновременно антигенов А и В (эффект кодоминирования), что определяет IV (АВ) группу крови. Особи, имеющие II (*АА*) и III (*ВВ*) группы крови гомозиготны, однако у их гетерозиготных потомков из-за одинакового проявления (экспрессии) генов будет отмечаться четвертая (*АВ*) группа крови.

Наследование аллелей серии множественных аллелей подчиняется менделеевским закономерностям. Каждый член серии множественных ал-

лелей может мутировать в прямом и обратном направлении и имеет свою частоту мутирования.

Закономерности множественного аллелизма:

1) Для множественных аллелей также характерны формы взаимодействия аллелей (полное доминирование, неполное доминирование, кодоминирование и т.д.) ($J^A > J^O$; $J^B > J^O$; $J^A = J^B$).

2) В генотипе диплоидного организма могут находится только два аллеля из серии множественных аллелей: J^O J^O – I группа; J^A J^A, J^A J^O – II группа; J^B J^B, J^B J^O – III группа; J^A J^B – IV группа (кодоминирование).

3) Каждый аллель из серии множественных аллелей может обусловливать развитие только одного из альтернативных признаков или одновременно может иметь множественный эффект (плейотропное действие). Например, люди с I группой крови в два раза чаще болеют язвенной болезнью 12-перстной кишки и желудка, чем люди с другими группами крови, кроме того, они не устойчивы к чуме. Люди со II группой крови не устойчивы к оспе и раку, с III – сердечно-сосудистым заболеваниям, раку, сахарному диабету и др.

Таким образом, даже процесс формирования элементарного признака – синтез полипептида с определенной последовательностью аминокислот – зависит, как правило, от взаимодействия по меньшей мере двух аллельных генов и конечный результат определяется конкретным сочетанием их в генотипе.

5. *Межаллельная комплементация.*

Относится к редким способам взаимодействия аллельных генов. В данной ситуации гомозиготный по рецессивным, но различным между собой, аллелям генотип фенотипически проявляется как гетерозиготный, то есть происходит нормальное формирование признака даже при отсутствии доминантного аллеля. Причина в том, что продукты рецессивных генов, взаимодействуя, и дополняя друг друга, формируют признак идентичный деятельности доминантного аллеля. При межаллельной комплементации наблюдается изменение свойств мультимерных белков в результате объ-

единения двух или нескольких мутантных полипептидных цепей, кодируемых разными аллелями; активность такого гетеромультимера может быть повышенной (положительная межалелльная комплементация), пониженной (отрицательная межаллельная комплементация) или возвращенной к дикому типу. Сложный фермент состоит из несколько доменов и, соответственно, функциональных центров – для связывания субстрата, для взаимодействия с коферментом, с регуляторными молекулами, с мембранами клеток. Кроме того, он может включать несколько полипептидных цепей одного и того же строения, объединенных вместе в четвертичную структуру. Каждый из мутантов (например, a_1 или a_2) имеет повреждение какого-то определенного домена в пределах полипептидной цепи. Сочетание двух мутантных белков, имеющих повреждения в различных доменах, может привести к взаимной компенсации поврежденных участков. При этом восстановление ферментативной активности у таких комплексов не превышает, как правило, 20 – 30 % от уровня, характерного для гомозигот дикого типа (АА). Однако этого бывает достаточно для проявления нормального фенотипа.

Рассмотрим пример:

d_1d_1 – мутация полипептида А – неполноценный белок.

d_2d_2 – мутация полипептида В – неполноценный белок.

Но! при генотипе d_1d_2 будут синтезироваться оба полипептида и нормальный белок.

6. Аллельное исключение (рис. 6.9).

В данном случае межаллельного взаимодействия в разных клетках у одной особи проявляются разные аллели. Например, при инактивации одной из аллелей Х-хромосомы в результате у женщин на некоторых участках кожи отсутствуют потовые железы: Х – нормальное развитие потовых желез; Х* - мутация Х-хромосомы, приводящая к отсутствию потовых желез. Тогда в части клеток, где инактивируется нормальная Х-хромосома, потовые железы будут отсутствовать: Х*х - отсутствие потовых желез. А в тех клетках, где будет инактивироваться мутантная хромосома Х*, потовые железы будут функционировать нормально: х*Х – норма.

Формирование сложных признаков предполагает необходимость взаимодействия неаллельных генов, т.е. аллелей, расположенных в разных хромосомах.

ВИДЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕАЛЛЕЛЬНЫХ ГЕНОВ

Выделяют три типа взаимодействия неаллельных генов: комплементарность, эпистаз и полимерия.

Комплементарность – это вид взаимодействия неаллельных генов, когда при одновременном присутствии в генотипе особи доминантных аллелей разных генов формируется новый признак.

Варианты расщеплений по фенотипу во втором поколении при комплементарном взаимодействи неаллелельных генов.

1. *Вариант расщепления 9 : 3 : 3 : 1*. Каждый доминантный аллель имеет свое проявление, тогда как два доминантных аллеля в сочетании формируют новый признак. Примером является формирования разных форм гребней у кур и петухов. Аллель *P* контролирует развитие гороховидного гребня у петухов (генотип *P_rr*), аллель *R* – розовидного (генотип *ppR_*), при отсутствии доминантных аллелей развивается простой (листовидный) гребень (генотип *pprr*), при наличии обоих доминантных аллелей формируется ореховидный гребень (генотип *P_R_*).

2. *Вариант расщепления 9 : 3 : 4.* Примером является наследование окраски шерсти у мышей (серый, черный, белый). Доминантный аллель (*C*) контролирует синтез черного пигмента, рецессивный аллель этого гена (*c*) не синтезирует черный пигмент (мыши белые), доминантный аллель (*B*) неаллельного гена обусловливает зональное распределение этого черного пигмента по волоску (на кончике и у основания волоска), поэтому при генотипе *C_B_* – мыши серые, рецессивный аллель этого гена (*b*) обусловливает равномерное распределение пигмента по волоску, следовательно при генотипе *C_bb* мыши будут черными. При генотипах *ccB_* и *ccbb* мыши белые.

3. *Вариант расщепления 9 : 6 : 1.* Примером является формирование формы плодов тыквы (округлая, дисковидная, удлиненная формы). При наличии в генотипе тыквы доминантных аллелей разных генов форма

тыквы дисковидная (генотип *A_B_)*, при наличии доминантного аллеля одного из генов формируется округлая форма тыквы (генотипы *A_bb* или *aaB_*), при рецессивном гомозиготном генотипе (*aabb*) – удлиненная форма тыквы.

4. *Вариант расщепления 9 : 7.* Например, формирование слуха у человека обусловлено наличием в генотипе доминантных аллелей разных генов (*D* – развитее улитки и *E* – развитие слухового нерва), а при отсутствии в генотипе одного из этих доминантных аллелей (генотипы *D_ee* и *ddE_*) и при рецессивном гомозиготном генотипе (*aabb*) наблюдается глухонемота.

Эпистаз – это вид взаимодействия аллелей разных генов, характеризующийся подавлением проявления признака в присутствии супрессора. Различают доминантный и рецессивный эпистаз.

При *доминантном эпистазе* доминантный аллель одного гена (эпистатического) подавляет проявление доминантного аллеля другого гена (гипостатического). Допустим, что при наличии аллеля А образуется фермент, разрушающий пигмент, синтезированный аллелем другого гена В. Тогда при сочетании А_В_ признак не формируется.

Варианты расщеплений по фенотипу во втором поколении при доминантном эпистазе.

1. *Вариант расщепления 13 : 3.* Примером является наследование окраски оперения у кур. Доминантный аллель (*C*) гена детерминирует пигментацию оперения у кур, рецессивный аллель (*c*) не дает пигментацию. Доминантный аллель (*I*) неаллельного гена является супрессором, т.е. подавляет действие аллеля *C*, рецессивный аллель (*i*) – нейтральный. Поэтому куры с генотипами *C_I_, ccI_ и ccii* будут белыми, пигментация оперения наблюдается при генотипах *C_ii*.

2. *Вариант расщепления 12 : 3 : 1.* В качестве примера доминантного эпистаза можно рассмотреть наследование масти лошадей. Если *C* – серая масть (супрессор), *B* – черная, то лошади с генотипами *C_B_, C_bb* будут серыми, черная масть формируется при генотипах *ccB_,* при рецессивном гомозиготном генотипе (*ccbb*) лошади будут рыжими.

При *рецессивном эпистазе* рецессивные аллели одного гена, будучи в гомозиготном состоянии, подавляют доминантный аллель другого гена. Примером рецессивного эпистаза у человека может служить, так называемый, бомбейский феномен, когда индивид, имеющий доминантный аллель группы крови системы АВО (например, I^A или I^B), идентифицируется как человек с I группой. Это обусловлено эпистатическим действием рецессивных аллелей *hh* аутосомного гена-супрессора, которые подавляют развитие антигенов групп крови. В этом случае, например, особи с генотипом $I^A I^0 hh$ будут иметь I группу крови.

Отсутствие необходимых данных о роли первичных продуктов многих генов в формировании сложных признаков часто не позволяет точно установить характер взаимодействия неаллельных локусов, участвующих в биохимических процессах и составляющих основу образованиях этих признаков. В одних случаях развитие признака при наличии двух аллелей разных генов в доминантном состоянии рассматривают как комплементарное взаимодействие, в других – отсутствие признака, определяемого одним из аллелей при отсутствии другого аллеля в доминантном состоянии, расценивают как рецессивный эпистаз; если же признак развивается при отсутствии доминантного аллеля неаллельного гена, а в его присутствии не развивается, говорят о доминантном эпистазе. С этой точки зрения разделение взаимодействия аллелей на комплементарное и эпистатическое несколько искусственно, ибо во всех этих случаях сложный признак является результатом сочетания в генотипе определенных аллелей соответствующих генов, которые обеспечивают синтез продуктов, участвующих в цепи биохимических преобразований на разных уровнях формирования сложного признака.

Полимерия – это вид взаимодействия неаллельных генов, при котором доминантные аллели разных генов отвечают за проявления одного и того же признака.

Полимерное взаимодействие может быть *качественным – некумулятивная полимерия* (наличие хотя бы одного доминантного аллеля приводит к формированию признака), или *количественным – кумулятивная по-*

лимерия (степень проявления признака зависит от количества доминантных аллелей).

По типу кумулятивной полимерии у человека наследуется интенсивность пигментации кожи: степень пигментации прямо пропорциональна количеству меланина и количеству доминантных аллелей. Четыре пары доминантных аллелей – генотип $A_1A_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4$, обусловливают черный цвет кожи; четыре доминантных аллеля – темно-коричневый; три доминантных аллеля – коричневый; два и один доминантных аллеля – смуглый; отсутствие доминантных аллелей $a_1a_1a_2a_2\ a_3a_3a_4a_4$ – светлая окраска кожи). Кумулятивная полимерия лежит в основе определения количественных признаков (рост, масса, возможно, уровень развития интеллекта).

Расщепление по фенотипу при полимерном взаимодействии генов во втором поколении F_2 дигибридного скрещивания выражается как 15 : 1. Такой тип расщепления соответствует проявлению признака даже при наличии хотя бы одного доминантного аллеля (15 частей), тогда как при отсутствии доминантных аллелей признак не проявляется (1 часть с гомозиготным по рецессивным аллелям генотипом $a_1a_1a_2a_{2...}$).

Особый вид представляет взаимодействие, обусловленное местом положения гена в системе генотипа – ***эффект положения.*** Непосредственное окружение, в котором находится ген, может сказываться на характере его экспрессии. Изменение активности гена, наблюдаемое при хромосомных перестройках, нередко связано с перемещением его в другую группу сцепления при транслокациях или изменением его положения в своей хромосоме при инверсиях. Особый случай, очевидно, представляет изменение экспрессии генов в результате деятельности подвижных генетических элементов, активирующих или угнетающих проявление генов, вблизи которых они встраиваются.

Наконец, большое значение в объединении генов в единую систему генотипа имеют *регуляторные взаимодействия***,** обеспечивающие регуляцию генной активности. Продукты генов-регуляторов – белки-регуляторы – обладают способностью узнавать определенные последовательности

ДНК, соединяться с ними, обеспечивая, таким образом, транскрибирование информации со структурных генов или препятствуя транскрипции.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ:

1. Перечислите основные этапы развития генетики в доменделевский и менделевский период.
2. Почему законы Менделя называются законами независимого наследования признаков?
3. Охарактеризуйте и поясните на примерах 1, 2 и 3 законы Менделя.
4. Назовите основные виды взаимодействия аллельных и неаллельных генов.
5. Что такое анализирующее скрещивание?
6. Дайте определение множественному аллелизму.
7. Что такое плейотропное действие генов?

Лекция 7

ОСНОВНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ. ГЕНЕТИКА ПОЛА

ПЛАН ЛЕКЦИИ:

1. **СЦЕПЛЕННОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ ГЕНОВ И ПРИЗНАКОВ. КРОССИНГОВЕР КАК МЕХАНИЗМ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ НАРУШЕНИЕ СЦЕПЛЕНИЯ ГЕНОВ**
2. **ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ХРОМОСОМНОЙ ТЕОРИИ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ (ХТН)**
3. **ГЕННЫЕ КАРТЫ ХРОМОСОМ**
4. **ГЕНЕТИКА ПОЛА**
5. **ОСНОВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛА**
6. **ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ПОЛА В ПРОЦЕССЕ РАЗВИТИЯ ЧЕЛОВЕКА**
7. **СООТНОШЕНИЕ ПОЛОВ У ЧЕЛОВЕКА**
8. **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ**

СЦЕПЛЕННОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ ГЕНОВ И ПРИЗНАКОВ. КРОССИНГОВЕР КАК МЕХАНИЗМ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ НАРУШЕНИЕ СЦЕПЛЕНИЯ ГЕНОВ

При изучении закономерностей наследования, открытых Менделем, мы подчеркивали, что гены находятся в разных хромосомах и наследуются независимо. Но генов и признаков в организме намного больше, чем число хромосом. Так, у человека 23 пары хромосом, но генов около 30 тысяч. Следовательно, в каждой хромосоме находятся тысячи разных генов. Как же наследуются гены, находящиеся в одной хромосоме?

Закономерности сцепленного наследования генов были изучены в 20-х годах XX в. школой Т.Моргана на мушках дрозофилах. У дрозофилы 8 хромосом (6 аутосом и 2 половые хромосомы: XY – у самцов, XX – у самок).

Морган изучал следующие признаки:

B – серая окраска тела

b – черная окраска тела

V – длинные крылья

v – зачаточные крылья.

При скрещивании гомозиготной доминантной особи с гомозиготной рецессивной особью в первом поколении все гибриды имели одинаковые признаки (единообразие гибридов I поколения), а именно, все мухи были серые с длинными крыльями, что соответствовало законам Менделя. Однако при скрещивании двух дигетерозиготных особей Морган наблюдал существенное отклонение от 3 закона Менделя независимого наследования и комбинирования признаков и не получил расщепления 9:3:3:1. Для того, чтобы выяснить причину этого, Морган провел анализирующее скрещивание гетерозиготной особи с рецессивной гомозиготной особью. Согласно законам Менделя в этом случае при независимом наследовании признаков ожидалось получить 4 разных особи с равными частотами – расщепление 1:1:1:1. Но, вопреки ожиданию, при скрещивании гетерозиготных самцов дрозофилы с рецессивными самками расщепление оказалось равным 1:1, т.е. имелось всего 2 варианта с равной частотой (50% и 50%) (рис. 7.1-А). Причиной этого могло быть только полное сцепление генов, когда они наследуются в паре, как один ген. Действительно, у самцов дрозофилы сцепление генов всегда полное, т.к. кроссинговер (обмен гомологичными участками) не происходит.

При скрещивании гетерозиготной самки с рецессивным самцом в потомстве получили все ожидаемые 4 варианта, при этом родительские формы существенно преобладали по частоте: (41,5%: 41,5%: 8,5%: 8,5%) (рис. 7.1-Б). В данном случае преобладание исходных родительских форм указывает на то, что гены BV и bv действительно сцеплены. С другой стороны, появление генетической рекомбинации и новых форм (серое тело и короткие крылья, черное тело и длинные крылья) говорит о том, что в этих случаях произошел разрыв сцепления. Это является результатом коньюгации хромосом во время профазы I мейоза и обмена участками между гомо-

логичными хромосомами, т.е. кроссинговера.

В результате кроссинговера с более высокой частотой образуются некроссоверные гаметы и реже – кроссоверные гаметы. В нашем примере некроссоверные гаметы – *BV* и *bv* (83%), кроссоверные гаметы – *Bv* и *bV* (17%).

На основании результатов своих опытов Морган и его ученики пришли к заключению, что гены находятся в хромосомах и сформулировали *хромосомную теорию наследственности*.

Основные положения хромосомной теории наследственности:

1. Гены находятся в хромосомах. Каждая хромосома представляет собой группу сцепления генов. Число групп сцепления у каждого вида равно гаплоидному числу хромосом.

2. Каждый ген в хромосоме занимает определенное место (локус). Гены в хромосомах расположены линейно.

3. Между гомологичными хромосомами может происходить обмен аллельными генами (кроссинговер), приводящий к рекомбинации генов.

4. Расстояние между генами в хромосоме пропорционально проценту кроссинговера между ними.

Значение хромосомной теории наследственности:

1. Было установлено, что материальные носители наследственной информации – гены – расположены в хромосомах.

2. Начались интенсивные исследования на клеточном уровне.

3. Были составлены генные карты хромосом.

Согласно 1 и 2 положениям хромосомной теории наследственности гены, локализованные в одной хромосоме, наследуются сцепленно и образуют группу сцепления. Число групп сцепления равно гаплоидному числу хромосом. У человека у женщин 23 группы сцепления (22 пары аутосом + X-хромосомы), у мужчин – 24 группы сцепления (22 пары аутосом + X + Y).

Согласно последнему положению хромосомной теории наследственности частота генетической рекомбинации (обозначается греческой буквой θ (тетта)) выражается отношением числа кроссоверных гамет к общему числу особей и характеризует расстояние между генами.

Расстояние между генами выражается в % кроссинговера или в морганидах (М):

1%=1 М = 1 сМ (сантиморганид) = 1 млн пар оснований

Чем ближе располагаются два гена, тем меньше вероятность кроссинговера между ними. При сцепленном наследовании расстояние между генами можно установить по проценту кроссоверных особей, полученных при анализирующем скрещивании. В нашем примере расстояние между генами B и V равно 8,5%+8,5%=17%=17М. Если расстояние между генами более 50% кроссинговера, то они наследуются как несцепленные гены.

Кроссинговер имеет важное значение для эволюции, поскольку в результате перекреста «полезные» для организма аллели могут быть отделены от «вредных», следовательно, могут возникнуть более выгодные для существования вида комбинации. Это имеет существенное значение для прогрессивной эволюции и адаптации.

Существование кроссинговера позволило школе Т.Моргана разработать в 1911 – 1914 гг. принцип построения генных карт хромосом, т.е. схемы взаимного расположения генов в одной группе сцепления. В основу этого принципа положено представление о расположении генов по длине хромосомы в линейном порядке.

ГЕННЫЕ КАРТЫ ХРОМОСОМ

Генные карты были составлены при использовании гибридологического метода анализирующим скрещиванием. Для их составления применяют метод «трех точек» по анализу результатов трех анализирующих скрещиваний (рис. 7.2). В качестве примера рассмотрим определение мест локализации генов A, B и C, относящихся к одной группе сцепления.

1. Определяем расстояние между генами A и B путем скрещивания *AaBb* x *aabb*. Получили некроссоверных особей *AaBb* и *aabb* – 85%, кроссоверных – *Aabb* и *aaBb* – 15%. Следовательно, расстояние между A и B равно 15% кроссинговера.

2. Определяем расстояние между генами B и C путем скрещивания *BbCc* x bb*cc*. Пусть оно равно 7% кроссинговера.

3. Определяем расстояние между генами А и С путем скрещивания *AaCc* x *aacc*.

Если расстояние между генами А и С равно 8% кроссинговера, то схема взаимного расположения генов выглядит так:

A____8%__C__7%__B.

15% (между А и В)

Если расстояние между генами А и С будет равно 22%, то схема взаимного расположения генов выглядит по-другому:

A____15%__B__7%__C.

22% (между *A* и *C*)

ГЕНЕТИКА ПОЛА

Пол – это важная фенотипическая характеристика особи, включающая совокупность морфологических, физиологических, биохимических, поведенческих признаков организма, обеспечивающих воспроизведение потомства и передачу ему наследственной информации. Признаки пола присущи всем живым организмам, даже самым простейшим (бактерии имеют признаки пола).

Признаки пола подразделяются на две группы: первичные (наружные и внутренние органы размножения) и вторичные (особенности телосложения, тембр голоса, развитие волосяного покрова и т.д.).

Важным доказательством того, что пол определяется наследственными факторами, является наблюдаемое у большинства видов соотношение 1:1, что может быть обусловлено образованием двух видов гамет у представителей гетерогаметного пола и одного вида гамет – у другого пола.

У человека две половые хромосомы – X и Y, гетерогаметным является мужской пол – XY, гомогаметным – женский – XX.

Морфология половых хромосом человека

По морфологии в половых хромосомах человека можно выделить псевдоаутосомные регионы (PAR) 1 и 2. По этим участкам происходит коньюгация половых хромосом у особей мужского пола, содержащего гетерохромосомы (X и Y).

С X-хромосомой сцеплено около 400 генов, в том числе гены, детерминирующие развитие женских половых признаков, гены гемофилии, дальтонизма, мышечной дистрофии и т.д. (рис. 7.3-А).

С Y-хромосомой сцеплено несколько десятков генов, в том числе ген SRY (sex region Y-chromosome), детерминирующий развитие мужских половых признаков, гены, детерминирующие развитие ихтиоза, гипертрихоза, перепонок между пальцами ног (рис. 6.3-Б). Большая часть Y хромосомы представлена высоко конденсированными участками, содержащими большое количество повторяющихся последовательностей, что препятствует кроссинговеру между X и Y хромосомами.

Признаки, которые наследуются через Y-хромосому, называются *голандрическими*. Они проявляются только у лиц мужского пола и передаются только по мужской линии.

Признаки, которые наследуются через X-хромосому, называются сцепленными с X-хромосомой. Они встречаются как у женщин, так и у мужчин. При этом женщины могут быть как гомозиготными, так и гетерозиготными по генам, локализованным в X-хромосоме. Рецессивные аллели у женщин проявляются только в гомозиготном состоянии, но у мужчин рецессивные гены проявляются всегда, т.к. находятся в гемизиготном состоянии и не имеют аллельных генов в гомологичной хромосоме. Классическим примером такого наследования является гемофилия А – заболевание, характеризующееся нарушением свертывания крови и кровоточивостью. Поскольку в данном случае матери-носители мутантного рецессивного гена передают болезнь своим сыновьям, то такое наследование называется крест-накрест.

ОСНОВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛА

1. ***Прогамная детерминация пола*** происходит в процессе созревания яйцеклеток и обусловлена неравномерным распределением цитоплазмы при формировании овоцитов: формируются большие и малые овоциты, имеющие одинаковый набор хромосом. После оплодотворения из больших овоцитов развиваются самки, из малых – самцы. Такой тип детерминации характерен для первичных кольчецов, тлей, коловраток.

Коловратки образуют яйцеклетки двух сортов: крупные, с двумя наборами хромосом (диплоидные) и большим объёмом цитоплазмы и мелкие, с одним набором хромосом – гаплоидные. Из гаплоидных неоплодотворённых яиц развиваются гаплоидные самцы, продуцирующие гаплоидные гаметы. Если теперь гаплоидный самец оплодотворит гаплоидное яйцо, то разовьётся самка. Из крупных диплоидных яиц также развиваются самки, но в этом случае они появляются не в результате оплодотворения, а партеногенетически, то есть без оплодотворения. Таким образом, пол особи, развивающейся из диплоидного яйца, определяется ещё на стадии формирования яйцеклетки (на этом этапе закладывается её диплоидность), а пол особи, развивающейся из мелкого яйца, зависит от того, будет оно оплодотворено или нет.

2. ***Сингамная детерминация пола*** характеризуется тем, что пол определяется в момент оплодотворения. Данный тип характерен для большинства млекопитающих и человека. Пол наследуется как обычный менделирующий признак (т.е. в соответствии с законами Менделя) с вероятностью 50% для обоих полов.

3. ***Эпигамная детерминация пола***. Пол определяется после оплодотворения и зависит от факторов внешней среды. Классическим примером эпигамного определения пола является морской червь Bonellia viridis. Самки крупные, достигают длины 7-10 см и имеют хоботок длинной до 1 м. Самцы мелкие (около 3 мм), ведут паразитический образ жизни на хоботке самки. В том случае, если личинка окажется на хоботке самки, под влиянием гормонов из зиготы могут развиваться самцы. Но если личинка будет развиваться вдали от самки, то из нее сформируется самка.

4. ***Эусингамная детерминация пола*** – гаплодиплоидный тип определения пола. Характерен для особей, размножающихся партеногенетически. Так, у пчел особи женского пола развиваются из оплодотворенных диплоидных яиц, мужского – из неоплодотворенных (гаплоидных).

У некоторых видов в ходе обычного онтогенеза при определенных условиях происходит ***естественное переопределение пола***. В Тихом океане обитают сельдевые рыбки вида Labroides dimidiatus, живущие стайками из множества самок и одного самца. Все самки постоянно пребывают в состоянии стресса, источником которого является самец. При этом уровень напряженности между самками различается, так, что можно выделить альфа, бетта, гамма-самок и т.д. В случае гибели самца альфа-самка (главная самка) сбрасывает напряжение и превращается в полноценного самца. Такое переопределение пола зависит от уровня в организме гормонов, выделяемых клетками надпочечников. У некоторых рептилий, таких как черепахи и крокодилы, детерминирующим фактором служит температура в определенный период развития яйца. Так, у каймановой черепахи при температуре ниже $+27^0$С из яиц развиваются самцы, при температуре выше $+30^0$С – самки.

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ПОЛА В ПРОЦЕССЕ РАЗВИТИЯ ЧЕЛОВЕКА

Процесс первичной дифференцировки пола у человека связан с периодом эмбрионального развития. Пол будущего ребенка определяется в момент оплодотворения и зависит от сочетания половых хромосом (сингамное определение пола). Формирование закладок половых желез происходит до 4-й недели эмбрионального развития и обеспечивается только Х-хромосомой. Поэтому первичные гонады – половые железы – бисексуальны, т.е. состоят из одинаковых зачатков независимо от пола будущего организма (рис. 7.4).

Основная дифференцировка закладок в половые железы и половые органы у эмбриона человека происходит на 4-12 неделе эмбрионального

развития. На этом этапе она полностью зависит от второй половой хромосомы. При наличии Y-хромосомы и гена SRY формируются семенники, которые начинают продуцировать тестостерон, определяющий дифференцировку внутренних наружных половых органов по мужскому типу. Если Y-хромосомы нет, то экспрессируются гены X хромосомы и первичные гонады дифференцируются в яичники, формируются женские внутренние и наружные половые органы.

Признаки полового диморфизма (т.е. фенотипические различия между самками и самцами) принято делить на первичные и вторичные. К первичным половым признакам относятся наружные и внутренние половые органы, сформированные к моменту рождения. Ко вторичным половым признакам относятся признаки, формирующиеся в период полового созревания, когда гонады начинают продуцировать половые гормоны. Так, у мужчин под влиянием тестостерона начинается сперматогенез и формируются мужские вторичные половые признаки: увеличиваются размеры наружных половых органов, появляется вторичное оволосение по мужскому типу, происходит специфическое развитие скелета и мышц, удлиняются голосовые связки. Под влиянием женских половых гормонов (эстроген и прогестерон) начинается овогенез, формируются женские вторичные половые признаки: появляются менструации, формируется вторичное оволосение по женскому типу, происходит рост молочных желез, увеличиваются жировые отложения.

Развитие вторичных половых признаков контролируется мужскими и женскими половыми гормонами. У женщин при наличии клеточных рецепторов к эстрогенам гормоны проникают в специфические клетки органов-мишеней (например, молочных желез), где выступают в роли индукторов экспрессии генов, контролирующих пролиферацию клеток и разрастание ткани. У мужчин при наличии рецепторов к тестостерону гормон проникает в клетки органов-мишеней (например, голосовые связки), где индуцирует экспрессию генов, контролирующих пролиферацию этой ткани.

В ряде случаев у человека наблюдается нарушение половой дифференцировки. Примером может служить *синдром Морриса (синдром тести-*

кулярной феминизации) - проявление женского фенотипа при мужском генотипе 46, XY (рис. 7.5). Причина развития данного синдрома заключается в следующем. Гены Y-хромосомы определяют дифференцировку половых желез по мужскому типу и синтез этими железами гормона тестостерона. Однако для проникновения тестостерона в клетки органов-мишеней необходим белок-рецептор, который является продуктом другого гена, расположенного в X-хромосоме. В случае мутации гена-рецептора клетки становятся невосприимчивыми к действию тестостерона. В результате у особей с мужским генотипом XY ген SRY стимулирует дифференцировку семенников, которые начинают вырабатывать тестостерон. Однако клетки не восприимчивы к данному гормону, поэтому наружные половые органы дифференцируются по женскому типу. У больных с синдромом Морриса яички могут располагаться внутрибрюшинно, в паховом канале, или в половых губах. Такие индивиды бесплодны, но по телосложению, психосексуальной ориентации и другим вторичным половым признакам более схожи с женщинами. Больным с синдромом Морриса эффективно назначение ранней заместительной гормональной терапии.

СООТНОШЕНИЕ ПОЛОВ У ЧЕЛОВЕКА

Теоретически соотношение полов у человека должно быть 1:1 (50%:50%), т.к. встреча яйцеклетки со сперматозоидом, содержащим X или Y хромосому равновероятна. Однако при обследовании у человека установлено, что на 100 женских зигот образуется 140-160 мужских. Это первичное соотношение полов (рис. 7.6).

К моменту рождения на 100 девочек приходится 103-105 мальчиков – это вторичное соотношение полов.

К 20-ти годам соотношение уравнивается - на 100 девушек приходится 100 юношей. Это третичное соотношение полов.

К 50-ти годам = 100 жен. : 85 муж.

К 85 годам = 100 жен. : 50 муж.

Долгожители = 100 жен. : 21 муж.

Отсюда следует вывод о большей жизнеспособности женского орга-

низма. Причина этого феномена до сих пор не ясна. Существует множество гипотез и предположений. Одной из причин наблюдаемой диспропорции может быть то, что у женских организмов, в отличие от мужских, гены Х-хромосомы присутствуют в двойной дозе, поэтому гетерозиготные по возможным мутациям аллели у женщин не проявляются.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ:

1. Кто разработал основные положения сцепленного наследования?
2. В чем заключается сущность экспериментов Т.Моргана?
3. Что такое кроссинговер?
4. Перечислите и охарактеризуйте основные положения хромосомной теории наследственности.
5. Как составляются генные карты хромосом
6. Перечислите основные механизмы определения пола
7. Как происходит дифференцировка пола в процессе развития человека
8. Как меняется соотношение полов у человека в разные возрастные периоды?

Лекция 8

ФОРМЫ ИЗМЕНЧИВОСТИ. МОДИФИКАЦИОННАЯ И ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ

ПЛАН ЛЕКЦИИ:

1. **РОЛЬ НАСЛЕДСТВЕННЫХ И СРЕДОВЫХ ФАКТОРОВ В ФОРМИРОВАНИИ ФЕНОТИПА**
2. **МОДИФИКАЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ.**
3. **НОРМА РЕАКЦИИ ПРИЗНАКА. ЭКСПРЕССИВНОСТЬ И ПЕНЕТРАНТНОСТЬ.**
4. **ФЕНОКОПИИ И ГЕНОКОПИИ**
5. **ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ**
6. **МУТАГЕННЫЕ ФАКТОРЫ**
7. **ГЕННЫЕ МУТАЦИИ**
8. **ХРОМОСОМНЫЕ МУТАЦИИ**
9. **ХРОМОСОМНЫЕ БОЛЕЗНИ ЧЕЛОВЕКА**
10. **ГЕНОМНЫЕ МУТАЦИИ**
11. **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ**

РОЛЬ НАСЛЕДСТВЕННЫХ И СРЕДОВЫХ ФАКТОРОВ В ФОРМИРОВАНИИ ФЕНОТИПА

Генетика изучает не только наследственность, но и изменчивость организмов. Изменчивостью называют способность живых организмов приобретать новые признаки и свойства. Благодаря изменчивости, организмы могут приспосабливаться к изменяющимся условиям среды обитания. Различают два типа изменчивости: *ненаследственную*, или модификационную, т.е. изменчивость, при которой изменений генотипа не происходит, и *наследственную*, или генотипическую.

МОДИФИКАЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ

Каждый организм развивается и обитает в определенной среде, ис-

пытывая на себе действие ее факторов, способных изменять морфологические и физиологические свойства организмов, т.е. их фенотип. Напомним, что *фенотип* – это совокупность всех признаков и свойств организма, реализуемых в определенных условиях среды. Изменчивость организмов, возникающая под влиянием факторов внешней среды и не затрагивающая генотипа, называется модификационной. Фенотипические изменения, вызываемые факторами окружающей среды, называются модификациями.

Основные свойства модификационной изменчивости

1. Модификационная изменчивость называется фенотипической, так как под влиянием внешней среды происходит изменение фенотипа, генотип остается неизменным, модификации ***не наследуются***. Классическим примером изменчивости признаков под действием факторов внешней среды является разнолистность у стрелолиста: погруженные в воду листья имеют лентовидную форму, листья, плавающие на поверхности воды - округлую, а находящиеся в воздушной среде - стреловидные. Если же все растение оказывается полностью погруженным в воду, его листья только лентовидные.

Под действием ультрафиолетовых лучей у людей (если они не альбиносы) возникает загар в результате накопления в коже меланина, причем у разных людей интенсивность окраски кожи различна. Если же человек лишен действия ультрафиолетовых лучей, изменение окраски кожи у него не происходит. Даже организмы, имеющие один и тот же генотип, могут существенно отличаться друг от друга в зависимости от условий развития и существования (например, однояйцевые близнецы). Все это заставляет рассматривать развитие организма как следствие взаимодействия двух важнейших факторов – реализации генетической программы и влияния факторов среды. Другими словами, генетическая информация определяет возможность развития свойств и признаков организма, которые реализуются в конкретных условиях среды.

2. Модификационная изменчивость ***носит групповой или массовый характер***, то есть все особи одного вида, помещенные в одинаковые условия, приобретают сходные признаки. Например, если сосуд с эвглена-

ми зелеными поместить в темноту, то все они утратят зеленую окраску, если же вновь выставить на свет - все опять станут зелеными. Загар под влиянием ультрафиолета образуется у всех людей. На холоде сосуды сужаются, на коже появляются «мурашки».

3. Модификационная изменчивость ***является определенной***, т.е. всегда соответствует факторам, которые ее вызывают. Так, ультрафиолетовые лучи изменяют окраску кожи человека (так как усиливается синтез пигмента), но не изменяют пропорций тела, а усиленные физические нагрузки влияют на степень развития мышц, а не на цвет кожи. Т.о. модификационные изменения адекватны воздействиям окружающей среды, т.е. имеют приспособительное значение для адаптации организма к условиям среды.

4. Большинство модификаций ***являются кратковременными***, т.е. исчезают при устранении фактора, вызывающего их. Если фактор, вызвавший данное изменение, перестает действовать, то изменение (например, загар, появляющийся под яркими лучами солнца) может исчезнуть.

5. Все модификации ***обусловлены генотипом***.

Возникновение модификаций связано с воздействием условий среды на ферментативные реакции, протекающие в организме:

Ген → белок → биохимическая реакция → признак

↑

Условия среды

Однако не следует забывать, что развитие любого признака определяется, прежде всего, генотипом. Вместе с тем, гены определяют возможность развития признака, а его появление и степень выраженности во многом определяется условиями среды. Так, зеленая окраска растений зависит не только от генов, контролирующих синтез хлорофилла, но и от наличия света. При отсутствии света хлорофилл не синтезируется.

Не все признаки могут меняться под влиянием условий среды. В зависимости от этого внешние признаки бывают *пластичными* (количественные признаки, такие как цвет кожи, вес, скорость ферментативных

реакций) и *непластичными* (качественные признаки: цвет волос, цвет глаз, рост, группа крови и т.д.).

Например, деревья различаются по высоте, размеру кроны и т. д. Это связано с тем, что растения со сходным генотипом развиваются в условиях разной влажности, освещенности, состава почвы. Все листья одного дерева имеют одинаковый генотип, однако они отличаются по фенотипу, например по размерам. Частота встречаемости листьев разного размера неодинакова. Как показали наблюдения, наиболее часто встречаются листья со средним выражением признака. Объясняется это тем, что листья развиваются в различных условиях. Мелкие листья формируются в неблагоприятных условиях, например при плохой освещенности и недостаточной влажности и т.д. Самые крупные листья развиваются в наиболее благоприятных условиях.

НОРМА РЕАКЦИИ ПРИЗНАКА. ЭКСПРЕССИВНОСТЬ И ПЕНЕТРАНТНОСТЬ

Несмотря на то, что под влиянием условий внешней среды пластичные признаки могут изменяться, эта изменчивость не беспредельна. Даже в случае нормального развития признака степень его выраженности различна. Так, на поле пшеницы можно обнаружить растения с крупными колосьями (20 см и более) и очень мелкими (3-4 см). Это объясняется тем, что генотип определяет определенные границы, в пределах которых может происходить изменение признака. *Степень варьирования признака, или пределы модификационной изменчивости, называются* ***нормой реакции***. Как правило, пластичные признаки имеют более широкую норму реакции, нежели качественные признаки. Чем шире норма реакции признака, тем больше у организма возможностей для приспособления к условиям среды обитания.

Учение о норме реакции имеет в виду, что хотя проявления генотипа зависят от условий среды, тем не менее, они происходят лишь в определенных пределах, ограниченных возможностями данного генотипа (т.е. норма реакции зависит от генотипа). Примером может служить опыт с чи-

стопородными крольчатами одного помета (генотип у всех одинаковый). Часть крольчат кормят обильно, другие получают минимальный рацион. Выросших животных различают по величине. Но как бы обильно не кормили кроликов I группы, они остаются не больше определенной величины. Напротив, как бы плохо не кормили кроликов II группы, если они выживут, они тоже будут не меньше определенной величины. Крайние величины роста и веса зависят от нормы реакции того генотипа, который получен от родителей. Это свойство используется, например, при отборе детей в группы волейбола или баскетбола, когда учитывают рост родителей.

Знание нормы реакции имеет большое значение для практики. Модификационная изменчивость многих признаков растений, животных и человека подчиняется общим закономерностям. Эти закономерности выявляются на основании анализа проявления признака у группы из *n* особей, которая называется *выборочной совокупностью*. Каждое конкретное значение изучаемого признака называют *вариантой* и обозначают буквой *v*. Частота встречаемости отдельных вариант обозначается буквой *p*. Количественные признаки можно измерить и построить *вариационный ряд*, в котором особи располагаются по возрастанию показателя изучаемого признака. На основании вариационного ряда строится *вариационная кривая* - графическое отображение частоты встречаемости каждой варианты (рис. 8.1).

Знание закономерностей модификационной изменчивости имеет большое практическое значение, поскольку позволяет предвидеть и заранее планировать степень выраженности многих признаков организмов в зависимости от условий внешней среды.

Итак, необходимо еще раз подчеркнуть:

- норма реакции организма определяется генотипом;
- различные признаки отличаются пределами изменчивости под влиянием внешних условий;
- модификационная изменчивость в естественных условиях носит приспособительный характер.

Таким образом, любой признак обусловлен генотипом, но его фено-

типическое проявление может изменяться под влиянием условий среды в пределах нормы реакции по этому признаку. *Степень фенотипического проявления признака при данном генотипе называется* ***экспрессивностью.***

Влияние средовых факторов на экспрессивность признака можно продемонстрировать на примере усиления пигментации кожи у человека при УФ-облучении. Другой пример – тяжесть течения (экспрессивность) большинства наследственных болезней, например, фенилкетонурии, существенно зависит от условий ухода за больным человеком. При адекватном лечении, хорошем питании и т.д. любая болезнь протекает более легко. Примером может служить легкое течение фенилкетонурии при своевременной постановке диагноза и применение безфенилаланиновой белковой пищи (экспрессивность признака снижена благодаря созданию определенных условий).

Следовательно, изменение условий среды может влиять на фенотип. Например, при соблюдении норм кормления и содержания животных можно увеличить их продуктивность, получить от них больше шерсти, мяса, молока. За счет дополнительного освещения растений в теплицах, улучшения минерального питания, водоснабжения можно повысить урожаи овощей.

Другим показателем фенотипического проявления является ***пенетрантность*** *– это частота фенотипического проявления признака при данном генотипе.* Пенетрантность – это процент особей, у которых генотип проявился в фенотипе, по отношению к общему числу особей, у которых данный генотип мог бы проявиться. Пенетрантность (Р) рассчитывается как отношение практической вероятности (ПВ) к теоретической вероятности (ТВ) и обычно выражается в процентах. Например, если из 100 человек с какой-то мутацией заболевание проявляется у всех 100, то пенетрантность равна 100% (Р=(генотип проявился/генотип имелся)*100%. В остальных случаях говорят о неполной пенетрантности и указывают ее процент Например, пенетрантность подагры для женщин – 0% (женщины не болеют), а для мужчин – 20% (т.е. из всех мужчин с наличием данного генотипа заболеют подагрой только 20%).

Термины «экспрессивность» и «пенетрантность» введены в 1927 г. советским ученым-генетиком Тимофеевым-Рессовским. Обе закономерности необходимо иметь в виду при изучении наследственности у человека. Следует помнить, что гены, контролирующие патологические признаки, могут иметь различную пенетрантность и экспрессивность, т.е. проявляться не у всех носителей аномального генотипа, а у болеющих степень тяжести болезни может быть различной в зависимости от условий.

Из рассмотренных примеров становится ясно, что экспрессивность и пенетрантность имеют большое значение для медицины, поскольку отягощенная наследственная предрасположенность не обязательно должна проявиться, что особенно характерно для многофакторных заболеваний, которых большинство. Значит, многие болезни можно либо предупредить, либо не допустить тяжелого течения заболевания. Это – первостепенная задача врачей. Т.о. наследственность и среда играют большую роль в патогенезе любого заболевания человека.

ФЕНОКОПИИ И ГЕНОКОПИИ

Под действием факторов внешней среды признак может меняться и копировать признаки, характерные для другого генотипа, что обозначается термином ***фенокопия***. Примером фенокопий являются врожденные пороки развития (ВПР).

В зависимости от причины возникновения все ВПР подразделяются на наследственные (45%) и экзогенные (55%). Наследственными называют пороки, вызванные изменением генов или хромосом в гаметах родителей, в результате чего зигота с самого возникновения несет мутацию. Генетические факторы начинают проявляться на определенных этапах эмбрионального развития путем нарушения биохимических, клеточных, тканевых и органных процессов.

Экзогенными называют пороки развития, возникшие под влиянием тератогенных факторов (от лат. Тератос – плод), которые действовали на плод во время эмбрионального развития и нарушали развитие органов и тканей. Такими факторами могут быть лекарства, пищевые добавки, виру-

сы, химические соединения, никотин, алкоголь и др. Выраженное тератогенное действие показано для вируса краснухи. Очень страшное событие произошло в 1959-1961 гг. в ряде стран Запада, когда после применения беременными женщинами талидомида (обезболивающий препарат) родилось несколько десятков тысяч детей с тяжелыми ВПР. (рис. 8.2).

Поскольку средовые экзогенные факторы, как и мутации, в конечном счете приводят к нарушению биохимических процессов, механизмы возникновения ВПР при действии тератогенных факторов такие же, как и при генетических нарушениях. В результате появляются дети со сходными фенотипическими проявлениями ВПР – фенокопии. Поэтому при рождении ребенка с ВПР без специальных исследований невозможно сразу установить истинную причину патологии.

Генокопии – это одинаковые фенотипические проявления мутаций разных генов. Примером генокопий могут служить различные виды гемофилии. Клинически гемофилия проявляется снижением свертываемости крови, но причиной этого могут быть мутации в разных генах (фактора VIII (гемофилия А) или фактора IX (гемофилия Б)). Другой пример – мышечная дистрофия Дюшенна и Беккера, которые обусловлены мутациями в разных генах, но клиническая картина заболеваний очень сходная.

ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ

Генотипическая (наследственная) изменчивость подразделяется на *комбинативную и мутационную.*

Комбинативная изменчивость

Комбинативная наследственная изменчивость обусловлена появлением новых комбинаций генов в генотипе дочернего организма. Разнообразные сочетания генов приводят к появлению у потомства новых фенотипов по сравнению с фенотипами обоих родителей.

Механизмы комбинативной изменчивости:

1) благодаря кроссинговеру происходит рекомбинация на уровне генов (отцовских и материнских) и образование качественно новых хромосом (рекомбинация генов в хромосомах);

2) в связи с независимым расхождением отцовских и материнских хромосом в анафазе 1 деления происходит рекомбинация на уровне целых хромосом (рекомбинация отцовских и материнских хромосом в гаметах). Благодаря такому механизму достигается большое число новых сочетаний наследственной информации.

3) независимое сочетание хромосом в зиготе при оплодотворении.

С комбинативной изменчивостью связано явление гетерозиса, т.е. повышенной гибридной силы, которое широко используется в сельском хозяйстве. Гетерозис наблюдается в первом поколении при гибридизации между разными сортами растений. У гибридов увеличивается рост, жизнестойкость, урожайность. Ярко выражен гетерозис у кукурузы. Гетерозис можно объяснить тем, что у гибридов увеличивается число доминантных генов, которые в сочетании друг с другом оказывают положительное влияние на проявление признаков (комплементарность, полимерное действие генов). Например, доминантные аллели разных генов А и В влияют на роста растения. При скрещивании родительских форм с генотипами Аавв и ааВВ появляются гибриды АаВв – более высокие и мощные.

Мутационная изменчивость

Мутацией (от лат. mutatio – перемена) называют внезапное, скачкообразное изменение генетического материала, возникающее спонтанно или под влиянием внешних воздействий на организм, передающееся по наследству. Термин “мутация” был впервые введен де Фризом.

Классификация мутаций

Мутации можно объединять, в группы-классифицировать по характеру проявления, по месту или, по уровню их возникновения. Мутации по характеру проявления бывают *доминантными и рецессивными*. Доминантные мутации проявляются в фенотипе в 1-м поколении. Если доминантные мутации неблагоприятные, то организмы могут оказаться нежизнеспособными или неплодовитыми. Такие мутации элиминируют. Большинство мутаций являются рецессивными, т.е. не проявляются у гетерозигот и способны накапливаться в поколениях, уклоняясь от действия естественного отбора.

Мутации нередко понижают жизнеспособность или плодовитость. Мутации, резко снижающие жизнеспособность, частично или полностью останавливающие развитие, называют *полулетальными* а несовместимые с жизнью — *летальными. Нейтральные* мутации формируют полиморфизмы – генетическое разнообразие индивидуумов. Примером нейтральных мутаций у человека могут быть разные группы крови, разный цвет волос или глаз. Многие нейтральные мутации затрагивают некодирующие участки генома и не проявляются фенотипически.

Бывают случаи, когда некоторые вредные рецессивные мутации могут оказаться полезными для организмов и гетерозиготные носители таких мутаций будут иметь преимущество при естественном отборе. Например, серповидно-клеточная анемия сопровождается изменением формы эритроцитов, в результате гетерозиготные носители мутации устойчивы к малярии.

Мутации подразделяют по месту их возникновения или по типу мутировавших клеток. Мутация, возникшая в половых клетках, не влияет на признаки данного организма, а проявляется только в следующем поколении. Такие мутации называют *генеративными.* Если изменяются гены в соматических клетках, такие мутации проявляются у данного организма и не передаются потомству при половом размножении. Такие мутации называют *соматическими.* Соматические мутации возникают очень часто и в большинстве случаев остаются незамеченными для организма. Но в некоторых случаях мутации соматических клеток дают начало злокачественной трансформации и развитию опухоли.

Процесс возникновения мутаций называют *мутагенезом*. Организм, который приобрел новый признак в результате мутации, называется *мутантом*.

Мутации характеризуются следующими свойствами:

1. Возникают внезапно, т.е. скачкообразно.
2. Мутации затрагивают гены, следовательно, они наследственны, т.е. передаются из поколения в поколение.
3. Ненаправлены, т.е. мутации могут возникать в любом локусе.
4. Одни и те же мутации могут возникать повторно в «горячих»

точках – нестабильных участках ДНК.

Факторы, способные вызывать мутации, называются мутагенными.

МУТАГЕННЫЕ ФАКТОРЫ (МУТАГЕНЫ)

По причинам возникновения мутации могут быть *спонтанными и индуцированными.* Индуцированные мутации возникают под действием мутагенных факторов, которые можно подразделить на 3 большие группы: физические, химические и биологические.

К ***физическим мутагенам*** относятся различные виды излучений, температура, влажность, шум, вибрация и т.д.

Механизм действия физических мутагенов:

1. Нарушение структуры генов и хромосом.
2. Образование сшивок – тиминовых димеров (рис. 8.3).
3. Образование свободных радикалов, которые вступают в химические взаимодействия с ДНК.
4. Разрыв нитей ахроматинового веретена деления.

К ***химическим мутагенам*** относятся:

а) природные органические и неорганические соединения (нитриты, нитраты, гормоны, алколоиды, бензол, фенол и т.д.)

б) продукты промышленной переработки природных соединений – угля, нефти (ароматические углеводороды, бензпирен и т.д.)

в) синтетические вещества, ранее не встречавшиеся в природе – ксенобиотики (пестициды, инсектициды, никотин, пищевые добавки, консерванты, лекарственные вещества и т.д.)

г) некоторые метаболиты организма человека (хлороформ – фосген, парацетамол – яд, повреждающий печень и почки и т.д.).

Механизм действия химических мутагенов:

1) дезаминирование;
2) алкилирование;
3) замены азотистых оснований;
4) угнетение синтеза нуклеиновых кислот.

Биологические мутагенные факторы – вирусы (встраиваются в

ДНК хозяина – человека), бактерии (продукты их метаболизма действуют как химические мутагены).

В соответствии с уровнями организации наследственного материала различают генные, хромосомные и геномные мутации:

Генные - изменения структуры генов – замены, делеции, инсерции, инверсии.

Хромосомные - изменения структуры хромосом – хромосомные аберрации; *Геномные* - изменения числа хромосом – полиплоидии и гетероплоидии.

ГЕННЫЕ МУТАЦИИ

К генным мутациям относятся изменения структуры гена, воспроизводимые в последовательных циклах репликации ДНК и передающиеся потомству в виде новых вариантов признаков. *Генные мутации* затрагивают структуру самого гена. Поскольку ген является элементарной единицей функции наследственного материала и отвечает за определенный признак, его изменения приводят к новым вариантам признака. Поэтому ген является элементарной единицей изменчивости.

Генные мутации характеризуются нарушением последовательности нуклеотидов в молекуле ДНК, что может быть связано с *заменой* одних нуклеотидов на другие (составляют 20% спонтанно возникающих генных нарушений), вставками в состав ДНК новых нуклеотидов (*инсерции*) или выпадением ряда нуклеотидов из ДНК (*делеции*), поворотом на 180^0 участка молекулы ДНК (*инверсии*) (рис. 8.4).

Таким образом, изменения структуры ДНК можно разделить на три группы: замены, мутации со сдвигом рамки считывания и инверсии.

1.Мутации по типу замены азотистых оснований:

- *Транзиция* – замена оснований пуринового на пуриновое, или пиримидинового на пиримидиновое: А ↔ Г, Ц↔ Т. При этом изменяется тот кодон, вкотором произошла транзиция.

- *Трансверзия* – замена пуринового основания на пиримидиновое или пиримидинового на пуриновое. Например: А ↔Ц, Г ↔ Т; изменяется

тот кодон, вкотором произошла трансверзия.

Эти мутации происходят в силу ряда конкретных причин. Одной из них может быть возникающее случайно или под влиянием конкретных химических агентов изменение структуры основания, уже включенного в спираль ДНК. Если такая измененная форма основания остается не замеченной ферментами репарации, то при ближайшем цикле репликации она может присоединять к себе другой нуклеотид. Примером может служить дезаминирование цитозина, превращающегося в урацил самопроизвольно или под влиянием азотистой кислоты. Образующийся при эт ом урацил, не замеченный ферментом ДНК-гликозилазой, при репликации соединяется с аденином, который впоследствии присоединяет тимидиловый нуклеотид. В результате пара Ц – Г замещается в ДНК парой Т – А. Дезаминирование метилированного цитозина превращает его в тимин. Тимидиловый нуклеотид, являясь естественным компонентом ДНК, не обнаруживается ферментами репарации как изменение и при следующей репликации присоединяет адениловый нуклеотид. В результате вместо пары Ц – Г в молекуле ДНК также появляется пара Т – А.

Другой причиной замены оснований может быть ошибочное включение в синтезируемую цепь ДНК нуклеотида, несущего химически измененную форму основания или его аналог. Если эта ошибка остается не замеченной ферментами репликации и репарации, измененное основание включается в процесс репликации, что нередко приводит к замене одной пары на другую. Примером этого может служить присоединение в ходе репликации к аденину материнской цепи нуклеотида с 5-бромурацила (5-БУ), аналогичного тимидиловому нуклеотиду. При последующей репликации 5-БУ охотнее присоединяет к себе не аденин, а гуанин. Гуанин в ходе дальнейшего удвоения образует комплементарную пару с цитозином. В итоге пара А – Т заменяется в молекуле ДНК парой Г – Ц.

Из приведенных примеров видно, что изменения структуры молекулы ДНК по типу замены оснований возникают либо до, либо в процессе репликации первоначально в одной полинуклеотидной цепи. Если такие изменения не исправляются в ходе репарации, то при последующей

репликации они становятся достоянием обеих цепей ДНК.

2. Мутации со сдвигом рамки считывания.

Этот тип мутаций составляет значительную долю спонтанных мутаций. Они происходят вследствие выпадения (*делеция*) или вставки (*инсерция*) в нуклеотидную последовательность ДНК одной или нескольких пар комплементарных нуклеотидов (рис. 8.4). Большая часть изученных мутаций, вызывающих сдвиг рамки, обнаружена в последовательностях, состоящих из одинаковых нуклеотидов.

Большое число мутаций по типу вставок происходит вследствие включения в последовательность нуклеотидов подвижных генетических элементов. *Подвижные генетические элементы* – это достаточно протяженные нуклеотидные последовательности, встроенные в геномы эу- и прокариотических клеток, способные самопроизвольно менять свое положение.

С определенной вероятностью инсерции и делеции могут возникать в результате ошибок рекомбинации при неравноценном внутригенном кроссинговере.

3. Мутации по типу инверсии нуклеотидных последовательностей в гене (внутригенная инверсия).

Данный тип мутаций происходит вследствие поворота участка ДНК на 180°. Обычно этому предшествует образование молекулой ДНК петли, в пределах которой репликация идет в направлении, обратном правильному. В пределах инвертированного участка нарушается считывание информации, в результате изменяется аминокислотная последовательность белка.

Следствием таких механизмов генных мутаций является образование нового триплета в нуклеотидной последовательности ДНК, кодирующей последовательность аминокислот в пептидной цепи (*мисценс-мутации*). Это может и не отразиться на структуре пептида в том случае, если новый триплет будет «синонимом» прежнего, т. е. будет кодировать ту же аминокислоту. Например, аминокислота *валин* шифруется четырьмя триплетами: CAA, CAG, CAT, CAC. Замена третьего основания в любом из этих триплетов не изменит его смысла (вырожденность генетического кода).

В том случае, когда вновь возникший триплет шифрует другую аминокислоту, изменяются структура пептидной цепи и свойства соответствующего белка. В зависимости от характера и места случившейся замены специфические свойства белка изменяются в разной степени. Известны случаи, когда замена лишь одной аминокислоты в пептиде существенно влияет на свойства белка, что проявляется в изменении более сложных признаков. Примером может служить изменение свойств гемоглобина человека при серповидно-клеточной анемии. В таком гемоглобине – (HbS) (в отличие от нормального HbA) – в β-цепях в шестом положении глутаминовая кислота заменена валином. Это является следствием замены одного из оснований в триплете, шифрующем *глутаминовую кислоту* (CTT или CTC). В результате появляется триплет, шифрующий *валин* (CAT или CAC). В данном случае замена одной аминокислоты в пептиде существенно изменяет свойства гемоглобина (снижается его способность связываться с O_2), у человека развиваются признаки серповидно-клеточной анемии.

В некоторых случаях генные мутации могут привести к появлению одного из *нонсенс-триплетов* (ATT, ATC, ACT или (UAA, UAG, UGA), не шифрующего никакой аминокислоты. Следствием такой замены будет прерывание синтеза пептидной цепи.

Таким образом, мутации могут возникать как в результате спонтанных изменений структуры основания в одной из цепей уже существующей двойной спирали ДНК, так и в ходе репликации во вновь синтезируемой цепи. В том случае, если эти изменения не исправляются в процессе репарации (или, наоборот, возникают в ходе репарации), они фиксируются в обеих цепях и далее будут воспроизводиться в следующих циклах репликации. Следовательно, важным источником возникновения таких мутаций являются нарушения процессов репликации и репарации.

В результате генных мутаций изменяется синтез соответствующих белков, что может привести либо к повышению активности, либо к ее потере, но может и не наблюдаться изменения признака. Большинство генных мутаций дают отрицательный эффект и обусловливают выпадение какой-либо ферментативной активности. Степень проявления дефекта может

быть различной. У диплоидов мутации возникают только в одном из двух аллелей, в результате чего возникают гетерозиготы, фенотип которых определяется взаимодействием аллелей.

В настоящее время известно, что ядерная ДНК передает не всю генетическую информацию. ДНК также содержится в митохондриях и пластидах, в частности в хлоропластах. Эти ДНК подвержены мутациям, которые приводят к изменениям последовательности аминокислот в структурных белках. Изменение признака может происходить и в цитоплазме клетки и передаваться дочерним (к примеру, передача каппа-частиц у инфузории туфельки при конъюгации). Передача информации через цитоплазму клетки называется цитоплазматической наследственностью. При помощи отводков и прививок удается сохранить возникшие изменения у растений и они оказываются стойкими, наследственными. Большинство мутаций рецессивны.

Частота возникновения отдельных спонтанных мутаций выражается числом гамет одного поколения, несущих определенную мутацию, по отношению к общему числу гамет. В природных условиях мутация каждого отдельного гена происходит очень редко. У организма имеется несколько тысяч генов, так что общее число мутаций оказывается значительным. Частоты, определенные для некоторых видов растений, животных и микроорганизмов, оказываются близкими по величине и составляют в среднем от 10^{-4} до 10^{-9} (т.е. от 1 из 100 тыс. или 1 из 10 млрд гамет несет вновь возникшую мутацию в определенном локусе). Частота мутаций для различных генов неодинакова: например, у отдельных генов растений она достигает 10^{-2}. Общая частота мутаций колеблется у разных видов организмов от нескольких процентов (одноклеточные водоросли, низшие грибы, бактерии) до 25% (дрозофила) всех гамет одного поколения. Такая частота мутаций свойственна спонтанным мутациям. Экспериментально частоту мутаций можно увеличить. В природных условиях мутации происходят при резких изменениях температуры, под влиянием ультрафиолетового излучения и по другим причинам. Однако в большинстве случаев истинные причины мутаций остаются неизвестными. В настоящее время разработа-

ны методы, позволяющие увеличить число мутаций искусственными средствами. Впервые резкое повышение числа возникающих наследственных изменений было получено под влиянием лучей Рентгена. В экспериментальных условиях число мутаций увеличивают за счет изменения температуры в пределах, переносимых организмом; при действии на репродуктивные клетки рядом химических веществ (например, пестицидов) и различных видов облучения (лучи Рентгена, электроны, ультрафиолетовые и гамма-лучи, нейтроны).

Поскольку большая часть ДНК в геноме человека представлена некодирующими последовательностями, то и большинство генных мутаций, которые затрагивают эти области, не имеют фенотипического проявления и являются нейтральными. В случае возникновения в генах последствия мутаций зависят от их локализации: экзонные мутации приводят к нарушению структуры иРНК и белка, интронные – часто являются нейтральными, но могут приводить к нарушению сплайсинга), промоторные – могут приводить к нарушению транскрипции.

Генные мутации приводят к появлению моногенных наследственных болезней, которые наследуются в соответствии с законами Менделя: рецессивные мутации достаются детям от двух здоровых родителей – гетерозиготных носителей. У человека известно около 10 тыс. заболеваний, обусловленных генными мутациями. В качестве примера на рис. 8.5 показаны возможные мутации в гене фанилаланингидроксилазы человека, которые приводят к нарушению функции соответствующего фермента и развитию у человека моногенного аутосомно-рецессивного наследственного заболевания – фенилкетонурии.

Популяции человека характеризуются определенной частотой и спектром различных мутаций. Это характеризует ***генетический груз*** популяции – т.е. часть наследственной изменчивости, характеризующуюся появлением менее приспособленных особей (больные наследственными заболеваниями или носители мутантных генов), которая при определенных условиях подвергается избирательному действию естественного отбора. По образному выражению академика Холдейна «Генетический груз – это

цена, которую вынуждена платить популяция за право эволюционировать». Естественно, генетический груз включает как уже циркулирующие в популяции мутации, передающиеся из поколения в поколения, так и новые мутации. По оценкам отечественных генетиков (Бочков Н.П., 1995) величина генетического груза в европейских популяциях и в России составляет 5,5%, из которых 1% - моногенные наследственные болезни, 0,5% - хромосомные болезни, 3-4% - многофакторные болезни с выраженным генетическим компонентом.

Важно отметить, что спектр и частоты различных мутаций, а также нейтральных полиморфизмов, характеризуются выраженной популяционной специфичностью. Т.е. они характерны для населения определенного региона или этноса и существенно отличаются от аналогичных характеристик в других географических регионах.

ХРОМОСОМНЫЕ МУТАЦИИ

К хромосомным мутациям относятся мутации, связанные с разрывами и последующими нарушением структуры хромосом. Разрывы хромосом происходят закономерно в ходе кроссинговера, когда происходит обмен соответствующими участками между гомологичными хромосомами. Нарушение кроссинговера, при котором хромосомы обмениваются неравноценным генетическим материалом, приводит к появлению новых групп сцепления, где отдельные участки выпадают или удваиваются. Кроме того, разрыва хромосом могут возникать под влиянием различных мутагенных факторов, главным образом физических (ионизирующего и других видов излучения), некоторых химических соединений, вирусов.

Различают следующие типы хромосомных нарушений: делеции (утрата части хромосомы), дупликации (удвоение участка хромосомы), транслокации (перестройки), инверсии (поворот участка хромосомы на 180°), инсерции (вставки) (рис. 8.6).

Хромосомные мутации могут быть внутрихромосомными и межхромосомными.

Внутрихромосомные мутации (хромосомные аберрации):

1. Делеция – выпадение части хромосомы. При делеции теломер обоих плеч хромосомы часто наблюдается слипание концов и замыкание оставшейся структуры в кольцо с образованием *кольцевых* хромосом. При выпадении центромерного участка образуются *децентрические* хромосомы.

2. Дупликация – удвоение участка хромосомы. Результатом дупликации во второй хромосоме мухи дрозофилы может служить появление полосковидных глаз.

3. Инверсия – поворот участка хромосомы на 180°. При этом наблюдается нарушение порядка расположения генов. В зависимости от того, включает ли данный участок область центромеры или нет, различают, соответственно, *перицентрические* и *парацентрические инверсии*.

Межхромосомные аберрации происходят между негомологичными хромосомами. Обмен участками между негомологичными хромосомами называется ***транслокацией*** (см. рис. 8.6).

Различают следующие виды транслокаций:

- *реципрокные* – две поврежденные негомологичные хромосомы взаимно обмениваются оторвавшимися участками;
- *нереципрокные* – сегменты одной хромосомы переносятся в другую;
- *транспозиции* – присоединение фрагмента к своей же хромосоме, но в новом месте.

Особую категорию хромосомных мутаций представляют аберрации, связанные с центрическим слиянием или разделением хромосом, когда две негомологичные структуры объединяются в одну. Такие нарушения называются *робертсоновскими транслокациями.*

При делеции теломерных участков двух негомологичных хромосом происходит их соединение с образованием *дицентрических* хромосом.

Хромосомные перестройки, как правило, проявляются в изменении морфологии хромосом, что можно наблюдать в световой микроскоп. Метацентрические хромосомы превращаются в субметацентрические и акроцентрические и наоборот, появляются кольцевые и полицентрические

хромосомы.

Хромосомные мутации часто влекут за собой нарушение дозы и функции генов в хромосоме, а также приводят к нарушению наследственных свойств организма, а иногда вызывают его гибель.

ХРОМОСОМНЫЕ БОЛЕЗНИ ЧЕЛОВЕКА

Хромосомные болезни человека могут возникать под влиянием разных внешних и внутренних факторов. В результате численных или структурных изменений отдельных хромосом возникают хромосомные болезни.

Хромосомные болезни возникают в результате мутаций в половых клетках одного из родителей. Хромосомная патология является одним из основных факторов формирования множественных пороков развития и составляют 30% от общего числа всех пороков у новорожденных. Хромосомными нарушениями обусловлены около 50% спонтанных абортов, 7% всех мертворождений, 10% бесплодия. Среди недоношенных детей хромосомная патология выявляется с частотой около 3%. У детей с умственной отсталостью и пороками развития аномалии хромосом встречаются в среднем в 15% случаев. Аномалии половых хромосом встречаются наиболее часто и составляют около 2/3 всех хромосомных нарушений. Возможно, это связано с большей жизнеспособностью индивидов с аномалиями половых хромосом, по сравнению с аномалиями аутосом.

Большинство несбалансированных аутосомных аберраций приводит к множественным и тяжелым порокам развития, которые затрагивают также центральную нервную систему, вызывая тяжелую умственную отсталость. Изменение числа аутосом имеют более серьезные последствия, чем в случае аномалий по половым хромосомам.

Основные фенотипические проявления аутосомных аберраций. Наиболее заметной особенностью фенотипов при аутосомных аберрациях является очень частое совпадение многих признаков и симптомов. Основные признаки: низкий вес при рождении; резкая задержка развития; умственная отсталость (обычно тяжелая); низкий рост; аномалии головы и лица (микроцефалия, неполная оссификация (окостенение), микрогнатия,

аномальное расположение глаз, «дизморфическое лицо», низко расположенные и деформированные ушные раковины); аномалии дерматоглифического рисунка; пороки развития внутренних органов (врожденный порок сердца и (или) крупных сосудов, головного мозга, мочеполовой системы).

Одним из наиболее ярких примеров хромосомного заболевания, вызванного хромосомной мутацией, является ***синдром "кошачьего крика",*** возникающий вследствие делеции короткого плеча хромосомы 5 (рис. 8.7). Типичные случаи характеризуются микроцефалией и своеобразным лицом круглой формы. Глаза у этих больных широко расставленные с эпикантом, антимонголоидным разрезом, уменьшенным подбородком. Эти признаки отмечаются в детском возрасте. Часто встречаются косоглазие, аномалии радужки, атрофия зрительного нерва. Характерны деформированные, низко расположенные уши, короткая шея, деформация кистей. Имеют место пороки сердца, почек и других внутренних органов, низкие показатели роста и веса. Характерный "кошачий крик" наблюдается в течение первых недель жизни, обусловлен сужением гортани и постепенно исчезает. Продолжительность жизни резко не снижена. Умственная отсталость при этом поражении всегда глубокая. Диагноз может быть установлен клинически, но требуется подтверждение исследованием кариотипа.

Среди других хромосомных болезней, обусловленных структурными хромосомными нарушениями, наиболее распространенными являются транслокационные формы болезни Дауна (46, D^{+21}) (рис. 8.8), синдром Патау (46, D^{+13}), синдром Эдвардса (46, tr^{+18}), синдром кошачьего крика (46, $5p^{-}$).

ГЕНОМНЫЕ МУТАЦИИ

К геномным мутациям относятся нарушения кариотипа, связанные с нарушениями числа хромосом. Существуют разные причины, приводящие к геномным мутациям.

Первым и наиболее важным механизмом является **нарушение нормального расхождения хромосом.** Хромосомы, которые в норме должны разделиться во время клеточного деления, остаются соединенными вместе и в анафазе отходят к одному полюсу. Это может произойти в ходе мито-

тического деления, но чаще наблюдается во время мейоза. У человека по неизвестным причинам именно акроцентрические хромосомы имеют тенденцию чаще вовлекаться в нерасхождение.

Мейотическое нерасхождение было открыто Бриджесом у дрозофилы. На каждую гамету с одной добавочной хромосомой приходится другая без одной хромосомы. После оплодотворения гаметой с нормальным набором хромосом зигота оказывается по одной из хромосом либо трисомной, либо моносомной. Соматическое нерасхождение в митотически делящихся клетках во время раннего развития может приводить к мозаицизму с наличием нормальных клеток, трисомии и моносомии.

Вторым механизмом, обуславливающим геномные мутации, является утрата отдельной хромосомы вследствие **«анафазного отставания»:** во время анафазного движения одна хромосома может отстать от всех других.

Третьим механизмом является **полиплоидизация**. При этом в каждой клетке геном целиком представлен более, чем дважды. У человека обнаружена только триплоидия, при которой число хромосом равно *3n*=69.

К геномным мутациям относятся полиплоидии и гетероплоидии. ***Полиплоидия*** — увеличение числа хромосом, кратное гаплоидному набору. В соответствии с этим у растений различают триплоиды *(3n),* тетраплоиды *(4n)* и т. д. В растениеводстве известно более 500 полиплоидов (сахарная свекла, виноград, гречиха, мята, редис, лук и др.). Все они выделяются большой вегетативной массой и имеют большую хозяйственную ценность. Большое многообразие полиплоидов наблюдается в цветоводстве: если одна исходная форма в гаплоидном наборе имела 9 хромосом, то культивируемые растения этого вида могут иметь 18, 36, 54 и до 198 хромосом. Полиплоиды можно получить искусственно при воздействии на растения температуры, ионизирующей радиации, химических веществ (колхицин), которые разрушают веретено деления клетки. У таких растений гаметы диплоидны, а при слиянии с гаплоидными половыми клетками партнера в зиготе возникает триплоидный набор хромосом *(2n + n = 3n).* Растения-триплоиды обычно высокоурожайны, однако они бесплодны, т.к. не образуют семян.

Несмотря на то, что полиплоидия является летальной мутацией для

человека, в настоящее время зарегистрировано около 100 случаев рождения детей с триплоидией (69 хромосом) и несколько случаев с тетраплоидией (92 хромосомы). Однако ввиду грубых пороков развития, затрагивающих основные органы и системы, продолжительность жизни таких детей составляет от нескольких часов до нескольких дней.

Гетероплоидия — изменение числа хромосом не кратное гаплоидному набору. При этом набор хромосом в клетке может быть увеличен на одну, две, три хромосомы *(2n* + 1; *2n* + 2; *2n* + 3) или уменьшен на одну хромосому (2n-1). Гетероплоидии у человека сопровождаются расстройством здоровья, нарушением психики и телосложения, снижением жизнеспособности и др. (рис. 8.9).

Трисомия – увеличение числа отдельных хромосом. Для человека описаны трисомии по 8, 9, 13, 14, 18, 21, 22, X и Y хромосомам. Трисомии по другим аутосомам несовместимы с жизнью и являются летальными мутациями, приводящими к гибели эмбрионов.

Трисомия 13 – синдром Патау

Трисомия 18 – синдром Эдвардса.

Трисомия 21 – болезнь Дауна.

Трисомия X – синдром Клайнфельтера, трисомии X.

Моносомия – уменьшение числа отдельных хромосом. Наблюдается только по половой X-хромосоме.

Синдромы, связанные с аномалиями числа аутосом

Дети с ***синдромом Дауна*** (рис. 8.10) отличаются характерным внешним видом: округлый череп со скошенным затылком, косой разрез глаз, широкий плоский нос, добавочное веко, светло-серые пятна на радужной оболочке, “готическое” небо, маленькие уши, полуоткрытый рот с высунутым толстым языком. Имеют широкие короткие кости, иногда искривленные; может наблюдаться синдактилия. С возрастом выявляются отклонения в зрении, эндокринные нарушения, патологии кожных покровов, ногтей, волос, сниженный мышечный тонус. Продолжительность жизни ограничена 30-40 годами: умирают вследствие пороков развития внутренних

органов и декомпенсации их функций. Обладают ранимой психикой. ведут малоподвижный образ жизни. Эмоции относительно сохранны. Степень недоразвития интеллекта варьирует от дебильности до глубокой идиотии.

Из рождающихся с трисомиями описаны ***синдром Патау*** (трисомия по 13 паре аутосом), характеризующийся отсутствием шеи, различными уродствами на лице, неспособностью к выработке условных рефлексов и ***синдром Эдвардса*** (трисомия по 18 паре аутосом), для которого типичными признаками являются крупные размеры черепа и вспученный живот (рис. 8.11). Такие больные умирают в раннем детстве.

Большинство трисомий по другим парам аутосом вызывают настолько серьезные патологии эмбриогенеза, что ведут к спонтанным абортам в период внутриутробного развития.

Наиболее распространенные хромосомные синдромы связаны с нарушениями числа и структуры половых хромосом (гоносом).

Синдромы, связанные с аномалиями числа половых хромосом

Одной из особенностей аномалий половых хромосом (гоносом), обуславливающих клиническую и социальную значимость, является сравнительно легкое течение заболевания при отсутствии у больных множественных врожденных пороков развития и выраженной умственной отсталости. Уровень умственного развития может быть ниже нормы, но выражается не столь отчетливо, как в случаях аномалий аутосом. Как правило, хромосомные синдромы при аномалиях гоносом проявляются в пубертантном возрасте при появлении вторичных половых признаков.

Все аномалии гоносом могут проявляться полными и мозаичными формами. Наиболее распространенными среди численных аномалий половых хромосом являются следующие:

47, XXX – трисомия X (рис. 8.12). Частота 1:800, 1:1000. Фенотип женский. В большинстве случаев заболевание развивается параклинически (т.е. без явных клинических симптомов) и часто первые проявления обнаруживаются в период полового созревания при нарушении менструального цикла, либо даже после вступления в брак при бесплодии. Недоразвитие яичников в отдельных случаях может приводить не только к бесплодию,

но и к недоразвитию первичных и вторичных половых признаков. Интеллект страдает редко. Диагностический признак – два тельца Барра в клетках эпителия слизистой щеки.

Синдромы тетра-Х, пента-Х встречаются гораздо реже. С увеличением числа дополнительных Х-хромосом клинические проявления заболевания становятся более выраженными. Больные имеют низкий рост и множество стигм дизэмбриогенеза (отклонения от нормы): аномалии ушей, нарушения прикуса, “готическое” нёбо, короткие искривленные пальцы, неполная синдактилия (шестипалость) и др. Могут наблюдаться пороки развития внутренних органов. При синдромах тетра-Х и пента-Х синдромы отягощены умственной отсталостью глубокой и средней степени.

47, XXY; 48, XXXY – синдром Клайнфельтера (рис. 8.13). Частота – 1:400, 1:500. Фенотип мужской. Телосложение по женскому типу: узкие плечи, широкие бедра, преимущественное отложение жира на бедрах и ягодицах. Характерен высокий рост. Интеллект снижен. I и II половые признаки недоразвиты.

47, XYY – разновидность синдрома Клайнфельтера, синдром Джекобса (рис. 8.8). 1:1000 новорожденных мальчиков. Характерен высокий рост. Типичны психологические свойства: агрессивность, жестокость, неадаптивность, склонность к асоциальным действиям. Среди осужденных каждый двадцатый имеет кариотип XYY. Распределение IQ сдвинуто к более низким значениям, примерно половина носителей страдает олигофренией.

45, X0 – моносомия Х - синдром Шерешевского-Тернера (рис. 8.14). Одна из частых причин (95%) спонтанных абортов и выкидышей. Частота синдрома составляет 1:2-3 тыс новорожденных. Фенотип женский. Недоразвитие яичников приводит к бесплодию, недоразвитию первичных и вторичных половых признаков. Интеллект страдает редко. Больные низкого роста. Характерная особенность – крыловидная кожная складка от затылка к плечу. Диагностический признак – отсутствие телец Барра в клетках эпителия слизистой щеки. Эффективно раннее гормональное лечение (гормональная коррекция).

При гетероплоидиях различают полные и мозаичные формы (рис.

8.15). При полной форме хромосомные нарушения характерны для всех клеток организма. Мозаичные формы характеризуются наличием, наряду с нормальными, патологических клеток в разных пропорциях. Клиническое сопоставление полных и мозаичных форм показывает, что мозаичные формы протекают легче, что, вероятно, обусловлено присутствием нормальных клеток, компенсирующих генетический дисбаланс.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ:

1. Назовите основные свойства модификационной изменчивости.
2. Что такое норма реакции признака?
3. Чем отличаются термины экспрессивность и пенетрантность?
4. Как рассчитывается пенетрантность признака?
5. Дайте классификацию генотипической изменчивости.
6. Какие факторы являются мутагенными?
7. Объясните механизм возникновения мутаций на разных уровнях организации наследственного материала.
8. Назовите характерные черты генных, хромосомных и геномных мутаций
9. Дайте классификацию и кратко охарактеризуйте моногенные и хромосомные болезни человека.

Лекция 9

ЧЕЛОВЕК КАК ОБЪЕКТ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА

ПЛАН ЛЕКЦИИ:

1. **БИОСОЦИАЛЬНАЯ СУЩНОСТЬ ЧЕЛОВЕКА**
2. **МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА**
3. **ГЕНЕАЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД**
4. **БЛИЗНЕЦОВЫЙ МЕТОД**
5. **БИОХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД**
6. **МЕТОДЫ РЕКОМБИНАНТНОЙ ДНК**
7. **МЕТОД ГЕНЕТИКИ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК**
8. **БИОЛОГИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ**
9. **ПОПУЛЯЦИОННО-СТАТИСТИЧЕСКИЙ МЕТОД**
10. **ДЕРМАТОГЛИФИЧЕСКИЙ МЕТОД**
11. **ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД**
12. **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД**
13. **ПРИНЦИП МЕТОДА ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ (ПЦР)**
14. **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ**

Одним из разделов генетики является генетика человека (антропогенетика), изучающая закономерности наследственности и изменчивости у человека в норме и при патологии. Разделом антропогенетики является медицинская генетика, изучающая закономерности наследственности и изменчивости при патологии у человека, т.е. причины возникновения заболеваний, характер наследования заболеваний в семье, распространение заболевания в популяции.

Генетика человека – одна из важнейших основ теоретической медицины. Одним из основоположников медицинской генетики является выдающийся советский невропатологи С.Н. Давиденков (1880-1961). Он впер-

вые применил методы генетики в клинической практике для анализа ряда наследственных заболеваний, часть из которых была описана впервые. Важной заслугой С.Н. Давиденкова является разработка методов молекулярно-генетического консультирования и первое применение их в нашей стране.

БИОСОЦИАЛЬНАЯ СУЩНОСТЬ ЧЕЛОВЕКА

Объектом изучения антропогенетики является человек. Важной особенностью человека, как представителя животного мира, является его не только биологическая, но и социальная сущность (биосоциальная). Биологическая сущность человека определяется местом человека в живой природе.

Социальная, т.е. общественная сущность, определяется человеческим сознанием, поведением в обществе, культурой, т.е. характеризуется особенностями взаимосвязи людей между собой. Социальную сущность человека изучает самостоятельная наука – социология.

Основные закономерности наследственности, установленные для живых организмов, универсальны и в полной мере справедливы и для человека. Вместе с тем как объект генетических исследований человек имеет свои преимущества и недостатки, связанные с биологической и социальной сущностью.

1. Связанные с биологическими особенностями:

1. *Для людей невозможно планировать искусственные браки.* Однако эта трудность преодолима благодаря прицельной выборке из большого числа брачных пар тех, которые соответствуют целям данного генетического исследования.

2. *Сложный кариотип - большое число хромосом – 2n=46 и генов (30-40 тыс.).* Но разработка новейших методов работы с ДНК, метода гибридизации соматических клеток и некоторых других методов устраняет эту трудность.

3. *Низкая плодовитость из-за небольшого числа потомков (в большинстве семей рождается по 2 – 3 ребенка).* Но в больших популяциях

можно выбрать семьи с интересующими исследователя признаками. Кроме того, в некоторых семьях определенные признаки прослежены на протяжении многих поколений. В таких случаях возможен генетический анализ.

4. *Еще одна трудность связана с длительностью смены поколений у человека.* Одно поколение у человека занимает в среднем 30 лет. И, следовательно, генетик не может наблюдать более одного-двух поколений.

5. *Позднее половое созревание (14*-15 лет)

6. *Для человека характерен большой генотипический и фенотипический полиморфизм.* Проявление многих признаков и болезней в сильной степени зависят от условий внешней среды. Понятие «среда» для человека более широкое по сравнению с растениями и животными. Наряду с питанием, климатом и другими абиотическими и биотическими факторами, средой для человека являются и социальные факторы, трудно изменяемые по желанию исследователя. Вместе с тем, человека как генетический объект широко изучают врачи всех специальностей, что нередко помогает установить различные наследственные отклонения.

7. *Невозможность создания полностью одинаковых условий для жизни всего потомства.*

2. Связанные с социальной сущностью:

1. Невозможно проводить эксперименты.

2. По этим причинам невозможно произвести гибридологический анализ.

3. Необходимо считаться с особенностями культуры и традициями народа, их обычаями. (например: кастовые предрассудки богатых жениться на бедной, национальные и т.д.)

Таким образом, человек - относительно неудобный объект для генетических исследований. Но, несмотря на все эти трудности, генетика человека на сегодня изучена лучше, чем генетика многих других организмов.

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА

1. Генеалогический.
2. Близнецовый.
3. Биохимический.
4. Методы рекомбинантной ДНК.
5. Дерматоглифический.
6. Цитогенетический.
7. Популяционно-статистический.
8. Молекулярно-генетический (метод анализа ДНК).
9. Генетики соматических клеток.
10. Биологического моделирования.
11. Математического моделирования (биоинформатика).

В настоящее время интерес и внимание к изучению генетики человека активно возрастает. Глобальная международная программа «Геном человека» имеет своей задачей изучение генома человека на молекулярном уровне. Для ее решения используются современные методы генетики и медицины.

Генетика человека изучает явления наследственности и изменчивости в популяциях людей, особенности наследования признаков в норме и их изменения под действием условий окружающей среды. Целью медицинской генетики является разработка методов диагностики, лечения и профилактики наследственной патологии человека.

Задачами генетики человека являются:

1) определение полной нуклеотидной последовательности ДНК генома человека, локализации генов и создание их банка;

2) ранняя диагностика наследственной патологии путем совершенствования методов пренатальной (дородовой) и экспресс-диагностики;

3) широкое внедрение медико-генетического консультирования;

4) разработка методов генной терапии наследственных заболеваний на основе генной инженерии;

5) выявление генетически опасных факторов внешней среды и разработка методов их нейтрализации.

ГЕНЕАЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

Это метод составления родословной. Изучает наследственные признаки в ряду поколений. Генеалогия – это родословная человека.

Генеалогический метод был введен в науку в начале XIX века Ф.Гальтоном.

Возможности генеалогического метода:

Метод позволяет установить:

1. Является ли данный признак наследственным.
2. Определить тип и характер наследования.
3. Выявить гетерозиготное носительство.
4. Пенетрантность и экспрессивность.
5. Взаимодействие генов. Сцепление генов.
6. Изучение интенсивности мутационного процесса.
7. Возможность прогнозировать потомство.

Этапы генеалогического анализа:

1. Сбор данных обо всех родственниках обследуемого – пробанда.
2. Построение родословной.
3. Анализ родословной.
4. Заключение.

При составлении родословной исходным является человек, который обратился в консультацию, для которого изучают родословную – это *пробанд***.** Обычно это больной или носитель определенного признака. При составлении родословной используют условные обозначения, предложенные Юстом в 1931 г (рис. 9.1).

Правила составления родословной:

1. Члены одного поколения должны быть на одной горизонтальной черте.

В каждой семье сибсы располагаются слева направо в порядке рождаемости. Члены одного поколения обозначаются арабскими цифрами (1,2,3).

2. Для составления родословной необходима информация как минимум о 3-х поколениях. Поколения обозначаются римскими цифрами.

Основные типы наследования у человека

Аутосомно-доминантный тип наследования (рис. 9.2) характеризуется следующими признаками:

1) больные в каждом поколении;

2) больной ребенок у больных родителей;

3) болеют в равной степени мужчины и женщины;

4) наследование идет по вертикали и по горизонтали;

5) вероятность наследования 100%, 75% и 50%.

Следует подчеркнуть, что вышеперечисленные признаки аутосомно-доминантного типа наследования будут проявляться только при полном доминировании. Так наследуется у человека полидактилия (шестипалость), веснушки, курчавые волосы, карий цвет глаз и др. При неполном доминировании у гибридов будет проявляться промежуточная форма наследования. При неполной пенетрантности гена больные могут быть не в каждом поколении.

Аутосомно-рецессивный тип наследования (рис. 9.3) характеризуется следующими признаками:

1) больные не в каждом поколении;

2) у здоровых родителей больной ребенок;

3) болеют в равной степени мужчины и женщины;

4) наследование идет преимущественно по горизонтали;

5) вероятность наследования 25%, 50% и 100%.

Чаще всего вероятность наследования болезни аутосомно-рецессивного типа составляет 25% , так как вследствие тяжести заболевания такие больные либо не доживают до детородного возраста, либо не вступают в брак. Так наследуется у человека фенилкетонурия, серповидно-клеточная анемия, голубой цвет глаз и др.

Сцепленный с полом (с Х-хромосомой) рецессивный тип наследования (рис. 9.4) характеризуется следующими признаками:

1) больные не в каждом поколении;

2) у здоровых родителей больной ребенок;

3) болеют преимущественно мужчины;

4) наследование идет в основном по горизонтали;

5) вероятность наследования 25% от всех детей и 50% у мальчиков.

Так наследуются у человека гемофилия, дальтонизм, наследственная анемия, мышечная дистрофия и др.

Сцепленный с полом (с Х-хромосомой) доминантный тип наследования (рис. 9.5) сходен с аутосомно-доминантным, за исключением того, что мужчина передает этот признак всем дочерям (сыновья получают от отца Y-хромосому, они здоровы). Примером такого заболевания является особая форма рахита, устойчивая к лечению витамином D.

Голандрический тип наследования характеризуется следующими признаками (рис. 9.6):

1) больные во всех поколениях;

2) болеют только мужчины;

3) у больного отца больны все его сыновья;

4) вероятность наследования 100% у мальчиков.

Голандрические признаки не имеют существенного значения в наследственной патологии человека. По голандрическому типу у мужчин наследуются ихтиоз (шелущение кожи), гипертрихоз (избыточный рост волос на ушных раковинах и наружных слуховых проходах), перепонки между пальцами на ногах и др.

БЛИЗНЕЦОВЫЙ МЕТОД

Метод введен в медицинскую практику Ф. Гальтоном в 1876 г. Он позволяет оценить долю наследственности и среды в проявлении признака. Суть метода заключается в сравнении проявления признаков в разных группах близнецов при учете сходства и различия между ними.

Различают моно- и дизиготных близнецов. Монозиготные (однояйцевые) близнецы развиваются из одной оплодотворенной яйцеклетки. Монозиготные близнецы имеют совершенно одинаковый генотип и, если они отличаются фенотипически, то это обусловлено воздействием факторов внешней среды.

Дизиготные (двуяйцевые) близнецы развиваются после оплодотво-

рения сперматозоидами нескольких одновременно созревших яйцеклеток. Близнецы будут иметь разный генотип и их фенотипические различия обусловлены как генотипом, так и факторами внешней среды.

Монозиготные близнецы имеют большую степень сходства по признакам, которые определяются в основном генотипом. Например, монозиготные близнецы всегда однополы, у них одинаковые группы крови по разным системам (ABO, RH, MN и др.), одинаковый цвет глаз, однотипны дерматоглифические показатели на пальцах и ладонях и др. Эти фенотипическке признаки и используются в качестве критериев диагностики зиготности близнецов.

Процент сходства близнецов по изучаемому признаку называется конкордантностью, а процент различия – дискордантностью. Так как монозиготные близнецы имеют одинаковый генотип, то конкордантность их выше, чем у дизиготных.

Генетическая предрасположенность к наследственным и многофакторным заболеваниям определяется с помощью близнецового метода следующим образом (рис. 9.7):

1. Если заболевание обусловлено только наследственными факторами, то КМБ=100%, КДБ=25-50%.
2. При МФЗ – низкий уровень конкордантности для МЗБ и ДЗБ.
3. КМБ=КДБ – ведущая роль среды.

Для оценки роли наследственности и среды в развитии того или иного признака используют формулу Хольцингера:

Н=(КМБ-КДБ)/(1-КМБ)

где Н – доля наследственности,

КМБ – конкордантность монозиготных близнецов,

КДБ – конкордантность дизиготных близнецов.

Показатели наследуемости некоторых признаков у человека приведены на рис. 9.8. При Н=1 (100%) признак полностью определяется наследственным компонентом. При Н=0 – средовым. При Н=0,5 (50%) - одинакова роль наследственности и среды (МФЗ).

В зависимости от значения *H* судят о влиянии генетических и средовых факторов на развитии признака. Если значение *H* близко к 0, считают, что развитие признака обусловлено только факторами среды. При значении Н от 70 до 100% – наследственные факторы имеют доминирующее значение в развитии признака или болезни, а среднее значение Н от 40 до 70% свидетельствует о том, что признак развивается под действием факторов внешней среды при наличии генетической предрасположенности (например, в случае с многофакторными заболеваниями).

БИОХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД

Биохимические методы позволяют диагностировать наследственные болезни (болезни обмена веществ), обусловленные генными мутациями и основаны на изучении активности ферментных систем (либо по активности самого фермента, либо по количеству конечных продуктов реакции, катализируемой данным ферментом).

Дефекты ферментов устанавливают путем определения в биологических средах (например, в моче и крови) продуктов метаболизма, являющихся продуктом функционирования данного белка. Дефицит конечного продукта, сопровождающийся накоплением промежуточных и продуктов нарушенного метаболизма, свидетельствует о дефекте фермента или его дефиците в организме.

Объектами биохимического анализа могут служить моча, кровь, пот, плазма и сыворотка крови, форменные элементы крови, культуры клеток (фибробласты, лимфоциты).

Биохимическую диагностику проводят в два этапа. На первом этапе отбирают предположительные случаи заболевания (особенно у новорожденных детей – неонатальный скрининг); проводят качественные и количественные тесты с мочой и кровью на белок, кетокислоты, цистин и гомоцистин, креатинин и другие показатели. На втором этапе уточняют диагноз заболевания; применяют более точные и сложные методы, позволяющие обнаружить большие группы биохимических аномалий.

Неонатальный скрининг (син. скрининг новорожденных, от англ.

screen – просеивать) – медицинская диагностическая технология сплошного безвыборочного лабораторного обследования всех новорожденных на некоторые заболевания обмена веществ, призванная обеспечить своевременное выявление и начало лечения больных детей с целью предотвращения их инвалидизации. В России проводится неонатальный скрининга двух заболеваний: фенилкетонурии и врожденного гипотироза. Во многих страны осуществляется сплошное обследование новорожденных на более широкий спектр заболеваний: муковисцидоз, галактоземию, адреногенитальный синдром, болезнь кленового сиропа, дефицит биотинидазы, гемоглобинопатии.

Обследование всех новорожденных детей является дорогостоящим, поэтому для неонатального скрининга выбраны именно те заболевания, которые отвечают определенным критериям. Во-первых, и фенилкетонурия, и врожденный гипотироз без своевременного начала лечения однозначно приводят ребенка к глубокой инвалидности. Во-вторых, для предотвращения инвалидизации ребенка вследствие этих болезней имеются эффективные методы лечения. В-третьих, эти заболевания встречаются не так уж редко – их частота выше, чем 1 на 10000 новорожденных. И наконец, для фенилкетонурии и врожденного гипотироза разработаны точные биохимические методы лабораторной доклинической диагностики, т.е. еще до возникновения внешних, клинических проявлений заболевания.

В родильном доме на 3 – 5-й день жизни у всех новорожденных производится взятие крови для исследования и доставка ее в специализированную лабораторию. Кровь у малыша обычно берется из пяточки и наносится на специальный бумажный тест-бланк, на котором имеются графы, куда записывается информация о ребенке: фамилия матери, домашний адрес семьи, дата и номер родов, название родовспомогательного учреждения и т.д. Такой тест-бланк с высушенными пятнышками крови пересылается по почте в специальную биохимическую лабораторию. Такие лаборатории располагаются на базе медико-генетических консультаций и центров.

Из пятен крови одного и того же тест-бланка проводится обследова-

ние ребенка и на фенилкетонурию, и на врожденный гипотироз. Только в первом случае в крови определяется концентрация фенилаланина, а во втором – тиротропного гормона. Если концентрация этих веществ в пределах нормы, то на этом обследование завершается, а информация о нормальных результатах тестирования никуда не передается. В случае же превышения нормальных показателей, родителям ребенка, по адресу, указанному на тест-бланке, высылается письмо с просьбой обеспечить повторное, уточняющее исследование крови малыша.

Если при уточняющем обследовании повторно обнаружено превышение концентрации фенилаланина или тиреотропного гормона в крови ребенка, то это с очень большой вероятностью указывает на наличие соответственно либо фенилкетонурии, либо врожденного гипотироза. В первом случае родители с ребенком срочно вызываются на прием к врачу-генетику, где в процессе медико-генетического консультирования уточняется диагноз заболевания и назначается лечение. Во втором случае родители информируются о необходимости срочно доставить ребенка к врачу-эндокринологу для уточнения диагноза и назначения соответствующей терапии

Для точной диагностики болезней обмена веществ применяют более сложные методы. Например, с помощью тонкослойной хроматографии мочи и крови можно диагностировать нарушения обмена аминокислот, олигосахаридов и гликозаминогликанов (мукополисахаридов); газовая хроматография применяется для выявления болезней обмена органических кислот; с помощью электрофореза гемоглобинов диагностируется вся группа гемоглобинопатий. Применяются современные высокоточные технологии, позволяющие идентифицировать любые метаболиты, специфические для конкретной наследственной болезни: жидкостная хроматография, масс-спектометрия, магнитная резонансная спектроскопия, бомбардировка быстрыми нейтронами.

Показаниями для применения биохимических методов диагностики у новорожденных являются такие симптомы: судороги, кома, рвота, гипотония, желтуха, специфический запах мочи и пота, нарушения кислотно-основного состояния, остановка роста.

С помощью биохимических нагрузочных тестов можно выявлять гетерозиготных носителей патологических генов, например, фенилкетонурии. Исследуемому человеку вводят внутривенно определенное количество аминокислоты фенилаланина и через равные промежутки времени определяют его концентрацию в крови. Если человек гомозиготен по доминантному гену (*АА*), то концентрация фенилаланина в крови довольно быстро возвращается к контрольному уровню (определяется до введения фенилаланина), а если он гетерозиготен (*Аа*), то снижение концентрации фенилаланина идет вдвое медленнее.

Аналогично проводятся тесты, выявляющие предрасположенность к сахарному диабету, гипертонии и др. болезням.

МЕТОДЫ РЕКОМБИНАНТНОЙ ДНК

Эти методы позволяют анализировать фрагменты ДНК, находить и изолировать отдельные гены и сегменты генов и устанавливать в них последовательность нуклеотидов.

Метод клонирования ДНК позволяет изолировать отдельные гены или их части, транскрибировать (создавать их копии) и транслировать изолированные гены.

Это стало возможным благодаря открытию ферментов-рестриктаз. Эти ферменты опознают специфическую олигонуклеотидную последовательность в двухнитевой ДНК и разрезают ее в данном сайте (месте). Разные рестриктазы распознают различные последовательности нуклеотидов и разрезают ДНК в разных сайтах.

Гибридизация нуклеиновых кислот. При этом методе линейные отрезки двухцепочечной ДНК подвергают тепловой обработке и получают одноцепочечные фрагменты (денатурирование). Денатурированную ДНК инкубируют при таких условиях (t^0 – 37°С), когда происходит гибридизация, т.е. взаимное распознавание двух комплементарных нитей посредством спаривания азотистых оснований. Часто для идентификации порядка нуклеотидов используют в качестве «зонда» одну радиоактивную нить ДНК. Можно идентифицировать как полностью, так и частично гомоло-

гичные последовательности. Специфичность гибридизации нуклеиновых кислот позволяет обнаружить единственный ген среди десятков тысяч. Различные модификации этого метода позволяют в клинике анализировать очень малые количества ДНК, взятые у больного.

Для широкого применения в практическом здравоохранении методов рекомбинантной ДНК необходимо создание библиотек радиоактивных зондов всех последовательностей ДНК генома человека.

МЕТОД ГЕНЕТИКИ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

Дает возможность изучать многие вопросы генетики человека в эксперименте. Для культивирования чаще используют клетки соединительной ткани (фибробласты) и лимфоциты крови. На искусственных питательных средах их можно клонировать, т.е. получать потомков одной клетки. Все они будут иметь одинаковый генотип (как монозиготные близнецы) и, следовательно, на клеточном уровне можно изучать роль генотипа и среды в проявлении признаков.

Можно проводить селекцию клеток – отбор клеток с заранее заданными свойствами. Для этого используют селективные питательные среды. Например, если в питательную среду добавить не лактозу, а другие сахара, то из большого числа клеток найдется несколько, которые смогут существовать без лактозы, и в дальнейшем можно получить клон таких клеток.

Наибольший интерес для генетики человека представляет метод гибридизации соматических клеток (рис. 9.9). В 1960 г. французский ученый Ж. Барский, выращивая в культуре клетки две линии мышей, обнаружил, что некоторые из них по своим морфологическим и биохимическим свойствам оказались промежуточными между исходными родительскими клетками. Это были гибридные клетки.

Такое спонтанное слияние соматических клеток в культуре ткани происходит довольно редко. В дальнейшем было установлено, что при введении в культуру клеток РНК-содержащего вируса парагриппа Сендай, инактивированного при облучении ультрафиолетом, частота гибридизации клеток значительно повышается, и в смешанной культуре разных типов кле-

ток образуются гетерокарионы – клетки, содержащие два ядра разных клеток в одной цитоплазме. Часть таких клеток способна размножаться митозом. После митоза из двуядерного гетерокариона образуются две одноядерные клетки, каждая из которых представляет собой синкарион – настоящую гибридную клетку, содержащую хромосомы обеих исходных клеток.

Гибридизация возможна не только между клетками организмов разных видов. Синкарионы обычно удается получать при гибридизации клеток разных видов, относящихся к одному классу. В таких синкарионах происходит объединение геномов двух видов. Например, гибридные клетки человека и мыши имеют 43 пары хромосом: 23 – от человека и 20 – от мыши. В дальнейшем происходит постепенное удаление хромосом того организма, клетки которого имеют более медленный темп размножения. У гибридных клеток человек–мышь удаляются хромосомы человека.

В гибридных клетках функционируют хромосомы как человека, так и мыши, гены которых детерминируют синтез соответствующих белков. Морфологически можно отличить каждую из хромосом (дифференциальное окрашивание).

Если в гибридной клетке отсутствует какая-либо хромосома и не происходит синтез каких-то белков, то можно предположить, что гены, детерминирующие синтез этих белков, локализованы в данной хромосоме. Таким образом, метод позволяет устанавливать группы сцепления у человека, а используя нехватки и транслокации выяснять и последовательность расположения генов, т.е. строить генетические карты хромосом человека.

БИОЛОГИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

Биологическое моделирование определенных наследственных аномалий человека можно проводить на мутантных линиях животных, имеющих сходные нарушения. Например, у собак встречается гемофилия, обусловленная рецессивным сцепленным с Х-хромосомой (с полом) геном. Происхождение расщелины губы и неба у мышей сходно с аналогичными аномалиями человека, у хомяков и крыс встречаются сахарный диабет, ахондроплазия, мышечная дистрофия и др. Хотя мутантные линии живот-

ных не дают точную картину наследственных болезней человека, даже частичное воспроизведение их фрагментов в ряде случаев позволяет изучить механизмы первичного отклонения от нормы. Закон гомологичных рядов Н. И. Вавилова (виды и роды генетически близкие обладают сходными рядами наследственной изменчивости) позволяет с определенными ограничениями экстраполировать экспериментальные данные на человека.

ДЕРМАТОГЛИФИЧЕСКИЙ МЕТОД

Дерматоглификий метод основан на изучении рельефа кожи на пальцах, ладонях и подошвенных поверхностях стоп, где имеются эпидермальные выступы – гребни, образующие сложные узоры. Изучение кожного рисунка концевых фаланг пальцев рук называется *дактилоскопией,* изучение кожного рисунка на ладонях – *пальмоскопия,* изучение кожного рисунка на подошвенной поверхности стоп - *плантоскопия*.

Дактилоскопия. Узоры обычно изучают на отпечатках, сделанных на бумаге после смазывания кожи типографской краской. Детальное изучения узора проводят с помощью лупы.

Папиллярные линии на пальцевых подушечках образуют токи различного направления и они никогда не пересекаются, но могут сближаться в определенных пунктах, образуя трирадиусы, или дельты.

Несмотря на индивидуальную неповторимость узоров, выделяют три основных их типа: дуги, петли, завитковые узоры (завиток) (рис. 9.10).

Дуговые узоры встречаются реже остальных (6%). В этом узоре имеется лишь один поток папиллярных линий. Начинаясь с одного края узора, линии приподнимаются к другому, противоположному краю, образуя дуговой, шатровый, узор, изгиб которого бывает то крутым, то отлогим.

Петлевые узоры являются наиболее распространенными (около 60%). Это замкнутый с одной стороны узор: гребни начинаются также у края узора, но, не доходя до противоположного края, изгибаются в виде петли и возвращаются к тому же краю, от которого начались. Петли имеют одну дельту. Если петля открывается в сторону лучевой кости, она называется радиальной, если в сторону локтевой кости, – ульнарной.

Завитковые узоры занимают среднее место по распространенности (31%). Они имеют вид концентрических кругов, овалов, спиралей, снизу и сверху центральная часть узора окаймлена двумя потоками линий. Завитки имеют две дельты.

Сложные, или составные, узоры имеют два трирадиуса и более. Такие узоры часто бывают составлены двумя петлями, открытыми в разные стороны. Анализ таких узоров проводится отдельно (для каждого человека). При групповых обследованиях сложные узоры суммируются с завитками.

Кроме основных типов узоров могут встречаться различные переходные формы от одного типа к другому.

Дельтовый счет определяется суммарным количеством трирадиусов на всех десяти пальцах – от 0 до 20 (подсчет числа трирадиусов на обеих руках дает представление об интенсивности узора).

Гребневый счет. Для определения этого показателя между точкой трирадиуса и центром узора на отпечатке проводят карандашом прямую черту и подсчитывают число гребней, которые она пересекла. Гребневый счет определяется для каждого пальца отдельно и суммарно для пяти пальцев каждой руки. Общая сумма гребневых счетов обеих рук называется «общим гребневым счетом» и обозначается TRC (total ridge count). При наличии завитков и сложных узоров в общий гребневый счет входит только число гребней с той стороны пальца, где их больше. Допускается подсчет гребней с обеих сторон. Гребневый счет варьируется у разных людей и на разных пальцах от 0 до 300 (на 10 пальцах). Гребневый счет не связан с полом, но половые хромосомы оказывают влияние на этот признак, причем влияние X-хромосомы более сильное, чем влияние Y-хромосомы.

У правшей более сложные узоры встречаются на правой руке, у левшей – на левой.

У женщин частота завитковых узоров ниже, чем у мужчин, меньше гребневый счет, а частота петлевых и дуговых выше.

В среднем на одном пальце бывает 15-20 гребней, на всех десяти пальцах у мужчин эта цифра равна 144,98 ± 51,08, а для женщин – 127,23 ± 52,51.

Установлено, что у родителей с высоким гребневым счетом дети также характеризуются высоким гребневым счетом, и, наоборот. Установлено также, что типы узоров имеют полигенное наследование. Наиболее высокая степень наследуемости петлевых узоров – 95,2%, завитков – 84,1%, дуг – 38,9%. Считается, что каждый из генов наследуется независимо и доминантно. Предположительная локализация генов завитков - в группе хромосом D, дуг – в группе E, петель – в группе G.

Для различных этнических групп папиллярные узоры, как правило, специфичны: коренного жителя Дона можно отличить от коренного жителя Дальнего Востока. У жителей Дона на втором и четвертом пальцах рук должны быть петлевые узоры, а у жителя Дальнего Востока – завиток должен быть преобладающим узором. Для жителей Европы, страдающих шизофренией, прослеживается увеличение числа завитков.

Пальмоскопия. Ладонный рельеф сложный, в нем выделяют ряд полей, подушечек и ладонных линий. Центральную ладонную ямку окружают шесть возвышений – подушечек. У основания большого пальца – *тенар*, у противоположного края ладони – *гипотенар*, против межпальцевых промежутков четыре межпальцевые подушечки. У основания II, III, IV и V пальцев находятся пальцевые трирадиусы – точки, где сходятся три разнонаправленных тока папиллярных линий – *a, b, c, d.* Вблизи браслетной складки, отделяющий кисть от предплечья, по продольной линии, идущей от IV пястной кости, располагается главный (осевой) ладонный трирадиус *t*. Если провести линии от трирадиусов *a* и *d* к *t*, то образуется ладонный угол *atd*, в норме он не превышает 57°. Чем проксимальнее расположен трирадиус *t,* тем острее угол *atd* и, наоборот, дистальное его расположение приводит к увеличению этого угла.

На ладони различают три главные флексорные (сгибательные) борозды: *борозды большого пальца, косая и порперечная.* Иногда косая борозда сливается с поперечной в одну четырехпальцевую борозду. Частота встречаемости в норме не превышает 5%. Угол $>60^0$ – болезнь Дауна, угол $<40^0$ – синдром Клайнфельтера.

Совокупность радиальных петель на IV и V пальцах, четырехпальце-

вой борозды и главного ладонного угла свыше 60 – 80° свидетельствует о врожденном компоненте наследственного заболевания (синдром Дауна, Шерешевского-Тернера и др.).

В настоящее время, в связи с развитием и внедрением в практическую медицину современных высокоинформативных методов диагностики наследственной патологии, для целей медицинской генетики дерматоглифический метод почти не используется. В то же время, дактилоскопический анализ применяется в неврологии для подтверждения диагноза неврологического заболевания, а также в судебной медицине и криминалистике с целью идентификации личности.

ПОПУЛЯЦИОННО-СТАТИСТИЧЕСКИЙ МЕТОД

это метод изучения генетической структуры популяций.

Возможности метода:

1. Метод позволяет оценить распространенность наследственных заболеваний в популяции, рассчитать частоты аллелей и генотипов, определить частоту гетерозиготных носителей мутаций.

2. Дает возможность охарактеризовать мутационный процесс, оценить роль наследственности и среды в формировании генетической структуры популяции, в возникновении болезней.

3. Позволяет охарактеризовать демографические процессы в популяциях человека, выявить источники происхождения мутаций (по градиенту частот), определить основные направления миграций населения по спектру мутаций.

4. На основе изучения распространения генов среди населения различных географических регионов (геногеография) дает возможность установить центры происхождения различных этнических групп и их миграции, определить степень риска появления той или иной наследственной патологии в конкретном регионе.

Популяция – это совокупность особей одного вида, длительно населяющих одну территорию, относительно изолированных других групп особей данного вида, свободно скрещивающихся между собой и дающих

плодовитое потомство.

Совокупность всех *аллельных вариантов* генов популяции называется *генофондом*.

По численности особей популяции могут быть большие и малые. *Большие* человеческие популяции включают более 4 тыс. чел. *Малые* подразделяются на демы и изоляты. *Демы* – имеют численность от 1,5 до 4 тыс. чел. *Изоляты* – наименьшие популяции людей численностью до 1,5 тыс. чел. В них часто встречаются кровно-родственные браки, на долю внутригрупповых браков приходится более 90%. Приток генов из вне – менее 1%.

Существенным моментом при использовании популяционно-статистического метода является генетический анализ популяций. Он начинается с изучения распространенности в популяции того или иного признака (наследственного заболевания, фенотипа, генотипа, аллеля и т.д.). Частота признака, т.е. количество особей, обладающих данным признаком, по отношению к общему числу особей, выражается в долях единицы или в %. Например: ФКУ выявлено у 7 из 7000 новорожденных. Следовательно, частота заболевания составляет 7:7000 или 0,0001, или 1 случай на 10 тыс. н/р.

Основой для выяснения генетической структуры популяций является закон Харди-Вайнберга (1908) или закон поддержания генетического равновесия в популяции. Т.Харди (Английский математик), С.Вайнберг (немецкий врач). Они сформулировали закон поддержания генетического равновесия в популяции (рис 9.11).

Закон Харди-Вайнберга:

в идеальной популяции частоты генов и генотипов находятся в равновесии и не изменяются в ряду поколений.

Основные положения закона Харди-Вайнберга:

1. ***Частота аллелей*** в популяции – величина постоянная. $p+q=1$ (100%)
2. ***Частота генотипов*** также величина постоянная и может быть

выражена формулой: $(p+q)^2 = p^2+2pq+q^2=1$, или $AA+2Aa+aa=1$. Эта формула дает возможность рассчитать частоту встречаемости в конкретной популяции гетерозиготных носителей рецессивных аллелей.

Например: частота ФКУ 1:10000 новрожденных (частота генотипа *aa*). Следовательно, q^2 = 1/10000, q=1/100. Т.к. $p+q=1$, то $p=1-q$ = 99/100. Частота гетерозиготных носителей = $2pq$ = 2 х 1/100 х 99/100 = 1/50. В данной популяции каждый 50 – носитель мутации гена.

Закон Харди-Вайнберга выполняется в следующих условиях:

1. Популяция должна быть большой (т.е. близкой к идеальной).
2. Имеются условия для случайной встречи гамет, т.е. полная панмиксия – отсутствие ограничений в выборе партнера.
3. Отсутствует мутационный процесс.
4. Нет притока генов (иммиграции).
5. Нет отбора.

Нарушение условий равновесия Харди-Вайнберга приводит к эволюции популяции. События и процессы, приводящие к изменению генофондов популяции, называют **элементарными эволюционными факторами.** Принято выделить следующие элементарные факторы эволюции (рис. 9.12):

1) популяционные волны;
2) мутационный процесс;
3) изоляция;
4) дрейф генов (случайные колебания частот генов);
5) естественный отбор.

Эти 5 факторов – основные движущие силы эволюции. Поскольку в больших популяциях эти факторы незначительно меняют частоты генов, в них сохраняется закон Харди-Вайнберга.

1. Популяционные волны или ***волны жизни*** – периодические либо непериодические колебания численности особей в природных популяциях, приводящие к случайным колебаниям частот генов. Причинами резких непериодических снижений численности популяции могут быть стихийные бедствия: засухи, пожары, наводнения. Популяционные волны играют

большую роль в ходе микроэволюции. С возрастанием численности популяции увеличивается вероятность появления новых мутаций и их комбинаций. Если в среднем один мутант появляется на 10 тыс. особей, то при возрастании численности популяции в 100 раз общее число мутантов увеличится во столько же раз. После спада волны численности генофонд популяции может уже оказаться иным: часть мутаций может случайно исчезнуть из-за гибели несущих их особей, а частота встречаемости других мутаций может повыситься. Таким образом, популяционные волны сами по себе не вызывают наследственную изменчивость, а только способствуют изменению частот аллелей и генотипов; они являются поставщиком исходного материала для действия естественного отбора.

Случайным колебаниям частот генов в популяциях способствуют *миграции*. Иммиграция поставляет новые аллели и комбинации генотипов в популяцию, эммиграция ведет к элиминации из популяции некоторых аллелей и генотипов в популяции, что приводит к изменению их соотношения.

2. Мутационный процесс. Мутации изменяют частоту генов в популяции. Доминантные мутации проявляются уже в первом поколении и сразу же подвергаются действию естественного отбора. Рецессивные мутации сначала накапливаются в популяции (т.к. не проявляются в гетерозиготном состоянии) и только с появлением рецессивных гомозигот подвергаются действию естественного отбора. Насыщенность популяций мутациями называется ***генетическим грузом***.

3. Изоляция – это ограничение свободы скрещивания. Различают несколько типов изоляции: географическая (горы, реки, проливы, большие расстояния), генетическая (неполноценность гибридов), экологическая (обитание в различных экологических нишах при разных температурах), морфофизиологические (различия в строении половых органов), социальная (принадлежность к определенному слою общества, национальные традиции), этологическая (религиозные мотивы ограничения браков) и т.д. В малых популяциях часто наблюдается ***инбридинг*** – кровно-родственные браки между родственниками 2 и 3 степени (1-50%, 2-25%, 3-12,5%,

4-6,3%). Эти браки нежелательны, т.к. они приводят к инбредной депрессии, поскольку у родственников высокая степень вероятности гетерозиготности по одному и тому же рецессивному патологическому гену.

4. Дрейф генов и генетико-автоматические процессы, характеризуются случайным резким увеличением частот каких-либо генов в малых популяциях (изолятах). Эффект дрейфа генов наблюдается при резком увеличении численности какой-либо небольшой группы особей, частоты генов в которой существенно отличаются от исходной популяции. Примером дрейфа генов являются эффект бутылочного горлышка и эффект основателя.

*Эффект бутылочного горлышка (*рис. 9.13) - сокращение генофонда (т.е. генетического разнообразия) популяции вследствие прохождения периода, во время которого по различным причинам происходит критическое уменьшение, а в дальнейшем - восстановленное её численности. Сокращение генетического разнообразия, безусловно, приводит к изменению частот аллелей и генотипов.

Эффект основателя - явление снижения и смещения генетического разнообразия при заселении малым количеством представителей рассматриваемого вида новой географической территории. При таком заселении малое количество исходных особей, имеющих частоты аллелей (или других генетических маркеров) случайно отклоняющиеся от характерных для данного вида в среднем, дают начало новым популяциям. В образовавшихся популяциях частоты рассматриваемых аллелей будут так же смещены, как и в исходной группе особей. Эффект основателя имеет большое значение для филогенетики популяций — изучения степени родства между популяциями и путей расселения видов. В частности, эффект основателя имеет значение для оценки путей расселения древних людей, а также степени родства между современными популяциями или народами.

5. Естественный отбор. Элиминирует из популяции менее удачные комбинации генов и генотипов и избирательно сохраняет наиболее выгодные для существования комбинации, тем самым изменяя частоту генов. Интенсивность естественного отбора даже в современных человеческих

популяциях довольно высокая. Это объясняется высокой частотой спонтанных абортов – около 50% всех зачатий, мертворождений – 3%, ранней детской смертности – 2%. Кроме того, около 20% людей не вступают в брак и примерно 10% браков бесплодны. Таким образом, около 75% людей не вносят вклад в генофонд будущих поколений.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД

Это метод изучения хромосом. Хромосомные структуры можно изучать в интерфазных ядрах и на препаратах метафазных хромосом.

Для анализа интерфазных ядер обычно используются клетки эпителия слизистой щеки, в ядрах которых, окрашенных орсеином, идентифицируется *половой хроматин* (тельце Барра). Анализ полового хроматина также может проводиться в клетках слизистой влагалища, волосяных луковиц, спермы, сегментоядерных лимфоцитах.

В настоящее время наиболее широко используемым цитогенетическим методом является *анализ метафазных хромосом*, который проводится с целью анализа кариотипа, идентификации числа и морфологии хромосом. В медицинской цитогенетике главная задача кариотипирования – ответить на вопросы: нормален ли хромосомный набор и в чем состоит найденное отклонение.

Существуют прямые и непрямые методы цитогенетики. При прямом методе для исследования берут клетки, активно делящиеся в организме (эмбриональные ткани, костный мозг, фибробласты кожи и др.). Этот метод имеет сравнительно узкое применение, преимущественно в цитогенетических исследованиях новообразований кроветворной системы.

Кариотипирование

Отправным моментом в изучении кариотипа служит непрямой метод, который заключается в получении клеточной популяции с высокой митотической активностью - *культивирование*. Для этого наиболее часто используются лимфоциты периферической венозной крови, также можно культивировать клетки тканей эмбрионов человека, амниотической жидкости, опухолей. Непрямые методы связаны с предварительным культивиро-

ванием выделенных из организма клеток в питательной среде in vitro в термостате (инкубаторе) при 37^0С в течение 48-72 часов.

Этапы приготовления препаратов метафазных хромосом:

1. Культивирование клеток крови человека (чаще лимфоцитов венозной крови) на питательных средах.
2. Стимуляция митозов фитогемагглютинином (ФГА).
3. Добавление колхицина (разрушает нити веретена деления) для остановки митоза на стадии метафазы.
4. Обработка клеток гипотоническим раствором (хромосомы расходятся и лежат отдельно друг от друга).
5. Приготовление препаратов на предметных стеклах.
6. Окрашивание хромосом.
7. Цитогенетический анализ хромосомных препаратов.

Первой манипуляцией с размножающимися клетками при приготовлении препаратов хромосом является воздействие на клетки *колхицином*, который останавливает митотическое деление на стадии метафазы, обеспечивая, тем самым, накопление метафазных пластинок и способствуя последующему разбросу хромосом на предметном стекле благодаря дезорганизации митотического веретена деления и укорочению хромосом. Оптимальная продолжительность воздействия колхицина составляет 1,5-2 ч.

Вторая обязательная манипуляция при приготовлении препаратов хромосом – воздействие на клетки *гипотоническим раствором* с целью разобщения хромосом набора. Для этого используются разные по составу и концентрации солей растворы, обработку ими культур проводят при комнатной температуре или при +37°С. Чаще всего применяют 0,55% (0,07М) раствор хлорида калия, в котором лимфоциты инкубируют в течение 5-10 мин.

Следующей процедурой является *фиксация*. Обязательным компонентом применяющихся фиксаторов служит ледяная уксусная кислота, которую смешивают с метиловым или этиловым (абсолютным) спиртом в соотношении 1:3. Саму процедуру фиксации проводят в разных вариантах, при этом важно проведение клеток через несколько смен фиксатора.

Ответственной манипуляцией, от которой зависит качество препарата, является нанесение взвеси фиксированных клеток на предметное стекло. Ее основное назначение – получить на предметном стекле хороший разброс, так чтобы все хромосомы метафазной пластинки лежали раздельно.

Методы окраски хромосом:

Рутинная окраска

Для равномерной (рутинной) окраски хромосом по длине используют основные красители: азур-эозин, основной фуксин, орсеин и др. (рис. 9.14-А). До окраски высушенные препараты можно хранить неограниченно долгое время. Чаще всего применяют краситель Романовского-Гимзы или азур-эозин. Эти красители дают интенсивное окрашивание хромосом. Рутинная окраска позволяет охарактеризовать число и морфологию хромосом, выявить некоторые структурные нарушения, в частности, поломки, межхромосомные обмены с образованием дицентрических хромосом, крупные транслокации.

Дифференциальная окраска

Около четверти века назад в практику хромосомного анализа стали широко входить методы дифференциального окрашивания хромосом (рис. 9.14-Б). Впервые метод был предложен Касперссоном, который показал, что при обработке препаратов митотических хромосом с помощью флуорохрома акрихиниприта во флуоресцентном микроскопе видны поперечные светящиеся полосы (бэнды), расположение которых характерно для каждой хромосомы. Этот прием цитологического анализа в сочетании с генетическими наблюдениями уже в настоящее время позволил начать составление хромосомных карт человека, то есть находить места расположения генов на определенных участках хромосом. Молекулярные механизмы такой специфической окраски до сих пор еще не ясны, многие исследователи способность отдельных участков хромосом к окрашиванию связывают с их химическими различиями и неравномерной конденсацией разных участков по длине хромосомы.

Главное назначение дифференциальной окраски – точная идентификация всех хромосом кариотипа.

Различают следующие способы дифференциальной окраски хромосом (рис. 9.15-А):

Q-окраска - флуоресцентная окраска с использованием флюорохромов. Большинство флюорохромов имитирует зеленое, а иногда оранжевое и даже красное свечение. Для исследования хромосом в этих случаях применяют мощные рутинно-кварцевые лампы. Из флюорохромов чаще всего используют производные акридина (акрихин и акрихин-иприт). акрихина иприта). Рисунок каждой хромосомы, окрашенной Q-методом, специфичен по числу, размерам и положению по-разному светящихся сегментов, что и обеспечивает точную идентификацию всех хромосом. Q-окраска является индикатором хроматина с повышенным содержанием АТ-пар оснований, поскольку они интенсивнее флюоресцирует в соответствующих участках хромосомы.

G-окраска. Методики, с помощью которых получают G-окраску хромосом, разнообразны. Общим для всех них является:

Во-первых, определенная предварительная обработка препаратов хромосом перед окрашиванием; чаще всего применяется предварительная обработка трипсином.

Во-вторых, использование для окрашивания нефлюоресцирующих основных красителей (азуры, метиленовый синий);

По числу, величине и расположению выявляющихся сегментов рисунок G-окраски аналогичен рисунку при Q-окраске. На G-окрашенных хромосомах наблюдаются изменения рисунка линейной дифференцированности хромосом, связанные со степенью митотической конденсации хромосомы.

R-окраска. Рисунок при R-окраске противоположен рисунку при G–окраске. Ключевым моментом выполнения R-окраски является нагревание препаратов хромосом при высокой температуре (+80-90^{0}С). Окрашивание препаратов можно проводить как смесью красителей Романовского-Гимзы, так и акридиновым оранжевым.

Избирательная окраска

Помимо дифференциальной окраски в цитогенетике используют избирательную окраску хромосом, т.е. специфическое окрашивание отдель-

ных районов индивидуальных хромосом.

С-окраска. Метод основан на кратковременном воздействии на препараты хромосом щелочью. В отличие от предыдущих трех типов дифференциальной окраски при С-окраске в каждой хромосоме человека краситель воспринимает лишь центромерный и околоцентромерный районы во всех хромосомах и длинное плечо Y-хромосомы. По локализации выделяют 4 типа С-гетерохроматина: собственно центромерный, присущий всем хромосомам, околоцентромерный гетерохроматин хромосом 1, 9 и 16, гетерохроматин коротких плеч акроцентрических аутосом, гетерохроматин длинного плеча Y хромосомы. Метод С-окраски позволяет лучше, чем какой-либо другой метод, оценивать хромосомный полиморфизм. Используется для уточнения характера хромосомных перестроек, особенно помогая в идентификации перицентромерных инверсий.

Для выявления ядрышкообразующих районов (ЯОР), расположенных в коротких плечах акроцентрических хромосом, в настоящее время применяют метод, основанный на использовании нитрата серебра и проведении процедуры серебрения при нагревании (рис. 9.15-Б). Называют эту пробу ***Ag-окраской***, что отражает использование соединений серебра. На удачных препаратах хромосомы окрашены в желтый цвет. В коротких плечах акроцентрических хромосом четко выявляются темно-коричневые или черные точечные образования – гранулы серебра. Хотя тонкие механизмы окраски ядрышкообразующих районов хромосом пока не известны, однако установлено, что окрашивающимся субстратом при Ag-окраске являются не ДНК рибосомных генов и не рРНК, а кислые белки, по-видимому, входящие в структуру ядрышка и связанные с рРНК (рибонуклеопротеиды). Поэтому метод серебрения позволяет выявить не всякий ЯОР, а лишь функционирующий в предшествующей митозу интерфазе. При этом предполагается, что интенсивность их окрашивания соответствует интенсивности функционирования.

FISH-окраска

В цитогенетике млекопитающих последние годы ознаменованы стремительным развитием новых методов исследований, в основе которых

лежит флуоресцентная *in situ* гибридизация нуклеиновых кислот (FISH) (рис. 9.16).

Метод FISH оказался крайне эффективным инструментом изучения генома человека и других видов млекопитающих, реорганизации хромосом в ходе эволюции, анализа хромосомных перестроек как при малигнизации клеток, так и при врожденных патологиях. Гибридизация *in situ* дала начало огромному числу методических разработок, которые уже нашли широкое применение в практической медицине, а современная хромосомная диагностика продвинулась значительно дальше самых смелых фантазий цитологов 80-х годов.

Значительную роль в развитии новых вариантов FISH сыграл приход новых методов регистрации микроскопических изображений. Замена фотонасадок CCD-камерами (CCD-камерами с высоким уровнем разрешения, охлаждаемыми CCD-камерами с длительным временем накопления сигнала и т.д.) с соответствующим компьютерным обеспечением не просто упростила и ускорила процесс регистрации микроскопических изображений, но и предоставила экспериментатору принципиально новые возможности обработки изображений, записанных в цифровом формате. Такой метод хромосомного анализа позволяет выявлять и идентифицировать любые транслокации материала негомологичных хромосом. Окраска хромосомы более чем одним цветом свидетельствует о наличии транслокации. Цвет хромосомных районов позволяет однозначно определить хромосомы, которые были вовлечены в данные хромосомные перестройки. Имеются в наличии коммерчески доступные наборы меченых ДНК проб и необходимых систем детекции. Метод позволяет проводить быструю идентификацию значительной части внутри- и межхромосомных перестроек.

Классификация хромосом

Для того, чтобы было легче разобраться в сложном комплексе хромосом человека, предлагалось множество способов их классификации (по форме, по размерам и т.д.). В 1960 г. в г. Денвере (США) была принята единая классификация хромосом человека, которой до сих пор пользуются все цитогенетики. Согласно ***Денверской классификации*** (рис. 9.17-А)

хромосомы группируются попарно (гомологи) в порядке уменьшения размера и делятся на 7 групп, которые обозначают буквами латинского алфавита от A до G. Как видно на кариограмме, половая X-хромосомы относится к группе C, Y-хромосома – к группе G.

Для анализа дифференциально окрашенных хромосом используется, так называемая, ***Парижская номенклатура***, принятая в Париже в 1979 году. Благодаря специфической окраске разных районов по длине хромосомы появляется возможность точной идентификации каждой хромосомы (рис. 9.17-Б).

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД

Нарушения активности ферментов при наследственных заболеваниях выявляются при помощи биохимических методов. Локализация соответствующих повреждений в самом наследственном материале, т.е. в структуре ДНК, может быть выявлена молекулярно-генетическими методами. Это исследование проводится на образцах ДНК. Ранее для молекулярно-генетического анализа использовался метод гибридизации нуклеиновых кислот (комплементарное соединение с мечеными фрагментами ДНК - «зондами». ДНК-зондом может быть одна радиоактивная нить ДНК, несущая мутацию). Специфичность гибридизации нуклеиновых кислот позволяет обнаружить единственный ген среди десятков тысяч. Для широкого применения методов рекомбинантной ДНК необходимо создание библиотек радиоактивных зондов всех последовательностей ДНК генома человека.

Наиболее широкое применение нашел метод полимеразной цепной реакции синтеза ДНК (ПЦР).

Полимеразная цепная реакция синтеза ДНК

История открытия метода ПЦР. Принцип метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) был разработан К. Мюллисом в 1983 году. Открытие ПЦР стало одним из наиболее выдающихся событий в области молекулярной биологии за последние 20 лет. За разработку ПЦР-анализа К. Мюллис в 1993 году был удостоен Нобелевской премии в области химии. Изящность, простота исполнения, непревзойденные показатели чувстви-

тельности и специфичности принесли новому методу небывалую популярность. За короткое время ПЦР-анализ распространился по всему миру.

ПЦР – исследование включает 3 стадии (рис. 9.18):

1.Выделение ДНК. Образцы ДНК можно получить из периферической венозной крови (лимфоциты), тканей (ворсины хориона, опухоли, костный мозг), спермы, волос, костей и любых других биологических сред и клеток, содержащих ядра. Такой анализ возможен и на живых организмах, и на трупном материале любой давности, даже на самых древних ископаемых останках.

2.Амплификация, т.е. многократное копирование определенного интересующего фрагмента ДНК размером 2-1000 пар оснований.

3. Детекция результатов (производится путем электрофореза амплификатов в в агарозном или полиакриламидном геле и др.)

ПРИНЦИП МЕТОДА ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) - метод амплификации ДНК in vitro, с помощью которого в течение нескольких часов можно выделить и размножить определённую последовательность ДНК в миллиарды раз. Возможность получения огромного количества копий одного строго определённого участка генома значительно упрощает исследование имеющегося образца ДНК.

В основе метода ПЦР лежит природный процесс - комплементарное достраивание ДНК матрицы, осуществляемое с помощью фермента ДНК-полимеразы.

Для проведения амплификации необходимы следующие компоненты (рис. 9.19):

ДНК-матрица (ДНК или ее часть, содержащая искомый специфический фрагмент);

Комплементарное достраивание цепи начинается не в любой точке последовательности ДНК, а только в определенных стартовых блоках - коротких двунитевых участках. При присоединении таких блоков к специфическим участкам ДНК можно направить процесс синтеза новой цепи

только в этом участке, а не по всей длине ДНК цепи. Для создания стартовых блоков в заданных участках ДНК используют две олигонуклеотидные затравки, называемые праймерами.

Праймеры - синтетические олигонкулеотиды длиной 20-30 пар оснований, комплементарные последовательностям ДНК на границах определяемого специфического фрагмента. Выбор специфического фрагмента и подбор праймеров играет важнейшую роль в специфичности проведения амплификации, что сказывается на качестве проведения анализа. Праймеры комплементарны последовательностям ДНК на левой и правой границах специфического фрагмента и ориентированы таким образом, что достраивание новой цепи ДНК протекает только между ними.

Смесь дезоксинуклеотидтрифосфатов (дНТФ) (смесь четырех дНТФ, являющихся материалом для синтеза новых комплементарных цепей ДНК);

Фермент Taq-полимераза - термостабильная ДНК-полимераза, катализирующая удлинение цепей праймеров путем последовательного присоединения нуклеотидных оснований к растущей цепи синтезируемой ДНК;

Буферный раствор (реакционная среда, содержащая ионы Mg2+, необходимые для поддержания активности фермента).

Каждый цикл амплификации включает 3 этапа, протекающих в различных температурных режимах (рис. 9.20).:

1 этап: Денатурация ДНК (расплетение двойной спирали). Протекает при +93-95^{0}С в течение 1 мин.

2 этап: Присоединение праймеров (отжиг). Присоединение праймеров происходит комплементарно к соответствующим последовательностям на противоположных цепях ДНК на границах специфического участка. Для каждой пары праймеров существует своя температура отжига, равная около 55-65^{0}С. Время отжига – 1 мин.

3 этап: Достраивание цепей ДНК. Комплементарное достраивание цепей ДНК происходит от 5’-конца к 3’-концу цепи в противоположных направлениях, начиная с участков присоединения праймеров. Материалом

для синтеза новых цепей ДНК служат добавляемые в раствор дезоксирибонуклеотидтрифосфаты (дНТФ). Процесс синтеза катализируется ферментом термостабильной ДНК-полимеразой (Taq-полимеразой) и проходит при температуре +70-72^{0}С. Время протекания синтеза – 1 мин.

Для получения достаточного количества копий искомого фрагмента ДНК амплификация включает несколько около 40 циклов.

Образовавшиеся в первом цикле амплификации новые цепи ДНК служат матрицами для второго цикла амплификации, в котором происходит образование искомого специфического фрагмента ДНК (ампликона). При многократном повторении циклов синтеза происходит экспоненциальное увеличение числа копий специфического фрагмента ДНК, что позволяет из небольшого количества анализируемого материала, который может содержать единичные клетки микроорганизмов получить достаточное количество ДНК копий для идентификации их методом электрофореза.

Таким образом, ПЦР представляет собой многократное увеличение числа копий (амплификация) специфического участка ДНК катализируемое ферментом ДНК-полимеразой. Накопление ампликонов происходит в геометрической прогрессии по формуле 2^n, где n-число циклов амплификации. Поэтому, даже если в исходном растворе первоначально находилась только одна двухцепочечная молекула ДНК, то за 40 циклов в растворе накапливается около 108 молекул ампликона. Этого количества достаточно для достоверной визуальной детекции этого фрагмента методом электрофореза (рис. 9.21).

Преимущества метода ПЦР как метода диагностики инфекционных заболеваний:

1. Прямое определение дефекта ДНК или наличия возбудителей. Многие традиционные методы диагностики, например иммуноферментный анализ, выявляют белки-маркеры, являющиеся продуктами жизнедеятельности инфекционных агентов, что дает лишь опосредованное свидетельство наличия инфекции. Выявление специфического участка ДНК возбудителя методом ПЦР дает прямое указание на присутствие возбудителя инфекции.

2. *Высокая специфичность*. Высокая специфичность метода ПЦР обусловлена тем, что в исследуемом материале выявляется уникальный, характерный только для данного возбудителя фрагмент ДНК. Специфичность задается нуклеотидной последовательностью праймеров, что исключает возможность получения ложных результатов, в отличие от метода иммуноферментного анализа, где нередки ошибки в связи с перекрестно-реагирующими антигенами.

3. *Высокая чувствительность.* Метод ПЦР позволяет выявлять даже единичные клетки бактерий или вирусов. ПЦР-диагностика обнаруживает наличие возбудителей инфекционных заболеваний в тех случаях, когда другими методами (иммунологическими, бактериологическими, микроскопическими) это сделать невозможно. В течение нескольких часов с помощью ПЦР из одного фрагмента молекулы ДНК можно получить более 50 млрд. идентичных молекул. Таким образом, можно изучить генетический материал, присутствующий в крошечных количествах. Чувствительность ПЦР-анализа составляет 10-100 клеток в пробе (чувствительность иммунологических и микроскопических тестов -1000-100000 клеток).

4. Универсальность процедуры выявления различных возбудителей Материалом для исследования методом ПЦР служит ДНК возбудителя. Метод основан на выявлении фрагмента ДНК или РНК, являющегося специфичным для конкретного организма. Сходство химического состава всех нуклеиновых кислот позволяет применять унифицированные методы проведения лабораторных исследований. Это дает возможность диагностировать несколько возбудителей из одной биопробы. В качестве исследуемого материала могут использоваться различные биологические выделения (слизь, моча, мокрота), соскобы эпителиальных клеток, кровь, сыворотка.

Часто для анализа ДНК недостаточно только амплификации интересующего фрагмента. Для выявления, например, однонуклеотидных замен (single nucleotide polymorphism, SNP-полиморфизма) после ПЦР-амплификации проводится рестрикция амплификата с помощью ферментов - эндонуклеаз рестрикции (часто называются рестриктазами) с последующей визуализацией результатов. Этот метод, сочетающий ПЦР-

амплификацию и рестрикцию, называется ПДРФ-анализ. Принципиальная схема ПДРФ-анализа приведена на рис. 9.22.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ:

1. В чем заключается биосоциальная сущность человека?
2. Перечислите основные методы изучения генетики человека.
3. Дайте характеристику генеалогического метода.
4. Каковы основные типы наследования у человека?
5. Для чего используется близнецовый метод.
6. Сущность биохимический метод.
7. Охарактеризуйте методы рекомбинантной ДНК.
8. В чем заключается метод генетики соматических клеток?
9. Что такое биологическое моделирование?
10. Опишите популяционно-статистический метод.
11. Охарактеризуйте возможности дерматоглифического метода.
12. Для чего используется цитогенетический метод?
13. Каковы преимущества и недостатки молекулярно-генетического метода?
14. Поясните принцип метода полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Лекция 10

МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ. ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

ПЛАН ЛЕКЦИИ:

1. СУЩНОСТЬ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНСУЛЬТИРОВАНИЯ

2. ОЦЕНКА РИСКА НАСЛЕДСТВЕННОЙ И ВРОЖДЕННОЙ ПАТОЛОГИИ

3. ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИГНОСТИКА

4. НЕПРЯМЫЕ МЕТОДЫ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ

5. ИНВАЗИВНЫЕ (ОПЕРАТИВНЫЕ) МЕТОДЫ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ

6. ЭТИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНСУЛЬТИРОВАНИЯ

7. ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

СУЩНОСТЬ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНСУЛЬТИРОВАНИЯ

Медико-генетическое консультирование - это специализированный вид медицинской помощи. Смысл его – **профессиональная** оценка риска рождения в конкретной семье ребенка с наследственной болезнью или врожденным уродством. Оценить такой риск иногда достаточно сложно, но всегда - очень важно, потому что многие из наследственных и врожденных болезней приводят к инвалидности или даже к смерти.

По данным ВОЗ около 2,5% новорожденных появляются на свет с различными пороками развития. При этом 1,5-2% из них обусловлены преимущественно неблагоприятными экзогенными факторами (так называемыми, тератогенами), а остальные имеют преимущественно генетическую природу. Среди экзогенных причин пороков развития (т.е. возника-

ющих под влиянием тератогенных факторов) следует упомянуть биологические (инфекционные заболевания: краснуха, герпес, токсоплазмоз, хламидийная инфекция, цитомегаловирусная инфекция), физические (все виды ионизирующего излучения, радионуклиды) и химические (загрязнения воздуха, воды, пищевые добавки, лекарства, гормональные препараты, никотин, наркотические вещества и многие другие) факторы.

Генетические факторы отражают, так называемый, общий генетический груз популяции, который проявляется более чем у 5% населения планеты. Примерно 1% генетического груза приходится на генные мутации, 0,5% - на хромосомные мутации, около 3-3,5% соответствует болезням с выраженным наследственным компонентом (диабет, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, некоторые опухоли и т.д.). Если к этому добавить, что около 40-50% ранней младенческой (перинатальной) смертности и инвалидности с детства обусловлены наследственными факторами и примерно 30% коек в детских стационарах заняты детьми с наследственной патологией, становится понятной безусловная необходимость правильной и рационально организованной ранней диагностики врожденных и наследственных болезней. Решающая роль в этом принадлежит институтам медико-генетической службы, и в первую очередь тем ее подразделениям, которые обеспечивают пренатальную диагностику, позволяющую не только установить диагноз еще до рождения, но и предотвратить появление на свет детей с тяжелыми пороками развития, с социально значимыми смертельными генными и хромосомными болезнями.

Консультацию врача-генетика можно получить в медико-генетических консультациях - межрегиональных, областных, городских. Кроме того, существуют также Федеральные центры (Москва, Санкт-Петербург, Томск, Новосибирск), где оказывается этот вид медицинской помощи. В ряде городов имеются консультативные медико-генетические кабинеты (в составе поликлиник, женских консультаций, диагностических центров).

Целью генетического консультирования в общепопуляционном смысле является снижение груза патологической наследственности, а цель отдельной консультации – помощь семье в принятии правильного решения

по вопросам планирования семьи.

Медико-генетическое консультирование наиболее эффективно, когда оно проводится как *проспективное консультирование*, когда семья еще только планирует рождение первенца. При этом риск рождения больного ребенка определяется до наступления беременности или в ранние ее сроки.

Ретроспективное консультирование проводится после рождения больного ребенка (врожденные пороки развития, задержка физического развития и умственная отсталость) относительно здоровья будущих детей.

Обратиться за консультацией можно и во время беременности, но этот вариант несколько хуже, особенно – если семья обращается не в первом, а во втором триместре текущей беременности.

В некоторых случаях полезным оказывается *добрачное* медико-генетическое консультирование – например, при наличии в семье наследственных болезней, или болезней с семейным накоплением.

Консультирование всех семей можно признать оптимальным подходом, поскольку в ряде стран такая практика позволила значительно снизить количество инвалидизирующих болезней, а значит – предупредила множество человеческих трагедий. Но "тотальное" медико-генетическое консультирование – чрезвычайная редкость. В абсолютном большинстве стран семьи обращаются к врачу генетику только при наличии факторов риска – особенностей семейной истории, образа жизни супругов, состояния их здоровья. Статистика свидетельствует: таких "семей риска" – около 10%.Такие широкие показания обусловлены фактом: риск рождения ребенка с наследственной болезнью или врожденным пороком развития есть у любой супружеской пары при каждой беременности. Этот риск складывается из многих составляющих:

- наследственного груза, доставшегося от многих поколений предков;
- новых мутаций, происходящих в ДНК яйцеклеток и сперматозоидов;
- неблагоприятных физических, химических и др. влияний внешней среды на организм развивающегося эмбриона;
- неблагоприятных влияний на эмбрион со стороны материнского организма (инфекционные, эндокринные и др. болезни матери).

Любой человек имеет вышеперечисленные факторы риска. Поэтому и нужна количественная оценка их опасности для потомства конкретной семьи. К счастью, в большинстве случаев риск рождения ребенка с наследственной болезнью низок – не превышает 5%. Но убедиться в этом позволяет только медико-генетическое консультирование.

В ряде же случаев такой риск исчисляется в более высоких цифрах – в семьях, имеющих отягощенную наследственность, при высоковероятном действии на организм супругов вредных факторов окружающей среды, наличии у женщины некоторых заболеваний. При таких ситуациях медико-генетическое консультирование еще актуальнее, поскольку позволяет избежать многих трагических для семьи последствий.

ОЦЕНКА РИСКА НАСЛЕДСТВЕННОЙ И ВРОЖДЕННОЙ ПАТОЛОГИИ

На приеме у врача-генетика "взвешиваются" все основные составляющие вышеуказанного риска. Наиболее трудоемкий процесс – *оценка сегрегационного генетического груза,* т.е. той неблагоприятной наследственности, которая досталась нам от сотен поколений предков. Такой груз имеется у каждого человека – ведь было бы наивным полагать, что вездесущий мутационный процесс совершенно не затронул гены ваших прародителей. Это можно расценить как претензию на статус "Человека Идеального". На самом деле, *каждый человек является носителем в среднем 3-4 генов наследственных болезней***.** Это крайне приблизительный подсчет, по факту же количество патологических мутаций в геноме любого человека существенно больше.

Оценка сегрегационного груза в семье начинается с составления родословной семьи. Родословная позволяет оценить, с каким количеством родственников предстоит "работать" врачу-генетику, определить тип наследования болезней в этой семье (если таковые имеются) и дать еще много полезной информации. В основу родословной ложится история болезней всех известных родственников и предков. Врача интересуют все случаи тяжелых болезней, повторяющихся из поколения в поколение, а так

же близкородственные браки в семье.

Обязательно уточняется, было ли бесплодие, выкидыши, рождение детей с пороками развития, или умственной отсталостью. Поэтому, отправляясь на прием, необходимо поговорить с родственниками и уточнить все неясности.

Если в семье выявляется наследственное заболевание, то по составленной родословной специалист определит, каким образом оно передается и каков процент риска его передачи потомству. Если есть риск наследования ребенком генетической патологии, то врач расскажет о возможных методах обследования до зачатия и во время беременности.

Медико-генетическая консультация состоит из трех этапов:

I этап. Уточнение диагноза.

II этап. Прогнозирование – определение генетического риска;

III этап. Заключение и советы родителям.

На **I этапе** консультирования всегда начинают *с **уточнения диагноза наследственной болезни,*** поскольку точный диагноз является необходимой предпосылкой любой консультации.

Уточнение диагноза в медико-генетической консультации проводится с помощью *генетического анализа.*

При этом во всех без исключения случаях применяется *генеалогический метод исследования.* При условии тщательного составления родословной он дает ценную информацию для постановки диагноза наследственной болезни.

Не менее чем в 10% случаев применяется *цитогенетическое исследование.* Это необходимо для прогноза при установленном диагнозе хромосомной болезни и уточнении диагноза в неясных случаях при врожденных пороках развития.

Биохимический и иммунологический методы не являются специфичными для генетической консультации, но применяются так же широко, как и при диагностике не наследственных заболеваний.

Кроме того, в процессе генетического консультирования иногда возникает потребность *дополнительного параклинического обследования.* В

таких случаях больного или его родственников направляют в соответствующие специализированные учреждения.

На **II этапе** определяют ***прогноз для потомства***.

Генетический риск может быть определен либо путем теоретических расчетов с использованием методов генетического анализа и вариационной статистики, либо с помощью эмпирических данных (на основе таблиц эмпирического риска).

При моногенных, менделирующих болезнях прогноз основывается на расчете вероятности появления потомства в соответствии с генетическими закономерностями. При этом, если известен тип наследования данного заболевания и по родословной удается установить генотип родителей, оценка риска сводится к анализу менделевского расщепления. Если у пробанда установлена вновь возникшая мутация, то риск рождения ребенка с такой же патологией незначителен.

При хромосомных болезнях определение риска повторного рождения потомства с хромосомными аномалиями зависит от того, каковы кариотипы родителей (мозаицизм, структурные аномалии хромосом). В случае отсутствия нарушений в кариотипе родителей вероятность повторного рождения ребенка с хромосомной аномалией оценивается по эмпирическим данным для каждого вида аномалии с учетом возраста родителей.

При мультифакториальных заболеваниях основой оценки риска являются эмпирические данные о популяционной и семейной частоте каждого из них.

Специфический генетический риск принято считать:

- до 5% – низким;
- до 10% – повышенным в легкой степени;
- до 20% – средним;

выше 20% – высоким.

Генетический риск средней степени расценивают как противопоказание к зачатию или показание к прерыванию уже имеющейся беременности.

Возможность проведения пренатальной диагностики является определяющей для принятия положительного решения в отношении заверше-

ния беременности.

III этап. ***Представление заключения.***

Заключительные этапы консультирования требуют самого пристального внимания. Нельзя получить правильный эффект консультирования, если пациенты неправильно поймут объяснения врача-генетика.

Для достижения цели консультирования при беседе с пациентами следует учитывать уровень их образования, социально-экономическое положение семьи, структуру личности и взаимоотношения в семье.

Толкование риска должно быть приспособлено к каждому случаю индивидуально.

Кроме того, роль врача не должна сводиться только к объяснению смысла риска – *врач должен помочь в принятии решения.*

Медицинские задачи консультирования решаются легче, чем социально-этические проблемы. Не вызывает сомнения, что чем тяжелее наследственная болезнь, тем настоятельнее врач должен рекомендовать отказаться от деторождения. Однако при одной и той же болезни, при одной и той же вероятности рождения больного ребенка разная обстановка в семье требует различных подходов в объяснении риска.

В любом случае принятие окончательного решения о деторождении остается за семьей.

Эффективность медико-генетического консультирования значительно возрастает благодаря использованию современных методов пренатальной (дородовой) диагностики. Она позволяет задолго до рождения определить заболевание и, если необходимо, прервать беременность. По результатам медико-генетического консультирования женщины направляются на пренатальную диагностику.

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИГНОСТИКА

Пренатальная диагностика – это диагностика врожденной и наследственной патологии плода на этапе внутриутробного развития.

*Объектом*пренатальной диагностики является зародыш человека на разных этапах внутриутробного развития. Человеческий зародыш сегодня

доступен для самых разнообразных исследований и диагностики практически на любой стадии развития.

В ходе пренатального медико-генетического консультирования врач-генетик определяет:

- показания, метод и сроки проведения инвазивной манипуляции (совместно с врачом экспертом УЗИ);

- методы лабораторной диагностики плодного материала (совместно с врачом лаборантом-генетиком).

Завершается данный этап медико-генетического консультирования оформлением информированного добровольного согласия или отказа беременной на инвазивную процедуру (манипуляцию). При этом бланк согласия или отказа заполняется лично беременной и с личной ее подписью вклеивается в амбулаторную карту.

Врач-генетик информирует беременную женщину о результатах проведенного неинвазивного скрининга и клинической картине возможного врожденного наследственного заболевания; объясняет смысл и значение индивидуального риска для принятия решения о дополнительном обследовании, уточняющем диагноз будущего ребенка; разъясняет цели, задачи и суть предлагаемого дополнительного обследования, (в т.ч. инвазивного), для постановки диагноза врожденных пороков развития (ВПР) и хромосомных аномалий (ХА) у плода.

Основные показания для направления беременной на пренатальную диагностику во всем мире примерно одинаковы:

1) возраст женщины старше 35 лет (в России по приказу Минздрава 1993 года - старше 39 лет);

2) наличие не менее двух самопроизвольных выкидышей (абортов) на ранних сроках беременности;

3) наличие в семье ребенка или плода от предыдущей беременности с болезнью Дауна, другими хромосомными болезнями, с множественными врожденными пороками, семейное носительство хромосомных перестроек;

4) многие моногенные заболевания, ранее диагностированные в семье или у ближайших родственников;

5) применение перед и на ранних сроках беременности ряда фармакологических препаратов;

6) перенесенные вирусные инфекции (гепатит, краснуха, токсоплазмоз и др.);

7) облучение кого-нибудь из супругов до зачатия.

Пренатальная диагностика наследственных болезней – комплексная, быстроразвивающаяся область медицины, использующая ультразвуковую диагностику, хирургическую технику и лабораторные методы. Методы, применяемые для пренатальной диагностики, целесообразно разделить на непрямые, когда объектом исследования является беременная женщина, и прямые, когда исследуется сам плод. Прямые методы пренатальной диагностики могут быть инвазивными (оперативными) и неинвазивными. Для каждого метода есть свои показания и противопоказания, разрешающие возможности и осложнения. Тактика пренатальной диагностики должна быть строго индивидуализирована в соответствии с конкретной ситуацией и состоянием беременной.

НЕПРЯМЫЕ МЕТОДЫ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Следует отметить, что основное назначение непрямых методов - отбор женщин групп высокого риска для дальнейшего углубленного наблюдения. Наряду с бактериологическими исследованиями на скрытые инфекции и акушерско-гинекологическим осмотром важная роль принадлежит медико-генетическому консультированию. При этом уже на уровне женских консультаций женщина может получить информацию о том, относится она или нет к группам высокого риска рождения больного ребенка.

Среди непрямых методов пренатальной диагностики особенно важная роль принадлежит исследованию маркерных эмбриональных белков в сыворотке крови матери:

1) сывороточные маркеры крови матери – тройной тест (альфафетопротеин (АФП), хориальный гонадотропин (ХГЧ), неконьюгированный эстрадиол (НЭ)).

2) новые сывороточные маркеры: бета-коровый фрагмент ХГЧ (в

моче), белок беременных PAPP-A.

3) клетки плода (эритробласты, лимфоциты) в кровяном русле матери.

Все вышеперечисленные белки являются эмбрионспецифичными, то есть продуцируются клетками самого плода или плаценты и поступают в кровоток матери, причем их концентрация в сыворотке крови беременных меняется в зависимости от срока беременности и состояния плода. В частности, содержание АФП возрастает при открытых дефектах нервной трубки (экзенцефалия, мозговые грыжи), незаращении передней брюшной стенки, аномалиях почек. В мировой литературе накоплен обширный фактический материал об изменении этих сывороточных белков в норме и при различной патологии, и практически во всех развитых странах проводится скринирование всех беременных женщин на содержание этих белков с целью выявления женщин с высоким риском рождения детей с врожденными и наследственными пороками. Проведенное в оптимальные сроки (15-16-недельной беременности) с использованием трех тест-систем исследование позволяет выявить до 80% плодов с дефектами развития внутренних органов и до 65% - с хромосомными болезнями (например, с болезнью Дауна, популяционная частота которой составляет 1 на 600-650 новорожденных). Естественно, что столь высокая эффективность и соответственно экономическая рентабельность (стоимость содержания одного ребенка с болезнью Дауна в течение года в американском спец. интернате оценивается в 40-50 тыс. долл. США) скринирующих программ могут быть достигнуты только при условии массового скрининга всех беременных с использованием компьютерных программ подсчета риска. Скринирование АФП и ХГЧ во время беременности ведется и во многих медико-генетических центрах России.

К сожалению, сравнительно высокая стоимость иммуноферментного анализа, отсутствие отечественных наборов необходимого качества приводят к тому, что даже в таких городах, как Москва и Санкт-Петербург, менее половины беременных подвергаются скринингу. Причем в большинстве случаев он ограничен только АФП, что резко снижает его диагностические возможности по сравнению со стандартными программами, осно-

ванными на тестировании сразу нескольких маркерных белков.

Ультразвуковое сканирование

Наиболее распространенным и самым эффективным прямым неинвазивным методом исследования плода является ультразвуковое обследование (сканирование) - ультразвуковая диагностика, которая позволяет выявить до 70% плодов с анатомическими пороками (рис. 10.1). Данный метод сегодня является самым простым и эффективным способом диагностики анатомических пороков.

Оптимальным подходом является организация двухэтапного УЗ-скрининга: «акушерского» (выявление грубых пороков и аномалий развития провизорных органов плода в родовспомогательных учреждениях) и «генетического» (прицельная диагностика ВПР в рамках медико-генетического консультирования).

Выявляется около 70% всех состояний плода, сопровождающихся врожденными пороками развития, как изолированных, так и в составе хромосомных и наследственных синдромов.

Ультразвуковые признаки наличия врожденных пороков развития (ВП)Р у плода:

- опережение или отставание плода в росте;
- измененные ЭХО-контуры частей тела и внутренних органов;
- нарушения положения, предлежания и подвижности плода;
- диспропорция частей тела плода.

Ультразвуковые признаки наличия ВПР у плода по провизорным органам:

- поли-, олигогидроамнион
- гипоплазия плаценты
- гипо- или гиперплазия пуповины
- аплазия одной из артерий пуповины
- амниотические тяжи
- кисты плаценты
- пороки развития последа
- нарушения фето-плацентарного кровообращения

Важно подчеркнуть, что метод апробирован уже на десятках, если не сотнях миллионов беременных и его абсолютная безвредность для матери и плода твердо доказана. К сожалению, УЗ-диагностика малоинформативна при хромосомных и особенно моногенных заболеваниях, для выявления которых необходимо использовать клетки самого плода или его провизорных органов (плаценты, оболочек), получаемых оперативными методами.

ИНВАЗИВНЫЕ (ОПЕРАТИВНЫЕ) МЕТОДЫ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Достаточно полная информация о кариотипе зародыша, биохимических и генотипических особенностях его клеток может быть получена только на основании соответствующих исследований непосредственно тканей самого плода или его провизорных органов (плаценты, хориона). Разработаны и широко применяются различные инвазивные методы, позволяющие получать эмбриональный материал на любом сроке беременности.

Все инвазивные манипуляции проводятся под ультразвуковым контролем в стационаре одного дня опытным врачом. После процедуры беременная женщина в течение четырех – пяти часов находиться под наблюдением специалистов. Чтобы избежать возможных осложнений пациентке профилактически назначаются препараты до и после процедуры.

Биопсия ворсин хориона и плацентобиопсия – получение небольшого количества ворсин хориона или кусочков плаценты в период с 8-й по 16-ю неделю беременности (рис. 10.2). Принципиальной разницы между показаниями к применению этих двух способов биопсии нет. Процедура осуществляется трансабдоминально или трансцервикально под контролем УЗИ. Образцы хориона подлежат лабораторной диагностике: цитогенетической; биохимической; молекулярно-генетической. Каких-либо нарушений плаценты, роста плода, появления врожденных пороков развития и увеличения пренатальной смертности после хорионбиопсии не наблюдается. Однако риск осложнений при хорионбиопсии больше, чем при амниоцентезе. Возможны спонтанные аборты (2,5 – 3%), небольшое кровотечение (у 10% женщин при трансцервикальном способе), сокращения муску-

латуры матки (у 2,5% женщин при трансабдоминальном способе), очень редко - маточная инфекция.

Амниоцентез – аспирация амниотической жидкости путем прокола матки через переднюю брюшную стенку). Производится в 16 – 18 недель под контролем УЗИ. (рис. 10.2). Супругов предупреждают, что риск выкидыша 1 – 2%. Исследование амниотической жидкости позволяет диагностировать пол плода, наличие хромосомной патологии, болезней обмена веществ, пороки развития ЦНС. Цитологическое исследование клеток с определением X и Y хромосом в амниотической жидкости дополняют цитогенетическим (выявление хромосомной патологии плода) и биохимическим (определение ферментов для выявления болезней обмена у плода, напр. мукополисахаридоза). При выявлении у плода аномального кариотипа, или значительного изменения в содержании фермента показано прерывание беременности.

Кордоцентез - пункция пуповинной крови плода (рис. 10.3). Оптимальный срок выполнения кордоцентеза – 22-25 недель беременности. Образцы крови являются объектом для цитогенетических (культивируются лимфоциты), молекулярно-генетических и биохимических методов диагностики наследственных болезней. При этом возможно выявление хромосомных болезней, иммунодефицитов, гематологических наследственных болезней. Преимуществом кордоцентеза является то, что кровь более удобный объект для исследований, чем клетки амниотической жидкости. Лимфоциты культивируются быстрее (2 – 3 дня) и надежнее, чем амниоциты. Частота осложнений при кордоцентезе не превышает 2%.

Биопсия тканей плода как диагностическая процедура осуществляется во II триместре беременности под контролем УЗИ.

Для диагностики тяжелых поражений кожи (ихтиоз, эпидермолиз) делают биопсию кожи плода с проведением в дальнейшем патоморфологического исследования.

Биопсию мышц плода производят для диагностики дистрофии Дюшена. Биоптат исследуют иммунофлюоресцентным методом.

Такие методы в указанных и в ряде других случаев дают более пра-

вильные результаты, что позволяет поставить точный диагноз или уверенно отвергнуть его.

Преимплантационная диагностика

С середины 80-х гг. проводятся исследования в направлении ***преимплантационной диагностики.*** При этом в качестве объекта для диагностики наследственных заболеваний предполагается использовать зародыш на ранних стадиях развития. Такая диагностика относится к методам первичной профилактики наследственных болезней. Благодаря ей можно избежать повторных абортов в семьях с высоким риском наследственной патологии.

Получение преимплантационных эмбрионов возможно двумя путями: нехирургическим маточным лаважем и оплодотворением в пробирке (рис. 10.4).

При *маточном лаваже* можно получить еще не имплантировавшийся зародыш в период 90 – 130 часов после оплодотворения. К этому времени зародыш спускается из маточной трубы в матку.

Это процедура безболезненная и безопасная. Соответствующие приспособления (улавливатель, проводник и катетер) уже опробованы.

Процедура не влияет на последующие овариальные циклы и не препятствует будущим беременностям.

Экстракорпоральное оплодотворение и дробление зиготы хорошо известно и давно применяется в акушерской практике в случаях преодоления бесплодия, обусловленного непроходимостью маточных труб.

От полученного зародыша путем микрохирургических манипуляций можно отделить 1-2 клетки, которые и подвергают исследованию. Зародыш же, пока проводят анализ клеток, сохраняют в условиях глубокой заморозки или он продолжает развиваться в искусственных условиях. Подсадка после заморозки может быть сделана во время любого другого овариального цикла.

Диагностика на уровне одной клетки в настоящее время реальна для некоторых болезней. Анализируя молекулярными или цитогенетическими методами полярные тельца или изолированные клетки (бластомеры) дро-

бящихся зародышей, полученных в результате искусственного оплодотворения вне организма матери, можно с достаточной уверенностью определить пол плода (что важно при наличии в семье заболеваний, сцепленных с Х-хромосомой), а также провести молекулярную диагностику некоторых распространенных наследственных заболеваний (муковисцидоз, гемофилия, синдром фрагильной Х-хромосомы) (рис. 10.4).

Имеются сообщения об успешной диагностике, на преимплантационной стадии таких болезней, как: синдром Марфана; миотическая дистрофия; муковисцидоз; талассемия; хорея Гентингтона; мышечная дистрофия Дюшена.

В передовых западных центрах такая доимплантационная диагностика уже проводится и зарегистрированы случаи рождения здоровых детей после такой процедуры. Однако и в этих центрах доимплантационная диагностика находится пока в стадии научных разработок. В России и странах СНГ доимплантационная диагностика наследственных болезней пока отсутствует. Вместе с тем во многих медико-генетических центрах страны широко применяются инвазивные методы получения плодного материала как в первом, так и во втором триместре беременности.

Можно надеяться, что в ближайшее время методические возможности преимплантационной диагностики расширятся как в области получения диагностического материала, так и в области аналитических методов.

В нашей стране успешно используются следующие методы пренатальной диагностики:

1) эффективное УЗИ-скринирование беременных;

2) проблему забора плодного материала на всех сроках беременности;

3) эффективное выявление женщин групп высокого риска рождения детей с ВПР.

4) эффективные цитогенетические и молекулярно-генетические методы диагностики хромосомных и генных болезней у плода.

Актуальными для России являются следующие проблемы:

1) отсутствие программ и наборов для массового скрининга маркерных эмбриональных белков в сыворотке крови беременных;

2) отсутствие оперативных компьютеризированных регистров наследственных болезней;

3) слабая медико-генетическая подготовка врачей;

4) неэффективное медико-генетическое консультирование;

5) плохая информированность врачей и населения о реальных возможностях современных методов пренатальной диагностики.

ЭТИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНСУЛЬТИРОВАНИЯ

В настоящее время отчетливо прослеживается связь научных достижений генетики человека с этическими вопросами.

К появлению новых взаимоотношений между врачом и пациентом, врачом и обществом привели:

- массовое внедрение в медицинскую практику принципиально новых генетических технологий – искусственное оплодотворение, суррогатное материнство, генотерапия, генетическое тестирование;
- коммерциализация медико-генетической помощи и генетических технологий;
- масштабность научных исследований, затрагивающих интересы общества.

Медицинская генетика, как наука, достигла такого прогресса, что готова предоставить человеку возможность решать свою биологическую судьбу. Реализация этого огромного потенциала возможна ***только при строгом соблюдении этических норм.***

Поскольку медицинская генетика имеет дело с больным человеком или его семьей, она должна опираться на выработанные и уже проверенные веками ***принципы медицинской деонтологии.*** Современные моральные принципы обязывают искать компромисс между интересами общества и индивида. Более того, интересы пациента ставятся выше интересов общества.

Не менее актуален ***вопрос сохранения автономии личности***. Этот принцип применительно к медицинской генетике может легко нарушаться

врачом или исследователем при манипуляциях с ДНК, путем сохранения и размножения клеток, клонировании. Принцип автономии личности должен распространяться на потомков обследуемого так же, как сохраняется право наследования имущества.

Еще один важный принцип – ***принцип справедливости*** – учитывает равную доступность ресурсов медицинской помощи.

Проблема состоит в том, что коммерциализация здравоохранения привела к моральной оправданности неравенства уровня медико-генетической помощи в частном здравоохранении, обусловленного рыночными отношениями.

Принцип справедливости относится и к распределению общественных ресурсов между поколениями. С медико-генетической точки зрения общество должно обеспечить заботу о здоровье будущих поколений. Однако возможен «поколенческий эгоизм», то есть изъятие ресурсов у потомков. В то же время невозможен полный приоритет прав и интересов будущего человека перед правами и интересами уже живущих людей.

Наряду с вышеизложенным в современной биоэтике существует ***правило конфиденциальности,*** имеющее прямое отношение к медико-генетическим исследованиям. Соблюдение этого правила требует, чтобы передача полученной при генетическом исследовании информации осуществлялась с полного согласия пациента.

Однако в рамках родословной бывают трудные случаи соблюдения конфиденциальности. При этом возникает вопрос – может ли пациент получить информацию от врача о генетическом здоровье своих родственников, если они на это не согласны, а родственники о генетическом здоровье пациента. И в том и в другом случае это может затрагивать моральные интересы каждой стороны.

Таким образом, все принципы и правила не могут быть применимы абсолютно точно и однозначно. Каждая ситуация требует индивидуальной оценки. Для принятия решения врачу в сложных случаях требуются поддержка и заключение этического комитета.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ:

1. С какой целью проводится медико-генетическое консультирование?
2. Каковы основные показания для медико-генетического консультирования?
3. Какие вопросы решаются в процессе медиго-генетического консультирования?
4. Как производится оценка риска появления в потомстве наследственной и врожденной патологии?
5. Что такое пренатальная дигностика? каковы основные способы пренатальной диагностики?
6. Назовите и охарактеризуйте непрямые методы пренатальной диагностики.
7. Назовите и охарактеризуйте инвазивные методы пренатальной диагностики.
8. Каковы этические принципы медико-генетического консультирования

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Основная литература:

1. Биология: в 2 кн. Кн. 1: Учебник для медиц. спец. вузов / Н.В. Ярыгин, В.И. Васильева, И.Н. Волков, В.В.Синельщикова; под ред. В.Н. Ярыгина. - М.: Изд. ГЭОТАР-Медиа. - 2011.-. Т.1,2.-736 с.: ил.
2. Викторова, Т.В. Биология: Учебник. / Т.В.Викторова, А.Ю. Асанов. - М.: Изд. «Академия», 2013. – 289 с.: ил.
3. Ярыгин, Н.В. Биология [Электр. Ресурс]: учебник: в 2 т. Режим доступа: www.studmedlib.ru / Н.В. Ярыгин, В.И. Васильева, И.Н. Волков, В.В. Синельщикова; под ред. В.Н. Ярыгина. - М.: ГЭОТАР-Медиа.2011.-. Т.1,2.-736 с.: ил.

Дополнительная литература:

1. Лекции по биологии. Ч.1 Цитология и генетика / под ред. Т.В. Викторовой. - Уфа: Изд. БГМУ, 2005. – 189 с.
2. Лекции по биологии. Ч.1 Цитология и генетика [Электр. Ресурс]: Режим доступа: www.studmedlib.ru / под ред Т.В. Викторовой. - Уфа: БГМУ, 2012 – 189 с.
3. Механизмы и методы оценки цитотоксичности: учебное пособие / О.С. Целоусова и др. - Уфа: Изд. БГМУ, 2012. - 108 с.: ил.
4. Механизмы и методы оценки цитотоксичности: учебное пособие [Электр. Ресурс]: Режим доступа: www.studmedlib.ru / О.С.Целоусова и др. - Уфа: Изд. БГМУ, 2012. – 108 с.: ил.
5. Сборник задач по медицинской генетике и биологии: учебное пособие для студентов. / под ред. Т.В. Викторовой. - Уфа: Изд.: БГМУ; УМО. – 2012. – 83 с.
6. Сборник задач по биологии и медицинской генетике: учебное пособие для студентов. [Электр. Ресурс]: Режим доступа: www.studmedlib.ru / под ред. Т.В. Викторовой. - Уфа: Изд.: БГМУ; УМО. – 2012. – 83 с.
7. Викторова, Т.В. Тезаурус. Биологический тематический словарь / Т.В. Викторова, А.Т. Волкова. - Уфа: Изд. ГБОУ ВПО БГМУ, 2012. – 80 с.

8. Викторова, Т.В. Тезаурус. Биологический тематический словарь. [Электр. Ресурс]: Режим доступа: www.studmedlib.ru / Т.В. Викторова, А.Т. Волкова. - Уфа: Изд. ГБОУ ВПО БГМУ, 2012. – 80 с.
9. Мусыргалина, Ф.Ф. Строение эукариотической клетки / Ф.Ф. Мусыргалина., Т.В. Викторова. - Уфа.: Изд.: БГМУ; 2013. – 83 с. : ил.
10. Мусыргалина, Ф.Ф. Строение эукариотической клетки [Электр. Ресурс]: Режим доступа: www.studmedlib.ru / Ф.Ф. Мусыргалина, Т.В. Викторова. - Уфа.: Изд.: БГМУ; 2013. – 83с.: ил.

Интернет-ресурсы:

1. http://school.xvatit.com/index.php?title
2. https://ru.wikipedia.org/wiki/
3. https://www.google.ru/url?

Викторова Татьяна Викторовна
Мусыргалина Фарзана Фаритовна
Лукманова Гульнур Ишмурзовна

Лекции по биологии.
Часть 1. Цитология и генетика

Под ред. проф. Т.В. Викторовой

Лицензия № 0177 от 10.06.96 г.
Подписано к печати 26.11.2014 г.
Отпечатано на ризографе с готового оригинал-макета,
представленного авторами.
Формат 60x84 $^{1}/_{16}$. Усл.-печ. л. 7,4.
Тираж 1400 экз. Заказ № 12,96

450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3,
Тел.: (347) 272-86-31
ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России

Коллектив преподавателей кафедры биологии БГМУ (2015 г.):

Викторова Татьяна Викторовна (д.м.н., профессор, зав. кафедрой,), Лукманова Гульнур Ишмурзовна (д.м.н., профессор), Мусыргалина Фарзана Фаритовна (к.б.н., доцент), Белалова Гульсасак Валеевна (к.м.н., доцент), Исхакова Гульназ Минуловна (к.м.н., доцент), Куватова Дильбар Нурвилевна (к.б.н., доцент), Измайлова Светлана Михайловна (к.б.н., доцент), Данилко Ксения Владимировна (к.б.н., доцент), Целоусова Ольга Сергеевна (к.б.н., доцент), Волкова Альфия Талхеевна (ст. преподаватель), Сулейманова Эльвира Нуритдиновна (к.б.н., ассистент), Казанцева Светлана Римовна (ассистент), Каримов Денис Олегович (ассистент).