

АТЛАС

ПО ГЕНЕТИКЕ

**Генетика —
наука о наследственности
и изменчивости.**

**Во втором, дополненном
и переработанном, издании освещены
аспекты молекулярной генетики,
хромосомная теория наследственности,
генетика человека, геномика
и многие другие вопросы.**

**«Атлас по генетике» подготовлен
под редакцией академика РАО,
профессора, доктора медицинских наук,
заведующего кафедрой биологии ММА
им. И.М. Сеченова
Николая Васильевича Чебышева**

Оглавление

Глава I. Введение	7
Краткая история развития представлений о наследственности и изменчивости	9
Глава II. Клетка	17
Клеточный цикл деления клетки	21
Подготовка клетки к делению	23
Регуляция клеточного цикла	24
Деление клетки	27
Митоз	27
Значение митоза	30
Полипloidия и политения	31
Амитоз	32
Мейоз	33
Мейоз I	34
Мейоз II	37
Значение мейоза	37
Отличия митоза от мейоза	37
Кроссинговер в профазе I	39
Профаза мейоза I	39
Хиазмы	41
Генетическая рекомбинация с помощью кроссинговера	41
Пахитена и диакинез с помощью светового микроскопа	41
Формирование гамет	42
Сперматогенез	42
Оогенез	43
Апоптоз	47
Глава III. Хромосомы	49
Теломерные участки эукариотических хромосом	54
Теломераза	56
Длина теломер и старение у человека	57
Гетерохроматин и эухроматин	57
Тельца Барра	60
Химический состав хромосом эукариот	61
Уровни компактизации хромосом	62
Глава IV. Менделизм	67
Закономерности наследования. Моногибридное скрещивание	70
Первый закон Менделя	70
Молекулярное (биохимическое) объяснение для некоторых изученных Менделем признаков	72
Неполное доминирование	73
Анализирующее скрещивание	74
Второй закон Менделя	76
Гипотеза «чистоты» гамет	77
Решетка Пеннета	80
Ди- и полигибридное скрещивание. Третий закон Менделя	80
Глава V. Взаимодействие аллельных и неаллельных генов	85
Взаимодействие аллельных генов	86
Полное доминирование	86
Генетика групп крови	87
Группы крови ABO	88
Взаимодействие неаллельных генов	92
Комплементарное взаимодействие генов	93

Эпистатическое взаимодействие генов	94
Бомбейский феномен	95
Полимерное действие генов	96
Множественный аллелизм	97
Плейотропное действие гена. Синдром Марфана	99
Глава VI. Хромосомная теория наследственности	101
Полное сцепление	103
Неполное сцепление	105
Механизм неполного сцепления — кроссинговер	107
Кроссинговер	107
Хромосомный механизм определения пола	109
Наследование признаков, сцепленных с полом	112
Наследование дальтонизма	113
Наследование гемофилии	116
Типы наследования признаков	120
Пенетрантность и экспрессивность	123
Глава VII. Молекулярная генетика	125
Доказательства роли нуклеиновых кислот в хранении и передаче генетической информации	126
Опыты Гриффитса — явление трансформации	126
Опыты Эвери	127
Химический состав и строение нуклеиновых кислот	128
Модель ДНК. Предпосылки издания	132
Модель ДНК по Уотсону и Крику	134
Форма организации двухцепочечной ДНК	138
Рибонуклеиновые кислоты	140
Общая характеристика РНК	140
Структура и функции РНК	140
Строение транспортной РНК (тРНК)	142
Рибосомные РНК (рРНК)	144
Матричные РНК (мРНК)	144
Гетерогенная ядерная РНК	146
Малые ядерные РНК	146
Малые цитоплазматические РНК	147
Репликация ДНК	147
Репликация у прокариот	149
Репликация у эукариот	151
Репарация при повреждении ДНК	154
Различные реакции репарации	157
Фотореактивация, или световая репарация	157
SOS-репарация	159
Реализация генетической информации	161
Транскрипция	161
Транскрипция у прокариот	163
Транскрипция у эукариот	164
Факторы транскрипции	168
Процессинг РНК	169
Кэпирование	170
Полиаденилирование	170
Сплайсинг	171
Альтернативный сплайсинг	172
Трансляция. Биосинтез белка	174
Генетический код	174
Рибосомы	177
Посттрансляционные изменения белков	184

Особенности трансляции у про- и эукариот	187
Факторы трансляции у бактерий	187
Глава VIII. Регуляция экспрессии генов	189
Регуляция экспрессии генов у прокариот	190
Лактозный (LAC) оперон	192
Кatabолитная репрессия	196
Триптофановый (TRP) оперон	196
Регуляция экспрессии генов у эукариот	198
Индукция транскрипционной активности (экспрессия генов) с помощью факторов окружающей среды и биологических факторов (факторов внутренней среды)	199
Типы регуляторных белков и особенности их структуры	202
Белок типа «цинковый палец»	202
Белки типа «лейциновая молния»	204
Белки типа «спираль — петля — спираль»	204
Уровни регуляции экспрессии генов у эукариот	204
Редактирование РНК	205
РНК-интерференция (РНК-и)	206
Метилирование ДНК	207
Обратимые изменения в структуре хроматина	208
Модификация гистонов	208
Ремоделирование хроматина	209
Геномный импринтинг	209
Глава IX. Цитоплазматическая наследственность, или нехромосомная наследственность	211
Геном митохондрий	212
Происхождение митохондрий	215
Геном хлоропластов, в которых происходит фотосинтез	216
Бактериальные плазмиды	218
Этапы развития представления о гене	220
Глава X. Генетика пола	225
Типы хромосомной детерминации пола	227
Определение пола у млекопитающих и человека	228
Вторичные половые признаки	235
Нарушения развития пола	236
XX-самцы и XY-самки	236
Точечные мутации в гене SRY	240
Глава XI. Изменчивость и ее формы	241
Генотипическая изменчивость	244
Мутации	245
Классификация мутаций	245
Генные, или точечные, мутации	246
Мутации, ведущие к изменению структуры гена	247
Мутации, вызванные заменой азотистых оснований	248
Мутации со сдвигом рамки считывания	249
Примеры генных мутаций	250
Хромосомные мутации, или аберрации	251
Робертсоновская транслокация	252
Геномные мутации	252
Мутагенные факторы	254
Мутагенное действие ионизирующих излучений	255
Мутагенное действие химических веществ	255
Мутагенное действие биологических агентов	259

Транспозиции мобильных элементов	259
Транспозоны	260
Инсерционные последовательности (IS) и транспозоны (Tn)	260
Репликативная и нерепликативная транспозиция	262
Транспозиция ретроэлементов	262
Экспансия тринуклеотидных повторов	263
Различные типы тринуклеотидных повторов и их экспансия	265
Нестабильные тринуклеотидные повторы в случаях различных заболеваний	266
Принцип лабораторной диагностики нестабильных тринуклеотидных повторов	268
Глава XII. Генетика человека	269
Кариотип человека	271
Медицинская генетика	274
Генные болезни	275
Примеры некоторых генных болезней	277
Альбинизм	277
Фенилкетонурия (ФКУ)	277
Синдром Марфана	278
Гемоглобинопатии	280
Талассемия	280
Серповидно-клеточная анемия	281
Миодистрофия Дюшенна	281
Хромосомные болезни	282
Синдром трисомии по X-хромосоме XXX	284
Синдром Клайнфельтера	285
Синдром Шерешевского — Тернера	286
Синдром Дауна — трисомия по 21-й хромосоме	287
Синдром Патау — трисомия по 13-й хромосоме	289
Синдром Эдвардса — трисомия по 18-й хромосоме	289
Синдром кошачьего крика	290
Болезни с наследственной предрасположенностью	290
Митохондриальные болезни	291
Болезни экспансии тринуклеотидных повторов	292
Методы изучения генетики человека	293
Использование методов молекулярной биологии и генетики в медицине	300
Получение инсулина	300
Стволовые клетки, терапевтическое клонирование, репродуктивное клонирование	301
Принцип генной терапии	305
Глава XIII. Геномика	307
Геном прокариот	308
Геном эукариот	309
Уникальные последовательности	310
Умеренно повторяющиеся последовательности	312
Высокоповторяющиеся последовательности	312
Подвижные генетические элементы эукариот	313
Геном человека	314
Геномная структура X- и Y-хромосом человека	316
Структура генома Y-хромосомы человека	317
Гомология между X- и Y-хромосомами	319
Использованная литература	319

Глава I

ВВЕДЕНИЕ

Генетика — наука о наследственности и изменчивости.

Наследственность и изменчивость относятся к общим свойствам жизни и проявляются на всех уровнях организации живой материи. Благодаря наследственности и изменчивости осуществляется непрерывность жизни и эволюции живых форм.

Под наследственностью понимают биологический процесс, обуславливающий сходство между родителями и потомством.

Благодаря наследственности генетическая информация, полученная от родителей, реализуется повторением у потомков морфологических, физиологических и биохимических признаков, а также поведенческих реакций.

Наследственность, с одной стороны, сохраняет консерватизм живых организмов: у медведицы рождаются медвежата, у кошки котята, а инфузория туфелька при делении образует дочерние инфузории туфельки. С другой стороны, наследственные признаки могут изменяться в результате мутаций, которые сохраняются отбором, если они способствуют адаптации живых форм к окружающей среде. Таким образом, живым организмам свойственна изменчивость.

Изменчивость — это свойство живых организмов изменяться и существовать в различных вариантах. У человека в результате комбинации наследственных признаков дети одних родителей могут характеризоваться как значительным сходством, так и существенно отличаться друг от друга по многим признакам: по группам крови, полу, цвету глаз и т.д. Благодаря изменчивости возникло многообразие живых форм на нашей планете.

Изменчивость, как и наследственность, играет важную роль в процессе эволюции. Новые свойства организмов, новые организ-

мы появляются благодаря изменчивости, но изменчивость играет роль в эволюции лишь только тогда, когда возникшие изменения наследуются из поколения в поколение.

Краткая история развития представлений о наследственности и изменчивости

Основные законы наследования признаков и свойств организмов в поколениях были открыты Г.И. Менделем (1822—1884), монахом, а позднее настоятелем августинского монастыря в г. Брно (Чехия) (рис. 1).

В 1854—1863 гг. Г. Мендель, изначально математик по образованию провел множество опытов по скрещиванию разных сортов гороха (рис. 2).

Именно математическое образование позволило ему грамотно с точки зрения статистики обработать результаты экспериментов и сделать выводы. Результаты своих опытов он тщательно анализировал, благодаря чему сумел провести хорошо спланированные эксперименты, при этом использовал только чистосортные растения, отличающиеся контрастными (альтернативными) признаками, а также ввел математический подсчет потомства. Заслуга Г. Менделя состоит не только в том, что он установил закономерности наследования признаков, названных через много лет «закона Менделя», но и в том, что он впервые связал развитие признаков с дискретным наследственным материалом, который он назвал «наследственные задатки». Благодаря дискретности наследственного материала контрастные признаки не теряются при гибридизации и проявляются в последующих поколениях. Наследственные задатки, постулированные Г. Менделем, в 1909 г. датский ученый В. Иогансен назвал **генами**, совокупность генов организма — генотипом, а их проявление — фенотипом.

Результаты своих опытов Г. Мендель опубликовал в 1866 г. В это же время он дважды выступал с докладами о своих открытиях в Брюннском обществе испытате-



Рис. 1. Грегор Мендель
(1822—1884)



Рис. 2. Участок, где Мендель проводил опыты по скрещиванию

лей природы. Он также разослал отписки своей статьи многим известным биологам. Открытия Менделя не были поняты. Одна из причин этого — господство в то время гипотезы смешения наследственности у гибридов. Повторное «открытие» законов Г. Менделя произошло в 1900 г. тремя ботаниками, получившими при скрещивании других растений результаты, сходные с опытами Г. Менделя. Это были Г. де Фриз из Голландии (рис. 3), К. Корренс из Германии и Э. Чермак из Австрии.

В связи с этим 1900 г. считается годом рождения генетики как науки. В дальнейшем многие исследователи подтвердили наследование признаков по законам Менделя у растений, животных и человека.

В 1901 г. де Фриз описал существование спонтанных изменений одного или нескольких признаков. Это явление он назвал **мутациями** (от лат. *mutation* — изменение), тем самым заложил **основы учения о мутациях**.

В 1906 г. английский ботаник У. Бетсон предложил термин «генетика» (от лат. *geneticos* — порождение).

В начале XX в. перед научными кругами встал вопрос, что такое ген, существование которого определил Г. Мендель, и где ген располагается в клетке.



Рис. 3. Гуго де Фриз (1848—1935)

В 1902 г. цитологи, немец Т. Бовари и американец У. Сэттон, независимо друг от друга пришли к выводу, что законы Г. Менделя и поведение хромосом при митозе и мейозе соответствуют друг другу. Ученые предположили, что гены находятся в хромосомах. У. Сэттон высказал гипотезу о том, что гены, расположенные в одной хромосоме, будут наследоваться вместе.

В 1906 г. В. Бетсон и Р. Пеннет наблюдали сцепление признаков, но не смогли объяснить и доказать хромосомную природу этого явления.

Новый качественный этап в развитии генетики связан с американским генетиком Томасом Хантом Морганом, лауреатом Нобелевской премии (рис. 4).

В 1909 г. Т.Х. Морган совместно со своими сотрудниками К. Бриджесом, А. Стертевантом и Г. Меллером доказал, что наследственность связана с определенными материальными структурами клетки — хромосомами. В экспериментах с плодовой мушкой (*Drosophila melanogaster*) было доказано, что менделевские задатки, или гены, расположены в хромосомах «как бусины на нитке», между хромосомами одной пары может происходить обмен генами (кроссинговер).

В 1910—1916 гг. Т. Морганом была сформулирована хромосомная теория наследственности. Само название «хромосомы» было дано немецким анатомом В. Вальдейером еще в 1883 г.

В 1925 г. Г.А. Надсон и Г.С. Филиппов доказали возможность получения искусственных мутаций у грибов под действием ионизирующего излучения.

В 1927 г. Г. Меллер (рис. 5) показал, что мутации в генах можно вызвать искусственно, воздействуя рентгеновскими лучами.

В 1920-е гг. перед генетикой встал вопрос о химической природе генов. Благодаря совместной работе физиков, химиков, биофизиков и генетиков начиналось активное изу-



Рис. 4. Томас Морган (1866—1945)



Рис. 5. Герман Меллер (1890—1967)



*Рис. 6. Николай
Константинович
Кольцов
(1872—1940)*



*Рис. 7. Джордж
Бидл
(1903—1989)*



*Рис. 8. Эдвард
Тейтум
(1909—1975)*

чение биологически активных молекул, входящих в состав клетки.

При изучении химического состава хромосом было показано, что хромосомы состоят из белков и нуклеиновых кислот. В 1928 г. и более подробно в 1935 г. наш соотечественник Н.К. Кольцов (1872—1940) (рис. 6) выдвинул гипотезу, что ген это белок, и впервые предложил матричный принцип воспроизведения хромосом, сохраняющий порядок генов. Теория Н.К. Кольцова «ген → белок» оказалась ошибочной.

В 1940-е гг. американские ученые Д.У. Бидл (рис. 7) и Э.Л. Тейтум (рис. 8) доказали, что структура каждого синтезируемого белка закодирована в одном из генов; таким образом, гены управляют синтезом белков, в том числе и ферментов, а ферменты регулируют биохимические процессы в организме. Они предложили формулу: «один ген → один фермент», в последующие годы шло уточнение этого понятия «один ген → один белок», «один ген → один полипептид». Открытие Бидла и Тейтума резко продвинуло вперед развитие молекулярной биологии. Доказанная ими цепочка «ген → фермент → реакция → признак» вдохновила большое количество исследователей на поиски генных дефектов, вызывающих различные заболевания. Возможность заменять «пораженные» гены «здоровыми» создала предпосылки для новой области науки — генной инженерии.

В 1928 г. английский врач-микробиолог Ф. Гриффитс наблюдал наследственные изменения бактериального штамма под влиянием материала, полученного из убитых нагреванием бактерий другого штамма. Такое явление он назвал трансформацией. Через 16 лет, в 1944 г.,

О. Эвери, К. Мак-Леод, М. Мак-Карти доказали на бактериях, что вещества, меняющие наследственные свойства бактерий, относятся к нуклеиновым кислотам (ДНК). Таким образом, О. Эвери показал, что носителем наследственной информации является ДНК.

Еще в 1869 г. швейцарский патологоанатом И.Ф. Мишер обнаружил в клеточном ядре вещество, которое он назвал «нуклеин». В 1889 г. Р. Альтман назвал это вещество нуклеиновой кислотой.

В 1950-е гг. в лаборатории английского физика М. Уилкинса с помощью рентгеноструктурного анализа были получены рентгенограммы нитей ДНК. В 1950 г. американский биохимик Э. Чаргафф показал, что общее количество аденина в каждой молекуле ДНК равно количеству тимина, а количество гуанина — количеству цитозина. Это явление названо комплементарностью (правило Чаргаффа). На основании анализа данных Уилкинса и Чаргаффа, в 1953 г. Д. Уотсон и Ф. Крик расшифровали химическую структуру молекулы ДНК. Открытие Д. Уотсона и Ф. Крика (рис. 9) стало одним из самых крупных открытий в истории науки. С этого времени начинается интенсивный период изучения свойств нуклеиновых кислот.

Открытие структуры нуклеиновых кислот позволило химикам синтезировать их искусственно «в пробирке», что было впервые сделано в 1955 г. Очоа, который синтезировал РНК, а в 1957 г. Корнберг синтезировал ДНК.

Началась эра новой области науки — генной инженерии.

В 1958 г. Ф. Крик сформулировал основной принцип передачи генетической информации «ДНК → РНК → белок» получивший название «центральная догма молекулярной биологии». В 1958 г. ис-



*Рис. 9. Д. Уотсон
и Ф. Крик*

следованиями М. Мезельсона и Ф. Сталы был установлен полуконсервативный способ репликации ДНК.

В 1954 г. американский физик-теоретик Г.А. Гамов предложил гипотезу, согласно которой каждая аминокислота кодируется в ДНК тремя нуклеотидами.

В 1961 г. французы Ф. Жакоб и Ж.Л. Моно открыли информационную РНК (и-РНК), считывающую информацию о структуре белка в ДНК и передающую эту информацию в аппарат белкового синтеза клетки.

В 1965 г. была раскрыта структура транспортной РНК (т-РНК), переносящей аминокислоты к месту синтеза белка — рибосомам.

В 1961—1969 гг. был расшифрован генетический код в работах М.У. Ниренберга, Матея и Очоа.

В 1970 г. Г.Х. Корана и его сотрудники синтезировали молекулу ДНК, состоящую из 27 нуклеотидов. Ими также был синтезирован первый ген (дрожжей) из генов кишечной палочки *Escherichia coli*.

В 1977 г. американцы Р. Робертс и Ф. Шарп, изучая геном аденовируса, пришли к выводу, что генетическая информация в геноме располагается прерывисто. Гены высших организмов, как оказалось, могут состоять из отдельных сегментов, названных *экзонами* (кодирующие участки) и *интронами* «некодирующие участки» ДНК. Это открытие резко меняло представление о гене как непрерывном участке молекулы ДНК-носителе наследственности. В конце 1970-х гг. завершились работы по изучению мобильных элементов генома, открытых в 1940-е гг. Б. Мак-Клинтон (рис. 10), как структурных элементов хромосом, способных перемещаться не только по самой хромосоме, но и к другой хромосоме.

В 1977 г. Сангер разработал метод **секвенирования** ДНК (от англ. *sequence* последовательность) — определение нуклеотидной последовательности в цепях молекулы ДНК.

В 1997 г. Ф. Блаттнер и другие расшифровали геном бактерии *Escherichia coli* (*E. Coli*).

В 2000 г. расшифрован геном дрозофилы.

В 1997 г. с помощью метода ядерной трансплантации была клонирована известная овца Долли (рис. 11).



Рис. 10. Барбара Мак-Клинтон (1902—1992)

Наиболее успешно методику пересадки ядра из клетки кишечника головастика в яйцеклетку лягушки, из которой было удалено собственное ядро, в 1962 г. провел английский ученый Дж. Гердон (рис. 12). Подобные опыты проводились и ранее: в 1940 г. русский эмбриолог Г.В. Лопашев (рис. 13) разработал метод пересадки ядер в яйцеклетку тритона, в 1952 г. американские ученые Р. Бриггс и Т.Дж. Кинг ставили такие же эксперименты.

В результате такой пересадки ядра развилась нормальная лягушка. Правда, Г.В. Лопашев, Р. Бриггс и Т. Дж. Кинг, Дж. Гердон не ставили задачу клонировать тритонов и лягушек, они пытались выяснить, могут ли работать гены ядра дифференцированных клеток, помещенные в зиготу (рис. 14).

В 1999 г. ученые из США клонировали мышь, корову, поросят. В последние десятилетия активно развивается новое направление в молекулярной биологии — геномика, изучающая молекулярную структуру живых организмов. С 1986 г. в Америке выделены крупные денежные средства на изучение генома человека. В 1995 г. появился институт исследования генома человека, возглавляемый Ф. Коллинзом. Он стал руководителем международной програм-

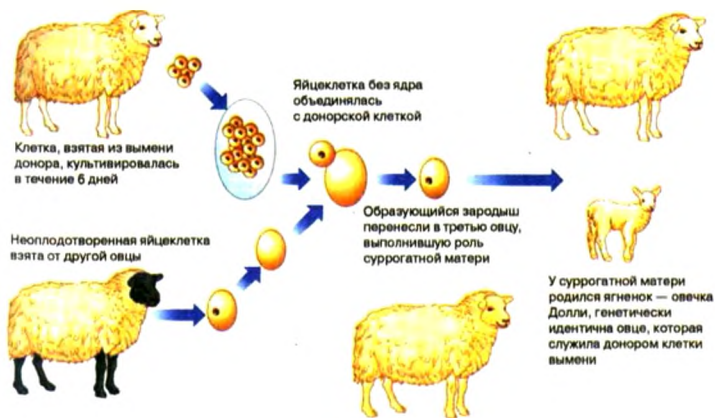


Рис. 11. Овечка Долли была клонирована из половой клетки взрослой овцы. Клонирование вызывает возросший интерес у сельского хозяйства. Высококачественные овцы, полученные в результате селективного скрещивания, могут быть клонированы и получено генетически идентичное потомство вместо генетически варибельного потомства, полученного при половом размножении



Рис. 12. Джон Гердон



Рис. 13. Георгий Викторович Лопашев

мы «Геном человека». Основная задача программы «Геном человека» — это секвенирование последовательности всех молекул ДНК, образующих геном. Расшифровка генома человека в основном была завершена в 2003 г., размер генома человека составляет 3,2 млрд нуклеотидных последовательностей в гаплоидном наборе. Важнейшим итогом секвенирования генома стало определение общего числа генов человека (около 25 000—30 000), большая часть которых (около 22 000) уже идентифицирована. Средний размер одного гена около 3 тысяч пар нуклеотидов. Структура геномов людей разных национальностей, разных расовых и этнических групп на 99,9% идентична. Межиндивидуальная варибельность даже при секвенировании генов представителей белой, желтой и черной рас не превышала 0,1% и была обусловлена, главным образом, однонуклеотидными заменами.

Помимо генома человека, к настоящему времени секвенированы геномы многих других организмов, в том числе около 400 видов бактерий, а также дрожжей, дрозофилы, нематод, японской рыбки *Pufo (Fugu rubripes)* и мыши. На подходе расшифровка геномов крысы, кролика, свиньи, шимпанзе и других организмов.

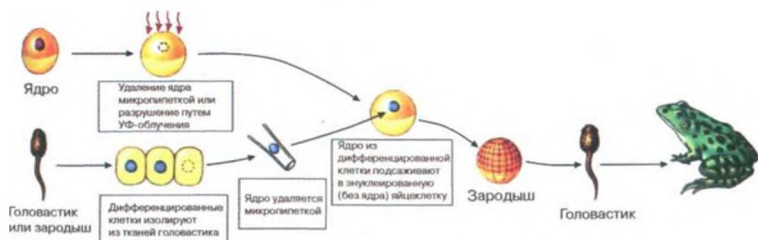


Рис. 14. Опыт Дж. Гердона по пересадке ядра из клетки кишечника головастика в энуклеированную яйцеклетку лягушки

Глава II

КЛЕТКА

Клетка — структурная, функциональная единица живых форм на нашей планете. Клетки эволюционируют на Земле в течение последних 3,5 млрд лет. Сегодня известно два типа клеточной организации: прокариоты и эукариоты (рис. 15—19).

Прокариоты и эукариоты отличаются друг от друга принципиально разным строением их клеток. Типичная эукариотическая клетка в большинстве случаев больших размеров и содержит ядро, окруженное мембраной, в котором находятся хромосомы. Кроме того, эукариот содержит различные органеллы, ограниченные мембраной, такие как митохондрии, пластиды, лизосомы, аппарат (комплекс) Гольджи, а также немембранные органеллы рибосомы и клеточный центр. При этом она устроена существенно сложнее, чем прокариотическая клетка.

У прокариот нет органелл, ограниченных мембранами, и генетический материал в виде кольцевой хромосомы содержится в своей

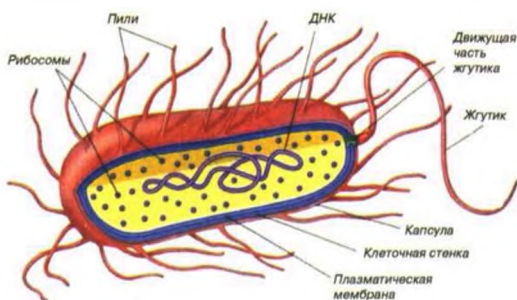


Рис. 15. Схема строения прокариотической клетки

Рис. 16. Строение прокариотической клетки:

1 — клеточная стенка, 2 — плазматическая мембрана, 3 — рибосомы, 4 — запасные питательные вещества, 5 — цитоплазма, 6 — кольцевая молекула ДНК, 7 — мезосома, 8 — пили или фимбриии, 9 — фотосинтетические мембраны, 10 — капсула, 11 — жгутик, 12 — плазмиды

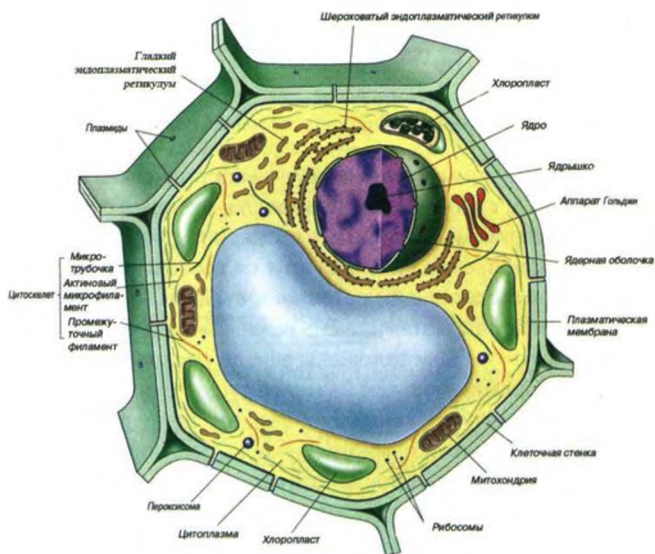
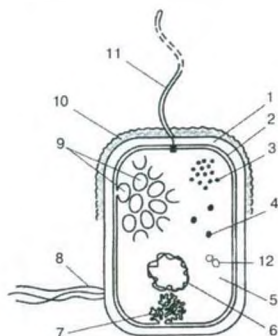


Рис. 17. Строение эукариотической клетки. Растительная клетка

структуре 20% белков, которые участвуют в компактизации и прикреплении ДНК к оболочке бактерии.

Эукариоты могут быть одноклеточными и многоклеточными. К ним принадлежат все макроскопические формы жизни, такие как растения, грибы и животные.

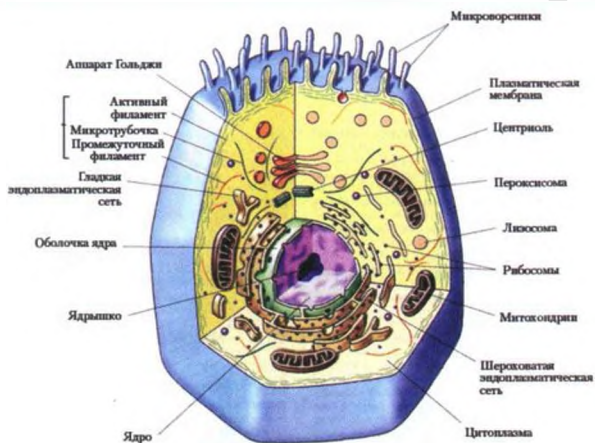
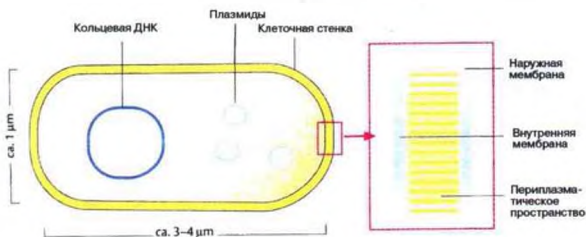


Рис. 18. Строение эукариотической животной клетки

Прокариоты — обычно одноклеточные организмы. К ним относятся бактерии и сине-зеленые водоросли, которые сегодня называют цианобактериями. Эукариоты и прокариоты, вероятно, две ветви живых организмов, отделившихся друг от друга в процессе эволюции клеточных форм жизни на ранних стадиях. Различия между эукариотами и прокариотами очень важны, и хотя основополагающие признаки генов были заложены еще до расхождения этих двух ветвей живых организмов, тем не менее существуют значимые различия между структурой генов и их экспрессией у про- и эукариотов. Как уже упоминалось, многие эукариотические гены разделены на *интроны* и *экзоны*, прокариотические же гены состоят только из *экзонов*. На основании простоты экспериментальных манипуляций большая часть известных молекулярно-генетических исследований была выполнена на прокариотах, в частности на *E. coli*. Эксперименты с клетками и целостными организмами млекопитающих более трудны в проведении, и в течение долгих лет наши знания об экспрессии генов основывались на данных, полученных на *E. coli*. Лишь в начале 80-х гг. XX столетия исследователи смогли начать эксперименты на эукариотических микроорганизмах, таких как дрожжи. Экспрессия генов у дрожжей происходит так же, как у высших животных и человека. Однако сходство все же достаточ-



1



2

3

Рис. 19. Схема строения клетки: 1 — прокариотическая клетка; 2 — животная клетка; 3 — растительная клетка

ное, для того чтобы можно было экстраполировать результаты, полученные на дрожжах, на клетки животных. И это лучший способ достичь прогресса в биологии: сначала исследовать простые организмы, а затем постепенно переходить к исследованиям более сложно устроенных форм.

Клеточный цикл деления клетки

Увеличение числа клеток происходит путем деления исходной клетки. Обычно делению клеток предшествует редупликация хромосомного аппарата, синтез ДНК.

Время существования клетки от деления до следующего деления или смерти называют клеточным (жизненным) циклом (рис. 20).

В течение жизни клетки растут, дифференцируются, выполняют определенные функции, размножаются, гибнут.

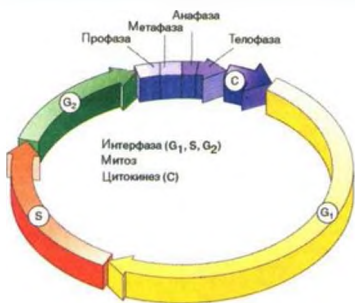


Рис. 20. Схема клеточного цикла соматической клетки

В клеточном цикле выделяют интерфазу включающую подготовку клеток к делению, и само деление (митоз). В жизненном цикле большинства клеток есть периоды (рис. 21, табл. 1), когда клетки выполняют определенные функции, другие вступают в митоз.

Многие клетки млекопитающих входят в особую фазу клеточного цикла, называемуюся G_0 -фаза. В этой фазе гены, кодирующие белки, запускающие процесс деления, «выключаются».

У многих типов клеток «выключенные» гены включаются снова. Однако у высокодифференцированных клеток, таких как нейроны или мышечные клетки сердца (кардиоциты), цикл деления приостановлен и не возобновляется, клетка так и находится в фазе G_0 .

Другие клетки способны постоянно делиться. Они обнаружены в обновляющихся тканях (эпителиальных), в кроветворных органах. Например, клетки покровного эпителия, кроветворные клетки костного мозга или слизистой желудочно-кишечного тракта почти непрерывно делятся, заменяя погибшие. Обычно в любой ткани делится небольшое количество клеток.

Клетки активно делятся после повреждения органов и тканей. Клетки, находящиеся в клеточном цикле, содержат различное количество ДНК, в зависимости от стадий этого цикла.



Рис. 21. Клеточный цикл. Время протекания различных периодов

Продолжительность клеточного цикла у различных объектов

Организм	Продолжительность, ч
Кукуруза	12—20
Лук	13—23
Овес	10
Шпинат	25—35
Мышь эпителий сперматогоний	11—38 26—30
Крыса печень эпителий	14—47,5 9—10,5
Человек эмбриональные фибробласты лейкоциты кожа почка	18,5 18 28 21—27

Мужские и женские половые клетки имеют гаплоидный набор хромосом. При оплодотворении происходит слияние этих клеток, в результате чего образуется диплоидная клетка. Удвоение ДНК происходит в синтетическом периоде интерфазы. Клетки начинают делиться только после этого периода.

Подготовка клетки к делению

Все клетки организма находятся в какой-либо фазе клеточного цикла.

В клеточном цикле выделяют собственно митоз (*M*) и интерфазу. Интерфаза включает пресинтетический (постмитотический) G_1 -период, синтетический (*S*) период и постсинтетический (премитотический) G_2 -период.

Подготовка клетки к делению происходит в интерфазе. Пресинтетический период интерфазы самый длительный. У эукариот он может продолжаться от нескольких часов до нескольких суток.

В пресинтетическом периоде (G_1), наступающем сразу после митоза, клетки имеют диплоидный набор хромосом и генетическо-

го материала ДНК. В этот период начинается рост клеток, синтез белков, РНК. Происходит подготовка клеток к синтезу ДНК (*S*-период). Повышается активность ферментов, участвующих в энергетическом обмене.

В *S*-период (синтетический) происходит репликация молекул ДНК, синтез белков-гистонов, с которыми связана каждая нить ДНК. Синтез РНК увеличивается соответственно количеству ДНК. При репликации две спиральные нити ДНК раскручиваются, рвутся водородные связи между комплементарными азотистыми основаниями, и каждая нить становится матрицей для воспроизводства новых цепочек ДНК. Синтез новых молекул ДНК осуществляется при наличии ферментов. Каждая из двух образовавшихся новых молекул ДНК включает одну старую и одну новую спираль, новые молекулы идентичны старым. Такой способ репликации называют полуконсервативным (рис. 22).

Каждая хромосома состоит из двух сестринских хроматид, содержит ДНК $4c$, число хромосом не меняется ($2n$).

У млекопитающих *S*-период митотического цикла длится 6—12 часов.

В постсинтетический период (G_2) происходит синтез РНК, накапливается энергия в молекулах АТФ, необходимая для деления клетки, завершается удвоение центриолей, митохондрий, пластид, синтезируются белки, из которых строится ахроматиновое веретено деления, заканчивается рост клетки. Ни содержание ДНК ($4c$), ни число хромосом ($2n$) не изменяются.

Продолжительность этого периода — 3—6 часов. Длительность клеточного цикла неодинакова у разных клеток, но постоянна для данной ткани.

Например, в культуре раковых клеток человека длительность G_1 -периода равна 8,5 часа, *S* — 6,2 часа, G_2 — 4,6 часа. Длительность митоза составляет 0,6 часа. Весь клеточный цикл длится 19,9 часа.

Регуляция клеточного цикла

В регуляции клеточного цикла участвуют белки-циклины (А, Б, Д, Е). Они активизируют циклинозависимые протеинкиназы, и те могут формировать специфические белки, участвующие в подготовке клетки к делению. *Циклин-Д* регулирует переход клетки из

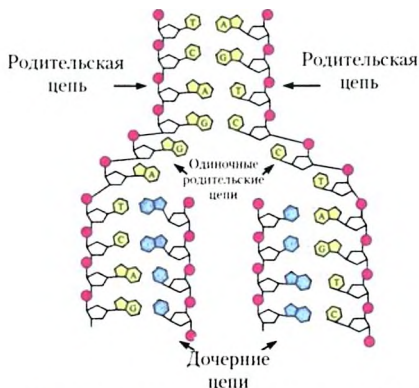
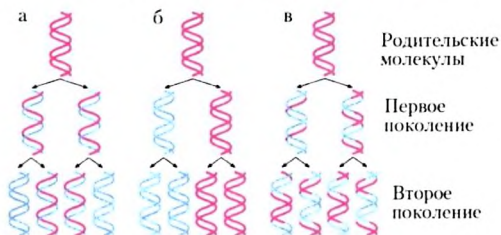


Схема полуконсервативной репликации ДНК



Модели репликации ДНК: а – полуконсервативная, б – консервативная, в – дисперсионная.

Родительские цепи показаны красным цветом, вновь синтезированные – синим

Рис. 22. Полуконсервативный метод репликации и модели репликации ДНК

G_1 -фаза в S -фазу: циклины А и Е активируют синтез ДНК на начальной стадии S -фазы; циклин В регулирует переход клетки из G_2 -фазы в M -фазу.

Клеточный цикл состоит из периодов роста, синтеза ДНК и деления. Продолжительность этого цикла и длительность каждого из его составляющих контролируется наружными и внутренними химическими сигналами. Переход от каждой фазы цикла требует интеграции специфических химических сигналов и точного ответа на эти сигналы. Если сигналы воспринимаются неправильно или если клетка не готова ответить соответствующим образом, клетка может стать раковой.

Современная точка зрения на контроль клеточного цикла заключается в том, что переход между разными фазами цикла (G_1 , S , G_2 , M) регулируется в так называемых контрольных точках (или точках контроля). Точка контроля является механизмом, который поддерживает прохождение через цикл до критического процесса, такого как завершение синтеза ДНК или до репарации разрушенной ДНК. Молекулярный механизм, который определяет точку контроля, является сложным. Однако известно, что два типа белков играют особенно важную роль: *циклины* и *циклинозависимые киназы*, часто обозначаемые как CDK.

CDK являются каталитически-активными компонентами в механизме регуляции клеточного цикла. Эти белки регулируют активность других белков путем переноса на них фосфатной группы. Однако фосфорилирующая активность CDK зависит от присутствия циклинов. Циклины делают возможным выполнение функций CDK путем образования комплексов циклин/CDK. Когда циклины отсутствуют, эти комплексы не могут образовываться и CDK неактивны. Следовательно, прохождение через цикл, т.е. прохождение через каждую точку контроля, требует попеременного образования или деградации комплекса циклин/CDK.

Одна из самых важных точек контроля клеточного цикла *START* и находится в середине фазы G_1 .

Клетка получает как внешние, так и внутренние сигналы в этой точке, которые определяют, когда она готова переходить к S -фазе. Эта точка контроля регулируется циклинами D-типа в сочетании с CDK-4. Если клетка впоследствии направляется через *START* точку контроля комплексом D/CDK-4, в ней может происходить второй круг репликации ДНК. Ингибиторные белки, которые способны определять (детектировать) проблемные ситуации в конце G_1 -фазы, такие как низкий уровень питательных веществ или разрушений ДНК, могут нарушить образование комплекса циклин / CDK и предотвратить вхождение клетки в S -фазу. При отсутствии таких проблем комплекс циклин D/CDK-4 направляет клетку через окончание G_1 -фазы в S -фазу, инициируя репликацию ДНК, которая предшествует клеточному делению.

В опухолевых клетках точка контроля клеточного цикла в типичных случаях нерегулируемая. Это нарушение регуляции возникает в результате генетических дефектов в механизме, который попеременно повышает или понижает количество комплексов цик-

лин/CDK. Например, гены, кодирующие циклины или CDK, могут быть мутантными, либо гены, кодирующие белки, которые отвечают за формирование комплексов циклин/CDK или регулируют количество этих комплексов, также могут быть мутантными. Многие различные типы генетических нарушений могут нарушать регуляцию клеточного цикла с отдаленными последствиями, которые приводят к превращению нормальной клетки в раковую.

Клетки, в которых точка контроля *START* имеет нарушения функционирования, особенно склонны к превращению в раковые. Точка контроля *START* определяет вхождение в *S*-фазу клеточного цикла. Если ДНК в клетке разрушена, важно, чтобы вхождение в *S*-фазу было задержано, для того чтобы репарировать поврежденную ДНК. Иначе ДНК с нарушениями будет реплицирована и передана во все клетки, образованные позднее. Нормальные клетки запрограммированы на то, чтобы сделать паузу в точке контроля *START*, для того чтобы подтвердить, что репарация завершена до того, как происходит репликация ДНК. Напротив, клетки, в которых происходит нарушение функции точки контроля *START*, движутся к *S*-фазе без репарации поврежденной ДНК. После серии клеточных циклов мутации, которые возникли в результате репликации нерепарированной ДНК, могут накапливаться и вызывать дальнейшее нарушение регуляции клеточного цикла. Клоны клеток с нарушением функции в точке контроля *START* могут, следовательно, становиться раковыми.

Деление клетки

Митоз

Митоз (греч. *mitos* — нити) непрямоe деление клетки. Митоз состоит из четырех фаз: профазы, метафазы, анафазы, телофазы (рис. 23—25).

Профаза занимает 0,60 времени всего митоза, метафаза — 0,05, анафаза — 0,05 и телофаза — 0,3 времени всего митоза. Длительность митоза различна у разных клеток. Для большинства клеток млекопитающих фазы митоза длятся около 12 часов. В интерфазном ядре хромосомы под световым микроскопом не видны.

В *профазе* увеличивается объем, ядра становятся видными, хромосомы спирализуются, укорачиваются, утолщаются. Видно, что

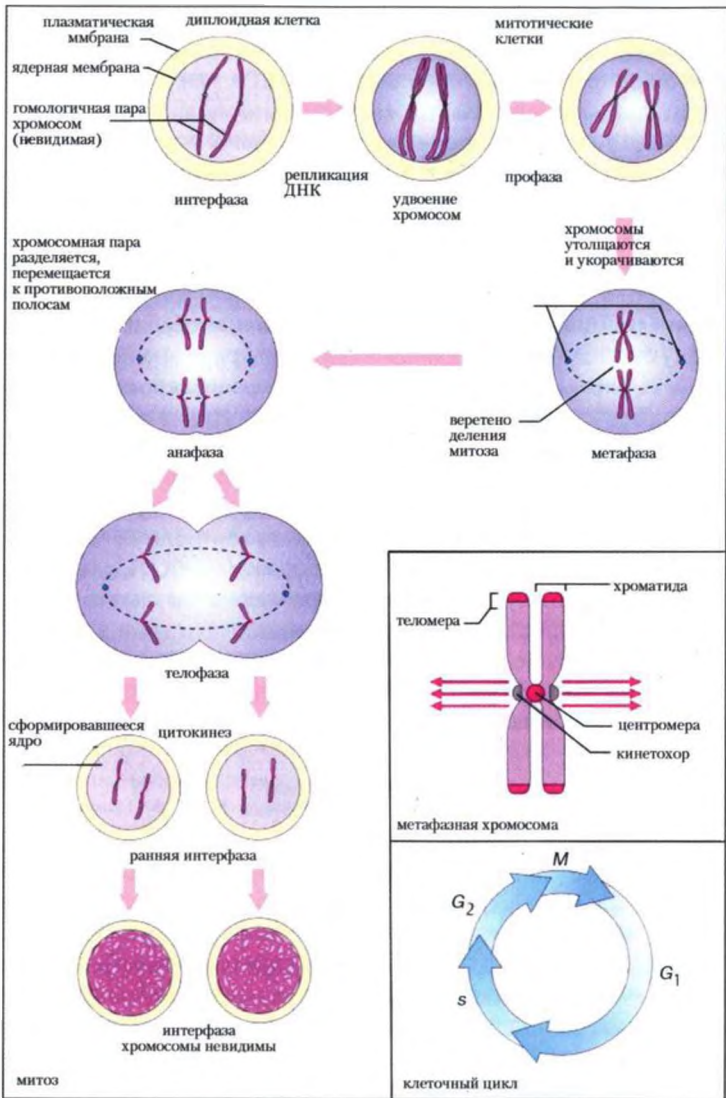


Рис. 23. Схема митоза

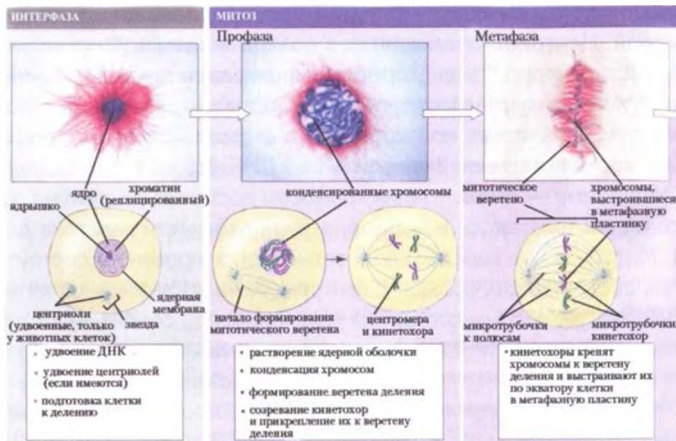


Рис. 24. Стадии митоза

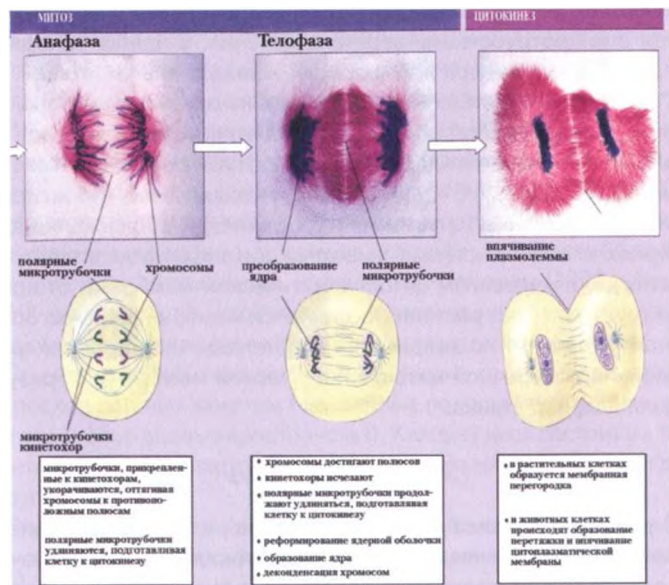


Рис. 25. Стадии митоза (продолжение)

каждая хромосома состоит из двух хроматид, соединенных центромерой. Центриоли расходятся к полюсам клетки. Формируется веретено деления. К концу профазы ядрышки и ядерная оболочка растворяются, и хромосомы оказываются в цитоплазме.

Профаза — самая продолжительная фаза митоза. В профазе набор хромосом равен $2n$, количество ДНК $4c$.

Метафаза — спирализация хромосом достигает максимума, хромосомы располагаются в экваториальной плоскости веретена деления. Митотическое веретено полностью сформировано и состоит из нитей, соединяющих полюса с центромерами хромосом. Отчетливо видно, что хромосомы состоят из двух хроматид, соединенных в области центромеры. Четко видны число и форма хромосом, что позволяет сосчитать их и изучить строение. Метафаза очень короткая.

Анафаза — центромеры разделяются, хроматиды (дочерние хромосомы) становятся самостоятельными хромосомами. Нити веретена деления, прикрепленные к кинетохорам центромер, тянут дочерние теперь хромосомы к полюсам клетки. Движение хромосом обеспечивается взаимодействием центромерных участков хромосом с микротрубочками веретена деления. В клетке находятся два диплоидных набора хромосом. Анафаза очень короткая.

Телофаза — хромосомы, состоящие из одной хроматиды, находятся у полюсов клетки. Они деспирализуются и становятся невидимыми. Образуется ядерная оболочка, нити ахроматинового веретена распадаются. В ядре формируется ядрышко. Происходит деление цитоплазмы (цитотомия и цитокинез) и образование двух дочерних клеток. В клетках животных цитоплазма делится путем перетяжки, впячиванием цитоплазматической мембраны от краев к центру. В клетках растений образуется мембранная перегородка, которая растет по направлению к стенкам клетки; после формирования поперечной цитоплазматической мембраны образуется целлюлярная стенка.

Значение митоза

В результате митоза происходит точное распределение генетического материала между двумя дочерними клетками. Обе дочерние клетки получают диплоидный набор хромосом. Митоз обеспечивает поддержание постоянства числа хромосом в ряду поколений

и служит клеточным механизмом процессов роста, развития организма, регенерации, бесполого размножения.

При нарушении хода митоза, происходящего под действием некоторых факторов, наблюдается нерасхождение хромосом, нарушение их строения, повреждение веретена деления. Вследствие повреждений хромосом возникают различные мутации.

Полиплоидия и политения

В результате нарушения митоза могут возникнуть полиплоидные клетки. Это происходит, если митоз не заканчивается цитотомией и в клетке вокруг каждого набора хромосом не образуется ядерная оболочка. Два интерфазных ядра имеют по $2n$ набора хромосом. В S -периоде интерфазы ДНК редулицируется. Клетка снова митотически делится, хромосомные наборы объединяются, и если в конце митоза происходит цитотомия, то появляются две клетки с одним тетраплоидным ($4n$) ядром каждая.

Полиплоидные организмы содержат большой объем генетического материала и обладают большими функциональными возможностями. Например, полиплоидные растения имеют более крупные плоды и устойчивы к действию неблагоприятных факторов.

В слюнных железах некоторых двукрылых (мухи-дрозофилы) можно увидеть гигантские хромосомы, превышающие по размерам обычные в сотни раз (рис. 26). Это политенные хромосомы. Они образуются в соматических клетках в результате многократной репликации в интерфазе S -периода исходной хромосомы без последующего ее расхождения, количество хромонем (1000 и более) и ДНК увеличивается, что приводит к увеличению длины и диаметра хромосом. Диплоидное количество хромосом остается прежним.

При наблюдении окрашенных политенных хромосом в световой микроскоп хорошо заметны поперечные полосы (диски), темные и светлые (междисковые пространства). Каждый диск состоит из 1024 идентичных последовательностей ДНК, расположенных рядом друг с другом.

Плотно упакованный конденсированный материал дисков может образовывать пuffed. Пuffed представляет собой участок, в котором хромосомные нити находятся в более раскрученном деконденсированном виде по сравнению с обычным состоянием, ког-



Политенные хромосомы *Drosophila melanogaster* [Painter, 1934]

Хромосомы расправились на предметном стекле в результате раздавливания. Каждая родительская хромосома спарена со своим гомологом (соматический синнапсис). Есть районы, где две хромосомы лежат раздельно (асиннапсис). Все хромосомы связаны центромерными районами в общий хромоцентр. В левом нижнем углу показаны митотические хромосомы из клеток яичников при том же увеличении.

Рис. 26. Политенные хромосомы в клетках слюнных желез насекомых

да они упакованы в диске. Образование пуффов связано с синтезом РНК в результате транскрипции. Размер пуффа зависит от интенсивности синтеза РНК. Пуфф — это диск, содержащий активно транскрибируемый ген.

Амитоз

Амитоз прямое деление клетки, при котором ядро находится в интерфазном состоянии. Хромосомы не выявляются. Веретенное деление не образуется. Амитоз приводит к появлению двух клеток, но очень часто в результате амитоза возникают двуядерные и многоядерные клетки.

Амитотическое деление начинается с изменения формы и числа ядрышек. Крупные ядрышки делятся перетяжкой. Вслед за делением ядрышек происходит деление ядра. Ядро может делиться перетяжкой, образуя два ядра. В других случаях имеет место множественное разделение ядра, его фрагментация. Ядра могут быть неравной величины.

Амитоз встречается в отживающих, дегенерирующих клетках, которые не могут дать начало новым жизнеспособным клеткам.

В норме амитотическое деление ядер встречается в зародышевых оболочках животных, в фолликулярных клетках яичника.

Амитотически делящиеся клетки встречаются при различных патологических процессах (воспаление, злокачественный рост и др.).

Мейоз

Мейоз (от греч. *meiosis* — уменьшение) представляет собой редукционное деление: происходит уменьшение числа хромосом в клетке с диплоидного ($2n$) до гаплоидного (n). Мейоз впервые описал **Ван-Бенден** в 1883 г.

Мейоз сопровождает образование гамет у животных и формированием спор у растений. В результате мейоза образуются гаплоидные половые клетки, при слиянии которых во время оплодотворения восстанавливается диплоидный набор хромосом зиготы (рис. 27).

Мейоз включает два мейотических деления. А репликация ДНК происходит только один раз. В каждом мейотическом де-

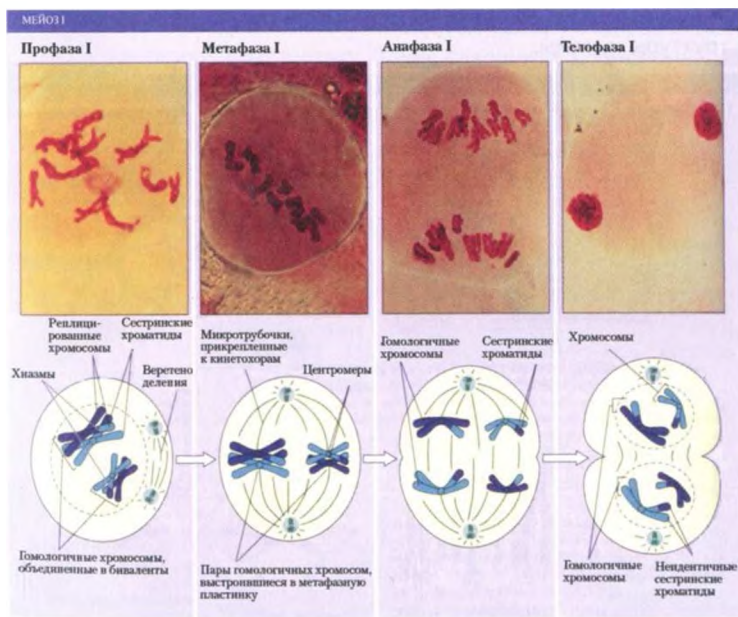


Рис. 27. Стадии мейоза I

лении выделяют четыре стадии: профазу, метафазу, анафазу и телофазу.

Первое мейотическое деление называют редукционным. В результате из одной клетки с диплоидным набором хромосом образуются две с гаплоидным набором. Второе деление (мейоз II) называется экваториальное (рис. 28).

Мейоз I

Профаза I самая продолжительная. Происходит спирализация и укорочение хромосом, гомологичные хромосомы конъюгируют друг с другом по всей длине. Такое объединение хромосом-гомологов осуществляется благодаря присущей только мейозу уникальной структуре — синаптонемальному комплексу. Каждая пара конъюгирующих хромосом образуют бивалент, состоящий из 4 хроматид. Происходит кроссинговер-обмен участками между несестринскими хроматидами. В точке обмена образуются крестообразные структуры хиазмы.

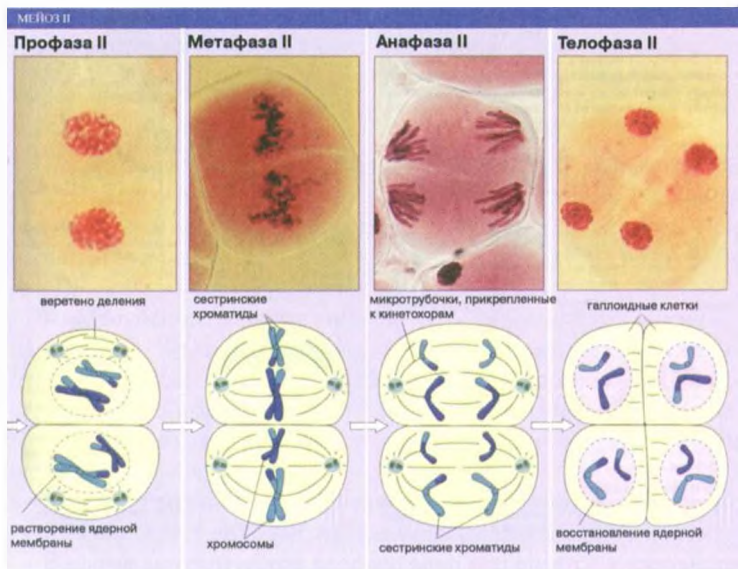


Рис. 28. Стадии мейоза II

Профазу условно делят на пять стадий: лептотену, зиготену, пахитену, диплотену и диакинез (рис. 29).

Лептотена (стадия тонких нитей). Вместо гранул хроматина интерфазного ядра в ядре теперь видны тонкие длинные нити хромосом. В ядре виден диплоидный набор хромосом. Начинается спирализация хромосом.

Зиготена (стадия объединения нитей) происходит конъюгация гомологичных хромосом. Гомологичными называют хромосомы, имеющие одинаковую форму и размер: одна из них получена от матери, другая от отца. Гомологичные хромосомы притягиваются и прикладываются друг к другу по всей длине. Центромера одной из парных хромосом точно прилегает к центромере другой, каждая хромосома прилегает к гомологичной хроматиде другой. Они соединяются друг с другом наподобие застёжки-«молнии». Синаптонемальный комплекс обеспечивает тесный контакт между гомологичными сегментами хроматид.

Пахитена (стадия толстых нитей). Конъюгирующие хромосомы тесно прилегают друг к другу. Такие сдвоенные хромосомы называют бивалентами. Каждый бивалент состоит из четверки (тетрады) хроматид. Число бивалентов равно гаплоидному набору хромосом. Происходит дальнейшая спирализация хромосом.

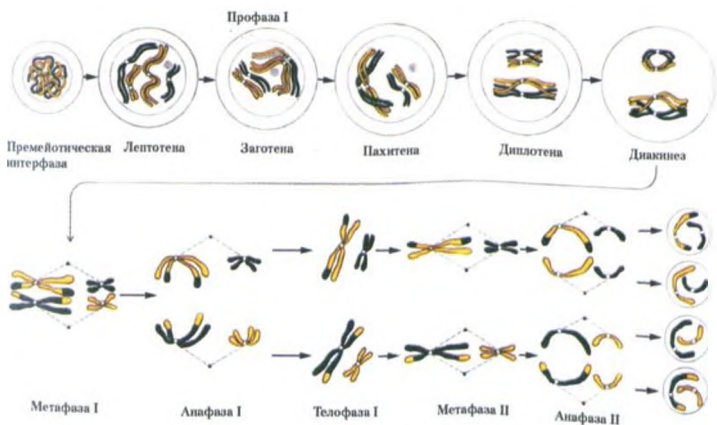


Рис. 29. Стадии профазы мейоза

Диплотена (стадия двойных нитей) характеризуется возникновением сил отталкивания. Хромосомы, составляющие биваленты, начинают отходить друг от друга. Расхождение начинается в области центромер. В это время становится видно, что тела двух хромосом переплетаются. Фигуры перекрещенных хромосом напоминают букву «хи», поэтому эти места называли хиазмами (греч. *chiasma* — перекрест). Наличие хиазм связано с прошедшим кроссинговером (англ. *crossingover* — перекрест). Хромосомы спирализуются и укорачиваются.

Диакинез характеризуется максимальной спирализацией, укорочением и утолщением хромосом. Биваленты начинают перемещаться ближе к ядерной оболочке. Отталкивание хромосом продолжается, но они остаются соединенными в биваленты на одном или обоих концах. Ядрышко и ядерная оболочка растворяются. Центриоли расходятся к полюсам.

Таким образом, в профазе 1-го мейотического деления происходит три основных процесса:

- 1) конъюгация гомологичных хромосом;
- 2) образование бивалентов хромосом или тетрад хроматид;
- 3) кроссинговер.

Метафаза I. В метафазе биваленты хромосом располагаются по экватору веретена деления клетки. К хромосомам прикрепляются нити веретена деления.

Анафаза I. Гомологичные хромосомы отделяются друг от друга, и к полюсам веретена деления расходятся хромосомы, состоящие из двух хроматид. В дочерние клетки попадают только по одной паре гомологичных хромосом.

Телофаза I. В телофазе 1-го мейотического деления число хромосом в каждой клетке становится гаплоидным. Хромосомы состоят из двух хроматид. Вследствие кроссинговера при образовании хиазм хроматиды генетически неоднородны. На короткое время образуется ядерная оболочка, хромосомы деспирализуются, ядро становится интерфазным. Затем у животной клетки начинается деление цитоплазмы, а у растительной клетки — формирование клеточной стенки. У многих растений нет телофазы I, клеточная стенка не образуется, нет интерфазы II, клетки сразу переходят из анафазы I в профазу II.

Интерфаза II. Эта стадия отмечается только у животных клеток. Во время интерфазы между первым и вторым делением в S-периоде не происходит редупликация молекул ДНК.

Мейоз II

Второе мейотическое деление называют эквационным. Оно похоже на митоз. Из хромосом, имеющих две хроматиды, образуются хромосомы, состоящие из одной хроматиды.

Профаза II. В профазе второго мейотического деления хромосомы утолщаются и укорачиваются. Ядрышко и ядерная оболочка разрушаются. Образуется веретено деления.

Метафаза II. В метафазе 2-го мейотического деления хромосомы выстраиваются вдоль экватора веретена. Нити ахроматинового веретена отходят к полюсам.

Анафаза II. Центромеры делятся и тянут за собой к противоположным полюсам отделившиеся друг от друга хроматиды, которые теперь становятся хромосомами.

Телофаза II. Хромосомы деспирализуются, становятся невидимыми. Нити веретена исчезают. Вокруг ядер формируется ядерная оболочка. Ядра содержат гаплоидный набор хромосом. Происходит деление цитоплазмы и образование клеточной стенки растений. В результате мейоза образуется четыре гаплоидных клетки.

Значение мейоза

1. Поддержание постоянства числа хромосом. Если бы не возникла редукция числа хромосом при половом размножении, половые клетки не имели гаплоидный набор хромосом, то из поколения в поколение возрастало бы их число.

2. В процессе кроссинговера имеет место рекомбинация генетического материала.

Практически все хромосомы, попадающие в гаметы, содержат участки, происходящие первоначально как от отцовской, так и от материнской хромосомы. Этим достигается большая степень перекрестности наследственного материала. В этом одна из причин комбинативной изменчивости, дающей материал для отбора.

Отличия митоза от мейоза

При митозе в профазе конъюгация гомологичных хромосом бывает только в том случае, если гомологичные хромосомы окажутся рядом, и тогда может произойти кроссинговер (рис. 30).

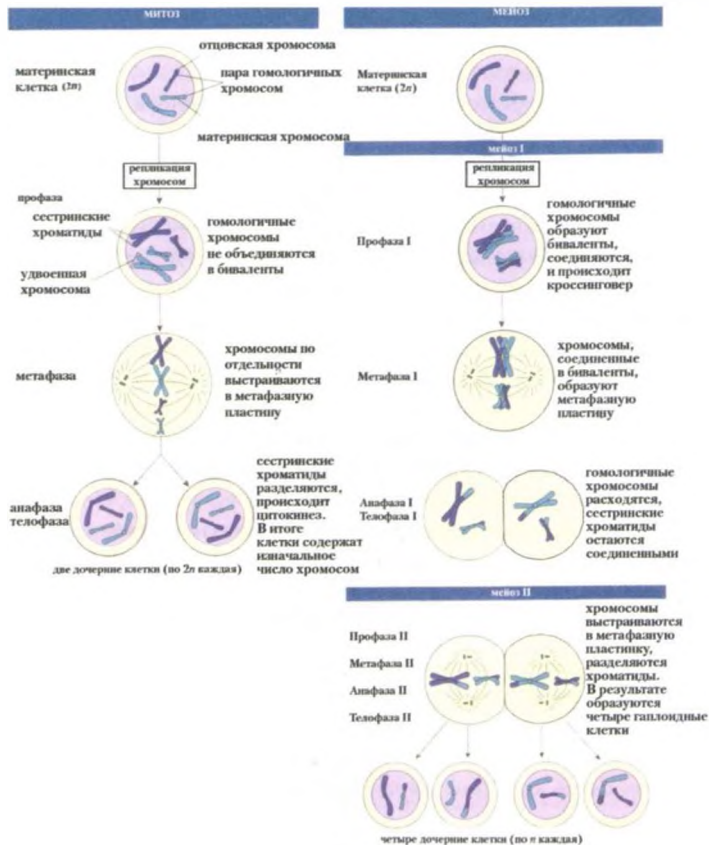


Рис. 30. Отличия митоза от мейоза

Удвоение хромосом соответствует каждому делению клетки в митозе.

В метафазе при митозе на экваторе выстраиваются хромосомы, состоящие из двух хроматид.

В анафазе при митозе к полюсам расходятся хроматиды.

В телофазе дочерние клетки содержат то же число хромосом, что и материнские.

При мейозе в профазе I происходит конъюгация гомологичных хромосом, имеет место кроссинговер. Образуются биваленты хромосом.

В метафазе I при мейозе на экваторе располагаются биваленты хромосомы.

При мейозе в анафазе I к полюсам расходятся хромосомы, состоящие из двух хроматид.

В телофазе I мейоза число хромосом в дочерних клетках вдвое меньше, чем в материнских, редукционное деление.

Между I и II делениями мейоза в интерфазе нет синтеза ДНК.

В результате мейоза при сперматогенезе образуются четыре клетки, при овогенезе одна половая клетка и три направительных (полярных) тельца, и все они будут иметь гаплоидный набор хромосом.

Кроссинговер в профазе I

В профазе мейоза I регулярно происходит обмен между гомологичными хромосомами путем кроссинговера. Это приводит к новым сочетаниям хромосомных сегментов (генетическая рекомбинация).

Профаза мейоза I

Профаза мейоза I проходит через ряд фаз, которые могут быть разделены условно, хотя они протекают непрерывно. В стадии лептотены хромосомы становятся сначала видимыми как тонкие нитеподобные структуры. В зиготене хромосомы становятся видимыми как конъюгированные структуры. Каждая хромосома является удвоенной и состоит из двух хроматид, которые удерживаются вместе в области центромеры (каждая хроматида содержит одну молекулу двуспиральной ДНК). Две гомологичные хромосомы, которые проконъюгировали (вошли в синапсис), образуют бивалент (рис. 31, 32). В стадии пахитены биваленты становятся толще и короче. В диплотене две гомологичные хромосомы разделяются, по большей части, но все же остаются прикрепленными друг к другу в

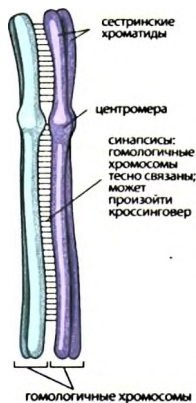


Рис. 31.
Синаптонемальный комплекс между бивалентами

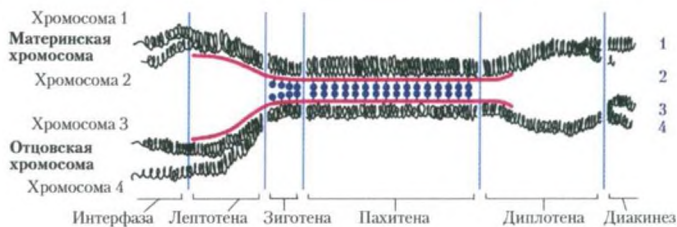


Рис. 32. Синаптонемальный комплекс

нескольких точках (хиазмы). В последующей стадии, диплотене, каждая хромосомная пара разделяется еще более сильно (диакинез), особенно в области центромеры, но одна или более дистально расположенных точек остаются соединенными (хиазмы). Каждая хиазма соответствует области, где произошел кроссинговер. В последней стадии профазы I, диакинезе, хромосомы уже широко разделены, хотя все еще прикреплены в дистальных концах. Хиазмы сдвигаются дистально (терминализация). В конце диакинеза ядерная мембрана исчезает, и клетка входит в метафазу I.

Незадолго до пахитены гомологичные хромосомы придвигаются очень близко друг к другу и образуют синаптонемальный комплекс, способствующий конъюгации гомологичных хромосом. Бивалент состоит из четырех хроматид (1 и 2): две хроматиды материнского происхождения и две хроматиды (3 и 4) отцовского происхождения. Это инициирует образование хиазм и предшествует кроссинговеру и последующей рекомбинации (рис. 33, 34).

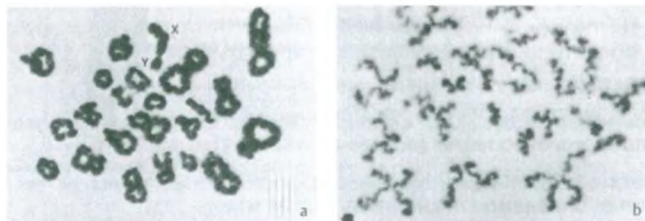


Рис. 33. Образование хиазм между гомологичными хромосомами

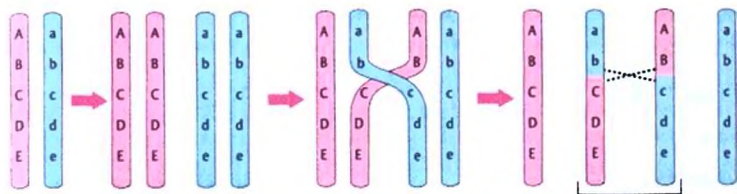


Рис. 34. Схема рекомбинации между гомологичными хромосомами

Хиазмы

Когда хиазмы образовались, каждая из двух хроматид одной хромосомы сближается с другой хроматидой гомологичной хромосомы (например, 1 и 3, 2 и 4 и т.д.). Образование хиазм является цитологическим предшествующим событием для кроссинговера и важным для четкой сегрегации хромосом. Центромера играет важную роль в объединении сестринских хроматид и дальнейшей сегрегации хромосом.

Генетическая рекомбинация с помощью кроссинговера

С помощью кроссинговера возникают новые комбинации в хромосомных сегментах (рекомбинация) (рис. 34).

Наряду с исходными гомологичными хромосомами, имеющими области, содержащие аллели А-В-С-Д-Е (показаны красным цветом) и а-в-с-д-е (показаны синим цветом) соответственно, образуются новые сочетания аллелей в рекомбинантных хромосомах: а-в-С-Д-Е и А-В-с-д-е.

Пахитена и диакинез с помощью светового микроскопа

На микрофотографиях (рис. 35) пахитенные хромосомы хорошо видны как биваленты, необычная структура в пахитене образуется между X- и Y-хромосомами. Они, по-видимому, присоединяются конец к концу. Действительно, короткие сегменты коротких плеч в области гомологичных последовательностей сконъюгировали. В более поздних стадиях можно видеть, что они в основном разделены на всем протяжении. Для изучения мейоза сегодня обычно используются электронные микрофотографии.

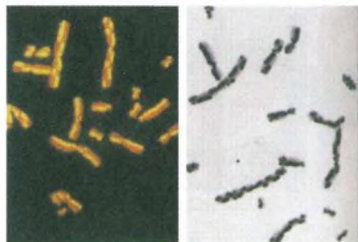


Рис. 35. Фотография хромосом после кроссинговера

Формирование гамет

Половые клетки (гаметы) образуются в гонадах. У мужчин процесс называется сперматогенез (образование сперматозоидов) (рис. 36), у женщин — овогенез (формирование овоцитов) (рис. 37). Примордиальные зародышевые (герминативные) клетки, которые мигрируют в гонады во время раннего развития зародыша, размножаются путем митотического деления. Действительное образование половых клеток, гаметогенез, начинается с мейоза. Мейоз у самцов и самок отличается по длительности и результатам.

Сперматогенез

Диплоидные сперматогонии образуются путем повторяющихся митотических клеточных делений. К пубертатному возрасту некоторые клетки начинают дифференцироваться в первичные сперматоциты. Первое мейотическое клеточное деление происходит в этих клетках. При завершении мейоза I сперматоциты I образовали два первичных сперматоцита II, каждый из которых имеет гаплоидный набор удвоенных хромосом. Каждая хромосома состоит из двух сестринских хроматид, которые становятся разделенными во время мейоза II. В мейозе II каждый сперматоцит второго порядка делится с образованием двух сперматид. Таким образом, один первичный сперматоцит первого порядка образует четыре сперматиды, каждая с гаплоидным хромосомным набором. Сперматида дифференцируется в зрелые сперматозоиды. Сперматогенез у самцов является непрерывным процессом. У человека период между дифференцировкой в первичные сперматоциты, включающие события мейоза I и образование зрелых сперматозоидов, длится около шести недель (рис. 38—41).

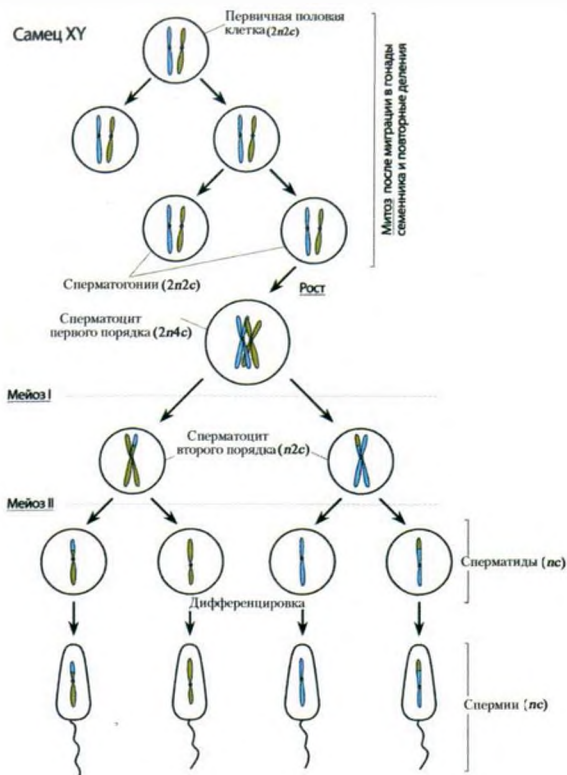


Рис. 36. Схема сперматогенеза

Овогенез

Овогенезом называют формирование женских яйцеклеток у самок (рис. 42).

Овогенез отличается от сперматогенеза по времени и результатам. Сначала гонациты мигрируют в яичник, размножаются путем повторных митозов (образование овогониев). У женщин мейоз I начинается приблизительно за четыре недели до рождения, в результате образуются первичные овоциты. Однако мейоз I останавливается на стадии профазы, называемой диктиотеной. Первичные

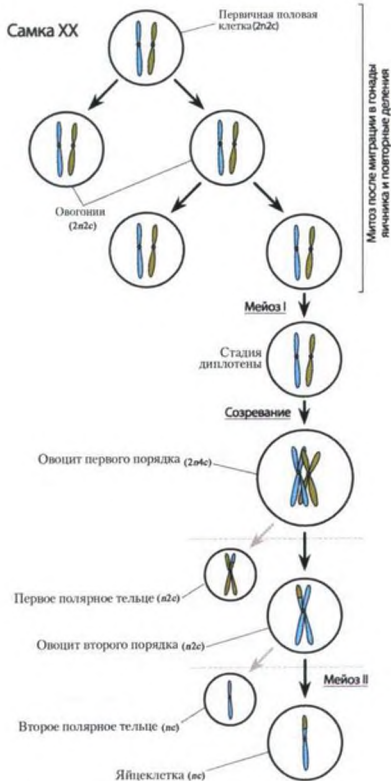


Рис. 37. Схема овогенеза

Рис. 38. Процесс сперматогенеза в семенных каналах

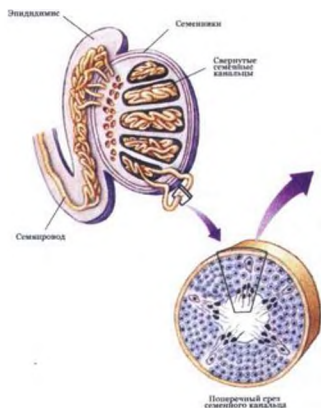


Рис. 39. Строение сперматозоида

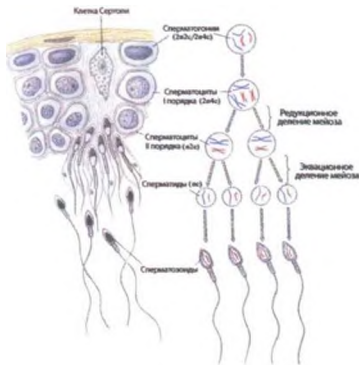


Рис. 40. Сканирующая электронная микрофотография сперматозоидов человека

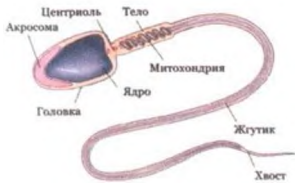


Рис. 41. Строение сперматозоида

овоциты сохраняются в этой стадии до овуляции, только затем продолжается мейоз I (события рекомбинации здесь не показаны).

У женщин цитоплазма делится асимметрично в обоих делениях мейоза I и мейоза II. Каждый раз это приводит к образованию двух клеток неравного размера: большей, которая будет образовывать яйцо, и меньшей, называемой полярным тельцем. Когда первичный овоцит делится, образуются вторичный гаплоидный овоцит и полярное тельце 1. При делении вторичного овоцита (снова нерав-

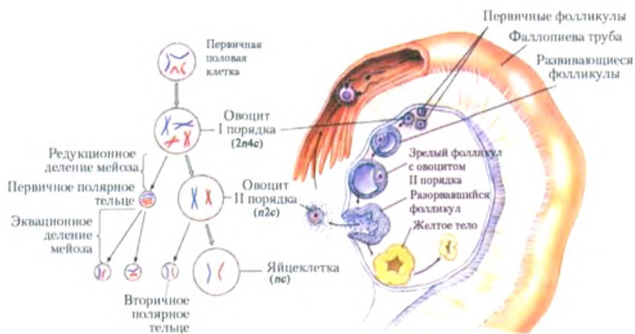


Рис. 42. Процесс овогенеза в яичниках и маточных трубах

но) результатом является зрелый овоцит и другое полярное тельце (полярное тельце 2). Полярные тельца не развиваются в дальнейшем, а дегенерируют. В редких случаях, когда это не происходит, полярное тельце может быть оплодотворено, что приводит к образованию недостаточно развитых близнецов. Во вторичном овоците каждая хромосома существует в виде двух сестринских хроматид. Они не разделяются до следующего клеточного деления (мейоз II), когда они оказываются в двух разных клетках. У большинства позвоночных созревание вторичных овоцитов останавливается во время мейоза II. В это время происходит созревание так называемого фолликула тонкостенного пузырька, состоящего из мелких фолликулярных клеток, окружающих крупный овоцит первого порядка. Фолликул созревает, и формируется граафов пузырек, имеющий характерную структуру (рис. 43). При овуляции вторичный овоцит высвобождается из яичника, и в яйцевоме происходит оплодотворение, затем мейоз завершается и формируется овоцит второго порядка, или яйцеклетка (овотида).

Неправильное распределение хромосом может происходить в мейозе I так же, как и в мейозе II.

Максимальное число половых клеток в яичнике плода человека на пятом месяце около 68×10^6 . К рождению оно становится редуцированным до 2×10^6 и к периоду половой зрелости — до 200 000. Из них около 400 овулируют.

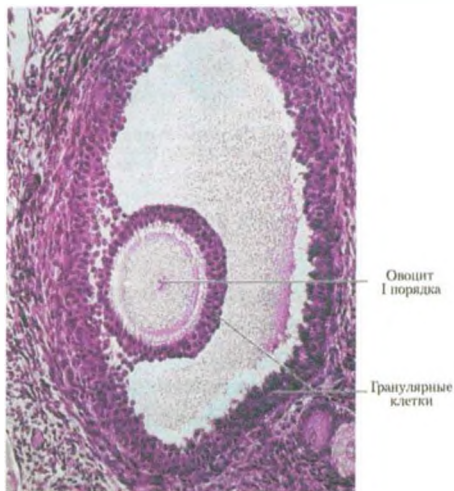


Рис. 43. Граафов пузырек с ооцитом первого порядка

Длительный период между мейозом I и овуляцией является предположительным фактором в относительно частом нарушении конъюгации гомологичных хромосом у более старых матерей.

Различие во времени при овогенезе и сперматогенезе отражает различие в делении гоноцитов. У женщин происходит 22 клеточных деления до мейоза, приводящих к 23 хромосомным мутациям. В клетках предшественницах сперматозоидов к 40 годам, происходит в 25 раз больше клеточных делений во время сперматогенеза, что приводит к возрастанию числа хромосомных мутаций в несколько десятков раз.

Апоптоз

Апоптоз — генетически запрограммированная смерть клетки (рис. 44). Все клетки многоклеточных организмов генетически запрограммированы на гибель.

Генетическая программа самоликвидации клетки активизируется под влиянием внешних и внутренних факторов. Такими факторами могут быть вирусы, токсины, поврежденная ДНК, онкогены клетки.

Апоптоз — общебиологическое явление, которое позволяет организму освободиться от стареющих нормальных или мутантных клеток, которые становятся опасными для организма. Апоптоз

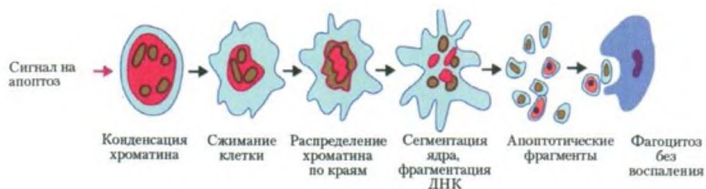


Рис. 44. События в клетке при апоптозе

обнаруживается на ранних стадиях эмбрионального развития и способствует нормальной дифференцировке клеток и развитию организма. У взрослого организма апоптоз необходим для элиминации генетически поврежденных клеток или клеток ракового перерождения, избытка лимфоцитов в инфицированном организме. Апоптоз проявляется в деструкции хроматина, уменьшении объема клетки, фрагментации клеточного ядра.

На молекулярном уровне апоптоз представляет собой многоэтапный процесс, который начинается с приема определенного сигнала и заканчивается деструкцией клеточных молекул и структур под действием литических ферментов (протеаз, нуклеаз и др.). Сигнал воспринимается определенными рецепторами, передается молекулам-посредникам (адаптерам, мессенжерам) и достигает ядра клетки, где происходит экспрессия генов, детерминирующих развитие апоптоза. В клетках животных и человека апоптоз связан с активизацией каскад-группы эволюционно-консервативных цистеиновых протеиназ, расщепляющих белки после остатков аспарагиновых аминокислот.

Раковые перерождения клеток под действием онкогенных вирусов многие исследователи связывают с нарушением системы апоптоза, в результате клетки переходят к нелимитированному делению. Лучевая терапия раковых заболеваний также основана на способности облучения вызывать апоптоз, прежде всего в активно делящихся клетках. Установлено также, что у ВИЧ-инфицированного организма значительная часть погибших клеток иммунной системы составляют здоровые, неинфицированные Т-лимфоциты, так как белки ВИЧ вызывают усиливающее влияние на апоптоз.

Глава III

ХРОМОСОМЫ

Хромосомы находятся в ядре эукариотических клеток. Видимые в обычном микроскопе, они были известны задолго до того, как была установлена их роль в передаче наследственного материала, определяющего наследственные признаки.

Первые подробные описания морфологии хромосом и их перемещений во время деления клеток были описаны российским ученым И.Д. Чистяковым в 1874 г. при изучении спор плаунов. Десять лет спустя В. Вальдейер предложил для них термин «хромосомы», который был принят всеми исследователями и используется до настоящего времени.

Число и форма хромосом являются видовым признаком. Морфологически хромосомы различаются между собой размерами и формой, которая определяется величиной их плеч относительно центромерного участка места прикрепления веретена, разводящего хромосомы в дочерние клетки при делении.

Классификацию хромосом по форме разработал русский ученый С.Г. Навашин в 1912—1914 гг. (рис. 45).

В зависимости от положения центромеры он выделил 4 типа хромосом (рис. 46).

Сегодня различают следующие варианты строения хромосом:

- метацентрические, или *равноплечие* (центромера находится *посередине*, разделяя хромосому на два равных плеча);



Рис. 45. Сергей Гаврилович Навашин (1857—1930)

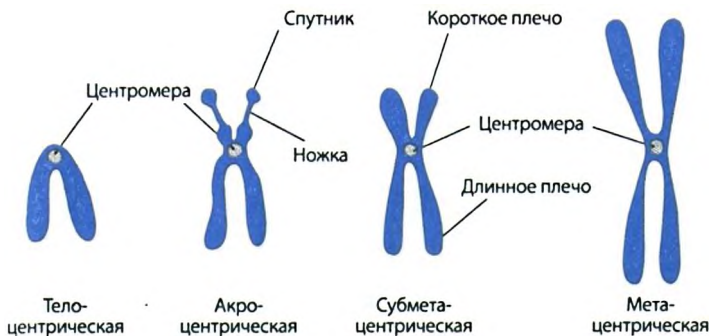


Рис. 46. Типы метафазных хромосом

- субметацентрические, или неравноплечие (центромера сдвинута от центра);
- акроцентрические имеют очень короткое второе плечо (центромера расположена у края хромосомы);
- телоцентрические имеют *малое плечо*. Практически не встречаются.

Некоторые хромосомы имеют вторичную перетяжку (рис. 46, 47). У человека ее имеют 13, 14, 15, 21, 22-я хромосомы. Вторичная перетяжка обычно расположена вблизи дистального конца хромосомы и отделяет маленький участок — **спутник**. В области вторичной перетяжки локализована ДНК ответственная за синтез рРНК (рис. 48). Эту область хромосомы называют ядрышковым организатором. На рисунке 49 показано, как хроматиновые петли 5 разных хромосом, содержащих гены для *рРНК*, принимают участие в образовании ядрышка.

Плечи хромосом оканчиваются **теломерами** — *конечными участками* (рис. 49).

Каждая интерфазная хромосома в нескольких местах соприкасается с ядерной оболочкой, как бы фиксируясь на ней. Как правило, хромосома фиксируется при помощи теломерных участков на одном из полюсов интерфазного ядра. На противоположном полюсе хромосомы фиксируются к ядерной оболочке *с помощью центромер*. Таким образом, каждая хромосома в интерфазном ядре имеет определенное пространственное расположение (рис. 50, 51).

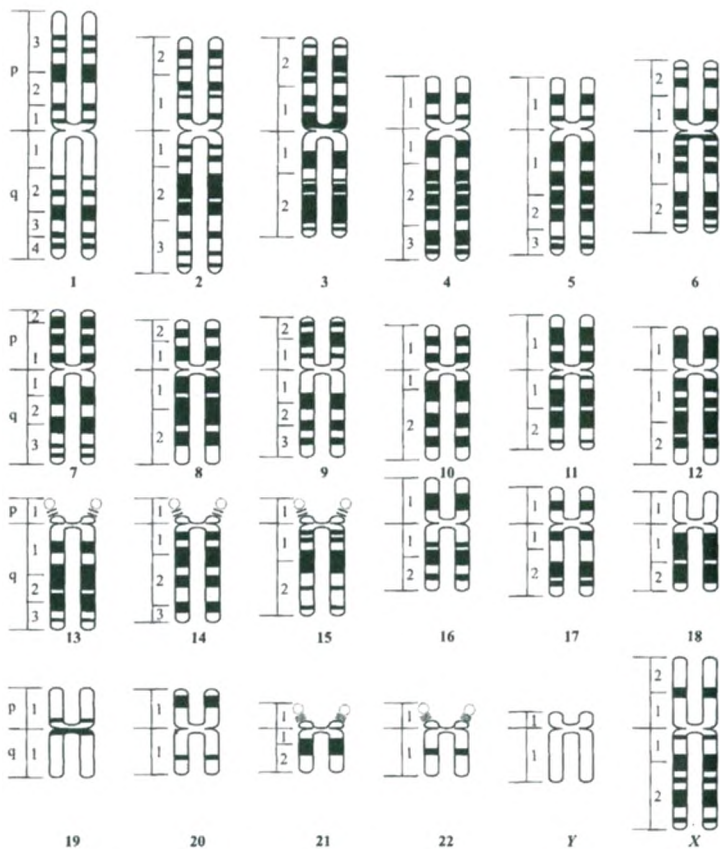


Рис. 47. Кариотип человека. Вторичные перетяжки в хромосомах 13, 14, 15, 21, 22 соответствуют зонам ядрышкового организатора

Свободные интерфазные хромосомы, участвующие в формировании ядрышка

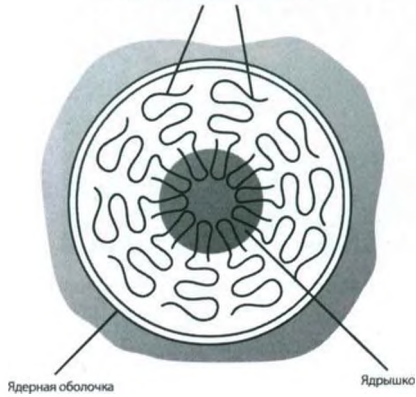


Рис. 48. Ядрышко.
На схеме показано, как хроматиновые петли 10 разных хромосом, содержащих гены для рРНК, принимают участие в образовании ядрышка



Рис. 49. Строение эукариотической хромосомы

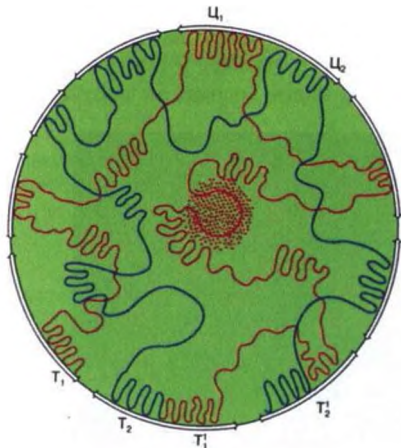


Рис. 50. Схема пространственного расположения хромосом в интерфазном ядре.
Т — теломеры,
Ц — центромеры



Рис. 51. Расположение каждой хромосомы в интерфазном ядре

Набор индивидуальных хромосом того или иного вида принято называть *кариотипом*. Кариотип характеризуется числом, размером, парностью и формой хромосом.

Теломерные участки эукариотических хромосом

Находящиеся на концах эукариотических хромосом специализированные повторяющиеся последовательности ДНК, называемые теломерной ДНК, состоят из небольших участков определенных последовательностей, которые построены из коротких (содержащих по 68 нуклеотидных остатков), многократно повторяющихся последовательностей блоков. Теломерная ДНК человека построена из ТТАГГГ-блоков (рис. 52—54). Из ТТАГГГ-блоков построены теломеры ДНК (их богатые *Г-цели*) всех млекопитающих, рептилий, амфибий и рыб. Универсален и теломерный повтор (ТТАГГГ) у растений.

Размер теломер у человека колеблется от 2 до 20 т.н.п., у некоторых видов мышей он достигает сотни тысяч пар нуклеотидов.

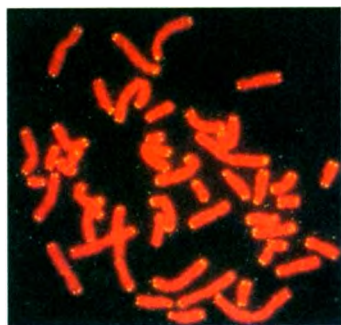


Рис. 52. Расположение повторяющихся последовательностей ДНК (ТТАГГГ) в теломерах хромосом человека. Микрофотография хромосом с мечеными теломерными участками

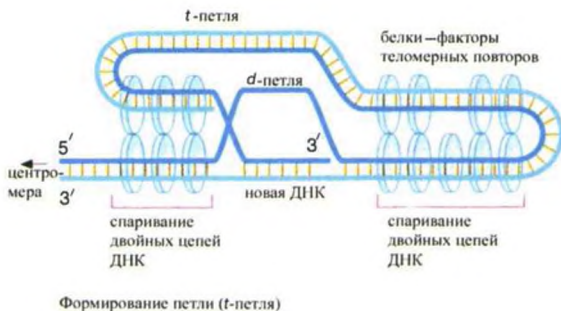
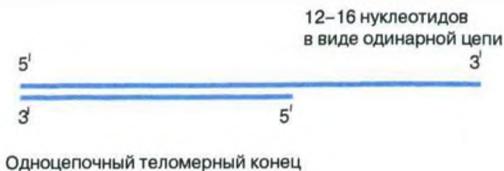


Рис. 53. Формирование петли из двухцепочечной ДНК (теломеры млекопитающих)



Рис. 54. Общая структура и нуклеотидный состав теломеры

В разных клетках длина теломер разная. У человека в зародышевых клетках она составляет 1015 т.н.п., в лейкоцитах периферической крови — 512 т.н.п.

Теломеры играют важную роль в создании специфической архитектуры и внутренней упорядочности клеточного ядра. Они предотвращают слипание концов хромосом и прикрепляются к специальной внутриядерной структуре.

При каждом раунде репликации хромосомы будут укорачиваться на 1020 нуклеотидов (все зависит от размера РНК-затравок) и в первую очередь сокращается длина теломер. В случае репликации кольцевых бактериальных ДНК этой проблемы не существует. Проблема недорепликации 3'-концов линейных молекул решается эукариотической клеткой с помощью специального фермента — теломеразы. Этот фермент был обнаружен в 1985 г. у инфузорий, а затем в дрожжах, растениях и животных.

Теломераза

Теломераза — это ДНК-полимераза, достраивающая 3'-конец линейных молекул ДНК-хромосом короткими (68 нуклеотидов) повторяющимися последовательностями (у позвоночных ТТАГГГ). Помимо белковой части теломеразы содержит РНК, играющую роль матрицы для наращивания ДНК-цепи.

Длина теломерной РНК у человека 450 нм. Наличие в молекуле теломеразы РНК-последовательности, по которой идет матричный синтез фрагмента ДНК, позволяет отнести теломеразу к своеобразной обратной транскриптазе, т.е. ферменту, способному вести синтез ДНК по матрице РНК. Основное назначение теломеразы — синтезировать тандемно повторяющиеся блоки ДНК, из которых состоит *G-цель* теломерной ДНК. Последние исследования обнаружили резкое повышение активности теломеразы, характерное для опухолевой клетки, что может служить маркером их злокачественного перерождения (рис. 53).

Теломераза обнаружена в эмбриональных клетках, которые постоянно и быстро делятся. Непрерывное удлинение хромосом необходимо для компенсации их постоянного укорочения. Предполагают, что соматические клетки получают свою «порцию» теломерной ДНК, необходимую на все время жизни клетки и ее по-

томства. У хромосом большинства типов соматических клеток теломеры укорачиваются с возрастом, и это считают одним из важных факторов, определяющих продолжительность жизни особи. Таким образом, изучение механизма работы теломеразы и регуляции ее экспрессии в клетке помогут понять молекулярные основы процесса старения и злокачественной трансформации клеток.

Длина теломер и старение у человека

В отличие от стволовых клеток большинство соматических клеток теряют теломеразную активность. Когда соматические клетки растут в культуре, они делятся ограниченное число раз (от 20 до 70 поколений клеток), прежде чем наступает старение и гибель клетки. Клетки с более длинными теломерами живут дольше и проходят через большее количество клеточных делений, чем клетки с короткими теломерами. Поскольку одна из общих характеристик всех раковых клеток — это неконтролируемое клеточное деление, или бессмертность, ученые предположили, что один из путей борьбы с раком — ингибирование теломеразной активности в раковых клетках. Еще одно доказательство связи длины теломеры со старением у человека было получено при изучении людей с наследственным заболеванием *прогерией*, характеризующейся очень ранним старением. В случае самой тяжелой формы прогерии, синдроме Хатчинсона—Джилфорда (рис. 55), признаки старения — морщины, облысение и другие симптомы — возникают сразу же после рождения, и смерть обычно наступает в подростковом возрасте. В менее тяжелой форме, синдроме Вернера, старение начинается в возрасте 10—15 лет и приводит к смерти к 40 годам. В соответствии с гипотезой уменьшения длины теломер в процессе старения соматические клетки людей с прогерией имеют короткие теломеры и проявляют сниженную способность к росту и размножению (рис. 56).

Гетерохроматин и эухроматин

К началу XX века многие цитологи стали отмечать, что некоторые хромосомы или их фрагменты во время клеточного деления выглядят более конденсированными и интенсивно окрашенными. Для обозначения участков хромосом, которые постоянно находятся



Рис. 55. Фотография детей с синдромом Хатчинсона—Джилфорда, демонстрирующая характерное старение в детском возрасте. Ребенок справа — 8 лет, ребенок слева — 9 лет

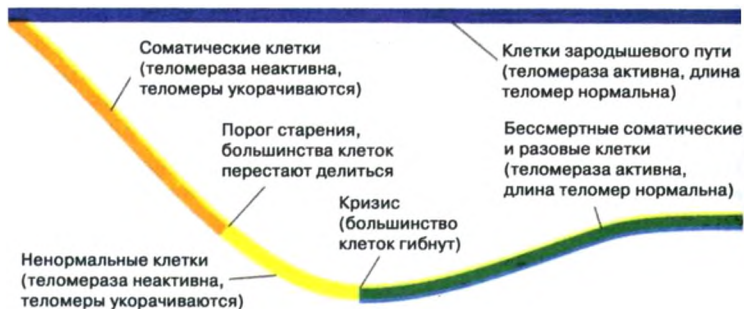


Рис. 56. Изменение длины теломер у человека в зависимости от числа клеточных делений. По горизонтали — число делений, по вертикали — длина теломер

в компактном состоянии. Э. Хайц в 1928 г. предложил термин «гетерохроматин». Другим термином «эухроматин» он обозначил слабоупакованные (деконденсированные) участки хромосом. С применением специальных методов окрашивания можно дифференцировать гетерохроматиновые и эухроматиновые участки хромосом. В околоцентромерных участках хромосом и коротких плечах акроцентрических хромосом прокрашивается гетерохроматин, обозначаемый как структурный (конститутивный), который постоянно выявляется и во время митотического деления клетки и в интерфазном ядре. Полагают, что в ДНК-структурированном районе гетерохроматина гены, отвечающие за синтез белка, либо отсутствуют, либо таких генов мало. Другой тип гетерохроматина — факультативный, возникает путем компактизации эухроматиновых районов и содержит гены, участвующие в метаболизме белка. Конденсация факультативного гетерохроматинового района хромосом носит обратимый характер, выражающийся в возможности деконденсации этих районов. У млекопитающих и человека в соматических клетках женского организма одна из двух X-хромосом находится в состоянии компактизации (тельце Барра, или половой хроматин) (рис. 57, 58), это и есть пример факультативного гетерохроматина.



Рис. 57. Мэри Лайон (1925 г.р.), выдвинувшая гипотезу об инактивации одной из X-хромосом у самок в виде сверхспирализованного гетерохроматина — тельца Барра



Рис. 58. Гетеро- и эухроматин в ядре

Тельца Барра

У самок плацентарных млекопитающих в ядрах соматических клеток одна из X-хромосом представлена в виде гетерохроматиновой глыбки. В ядрах самцов они отсутствуют. Эти образования называют тельцами Барра (рис. 59) честь канадского ученого Мэррея Барра, который наблюдал их в ядрах нейронов самок кошек в 1949 г. В покоящихся ядрах клеток эпителия ротовой полости женщины половой хроматин встречается в 20—70% ядер, у мужчин обычно отсутствует или встречается в 0,64% клеточных ядер.

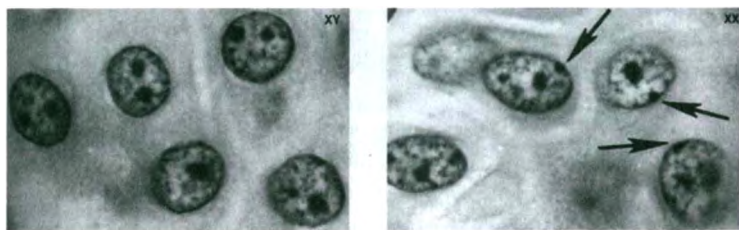


Рис. 59. Тельца Барра. Фотография ядер нормального мужчины (XY) слева и женщины (XX) справа. Тельца показаны стрелками и видны только в ядрах женщины

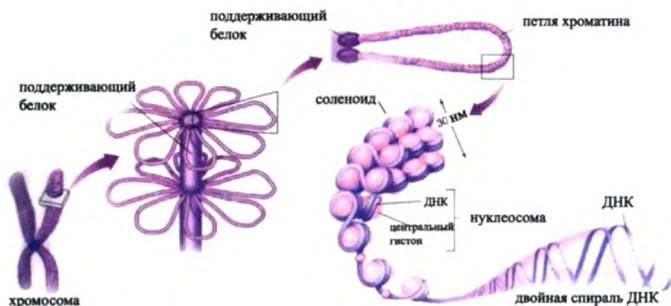


Рис. 60. Схема компактизации хромосом

Химический состав хромосом эукариот

Хромосомы состоят из ДНК и белков, образуя нуклеопротеиновый комплекс. На долю белков в среднем приходится около 60%, на ДНК — 40% общей массы этих структур. Белки, входящие в состав хромосом, подразделяются на две группы: гистоновые и негистоновые. Гистоновые белки представлены пятью основными фракциями: H1, H2A, H2B, H3 и H4 (рис. 61). Белки-гистоны составляют от 40 до 80% всех белков хромосомы. Гистоновые белки состоят из небольших молекул, имеющих положительные электрические заряды, поскольку в их составе преобладают основные аминокислоты аргинин и лизин. Благодаря такому строению гистоновые белки соединяются с отрицательно заряженной ДНК, образуя ДНК-гистоновый комплекс ДНП. Полагают, что гистоновые белки выполняют важную функцию, связанную со специфической упаковкой огромной по размерам молекулы ДНК в компактную структуру хромосомы.

Негистоновые белки, входящие в состав хромосом, выполняют разные функции: участвуют в процессах репликации ДНК, транскрипции, репарации. Линейно расположенная в хромосоме ДНК может достигать нескольких сантиметров: у человека 5 см, у мухи-дрозофилы 2 см (при репликации или в интерфазе).

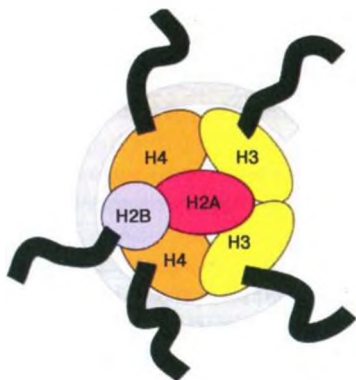


Рис. 61. Расположение молекул гистонов в нуклеосоме

Наблюдается значительное различие по составу и свойствам ДНК в различных участках хромосом.

В области первичных перетяжек располагается специфическая центромерная ДНК с часто повторяющимися короткими последовательностями нуклеотидов ГЦ, АТ, с которыми взаимодействуют специальные белки кинетохоров структур, обеспечивающих связь микротрубочек веретена деления с хромосомами. В теломерах также располагаются особые участки ДНК, препятствующие укорочению хромосом в процессе репликации. В зонах вторичных перетяжек, как уже указывалось, располагаются участки ДНК, ответственные за синтез *p-РНК*. В плечах хромосом располагается основная часть ДНК, ответственная за синтез многочисленных информационных *m-РНК*, отвечающих за функционирование структурных генов.

Уровни компактизации хромосом

ДНК упакована таким способом, что остается доступной для ферментов и белков, участвующих в транскрипции, репликации и репарации ДНК. У эукариот, в том числе и у человека, ДНК в ядре соматических клеток находится в виде диплоидного набора различных хромосом. Каждая хромосома состоит из длинной одинарной нити ДНК, связанной с белками, которые свертываются и упаковывают тонкую нить ДНК в большую компактную структуру ДНП (дезоксирибонуклеопротеин) (рис. 60). Комплекс ДНК и белка называется хроматином (от греч. *chroma* — окрашенный), т.е. способным к окрашиванию. Большая часть белков участвует в упаковке ДНК, а также регулирует экспрессию генов, участвует в репликации и репарации.

Типичная бактерия имеет одну кольцевую ДНК, которая связывается с белками, поэтому такую кольцевую ДНК называют бактериальной хромосомой.

Каждая клетка человека, за исключением половых, содержит диплоидный набор хромосом, всего 46. Половина хромосом унаследована от матери, другая от отца. Такие хромосомы называются гомологичными. Негомологичные хромосомы — это половая хромосома Y, наследуемая от отца, и половая X-хромосома, наследуемая от матери.

Во время интерфазы хромосомы представляют собой длинные закрученные нити ДНП в ядре клетки. Во время деления клетки митоза эти хромосомы компактные и находятся в высококонденсированном состоянии. Конденсированное состояние митотических хромосом позволяет дублированным хромосомам разойтись во время клеточного деления. В интерфазе происходит синтез ДНК, и хромосома реплицируется, а ее копии во время деления попадают в дочерние клетки. Как же происходит упаковка хроматина? Сегодня многие исследователи считают, что нить ДНК претерпевает пять уровней компактизации и укорачивается в 10 000 раз. Ниже перечислены уровни:

1. Нуклеосомный
2. Нуклеомерный, или соленоидный
3. Хромомерный
4. Хромонемный
5. Хромосомный

Первый, наиболее фундаментальный и наиболее изученный уровень упаковки хроматина — нуклеосомный (рис. 62), был открыт в 1974 г. Если хроматин подвергнуть специальной обработке, вызывающей частичное раскручивание ДНК, то в электронном микроскопе можно увидеть серию «бусин на нити». Нить — это ДНК, а каждая бусина это белковый корр, или основание нуклеосомы, имеющее форму цилиндра, вокруг которого на $\frac{3}{4}$ оборота обернута ДНК.

Каждая индивидуальная нуклеосома состоит из 8 гистоновых белков по две молекулы каждого гистона H_2A , H_2B , H_3 и H_4 , которые образуют корр, и на нем располагается двухцепочечная ДНК длиной примерно 146 п.н. Такая нуклеосомная структура обеспечивает компактизацию ДНК в 67 раз.

Второй этап компактизации — нуклеомерная, или соленоидная, упаковка (рис. 63), т.е. формирование хроматиновых фибрилл диаметром 30 н.м. В этом случае нуклеосомные нити образуют спираль соленоид, или нуклеомер, с шагом в 68 нуклеосом. В этом процессе участвует гистон H_1 , который соединяет между собой ДНК и нуклеосомные коры. Уровень компактизации на этом этапе увеличивается в 40 раз.

Третий уровень компактизации — хромомерный, или петельный (рис. 64, 65), связан не с дополнительной спирализацией, а с об-

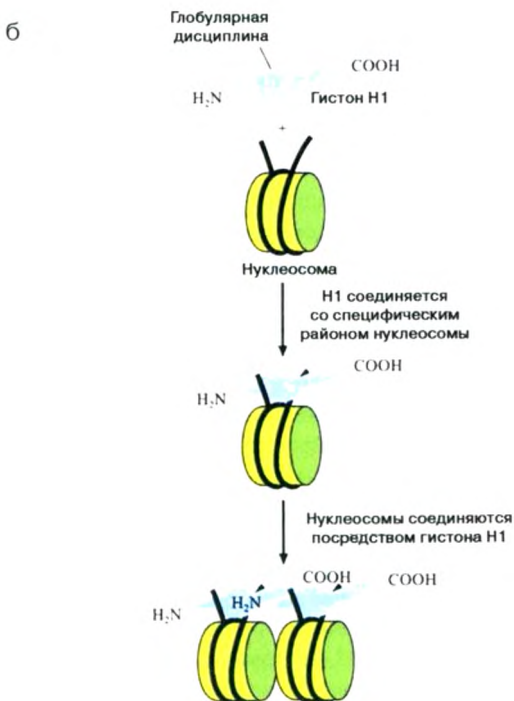
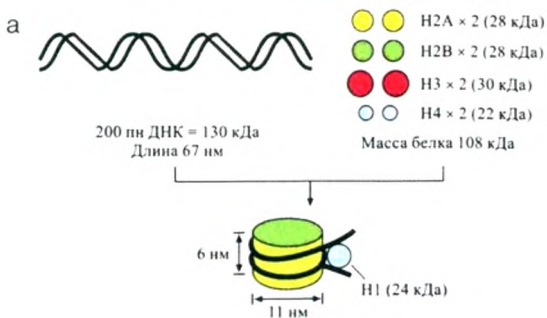


Рис. 62. Структура нуклеосомы (а) и взаимодействие гистона и нуклеосом (б)

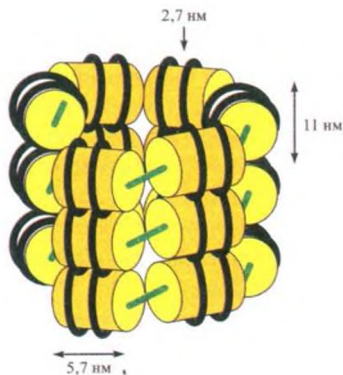


Рис. 63. Структура нити хроматина диаметром 30 н.м.

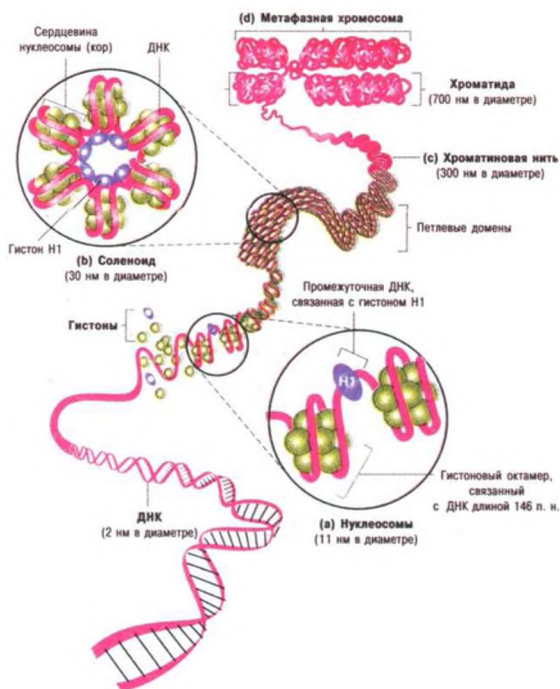


Рис. 64. Хромомерный, или петельный, уровень компактизации

разованием поперечных петельных структур, идущих вдоль интерфазной, или митотической, хромосомы. Петли состоят из соле-ноидных, или нуклеомерных, фибрилл, они связаны с негистоно-выми белками, которые образуют остов. Каждый хромомер состоит из нескольких содержащих нуклеосомы петель, которые связаны с одним центром. Размер отдельной петли совпадает с размером средних репликонов (единица репликации ДНК) и может соответ-ствовать одному или нескольким генам. Одна хромосома может иметь до 2000 петель. Уровень компактизации может увеличиваться до 700 раз.

Четвертый уровень компактизации — хрономемный (рис. 64, 65). Сближенные в линейном порядке хромомеры образуют толстые 700 нм нити, которые можно наблюдать в световом микроскопе.

Пятый уровень компактизации до 10 000 раз характерен для метафазной хромосомы. На этом уровне происходит укладка хро-момемных нитей и образование единой метафазной хромосомы (рис. 64, 65).

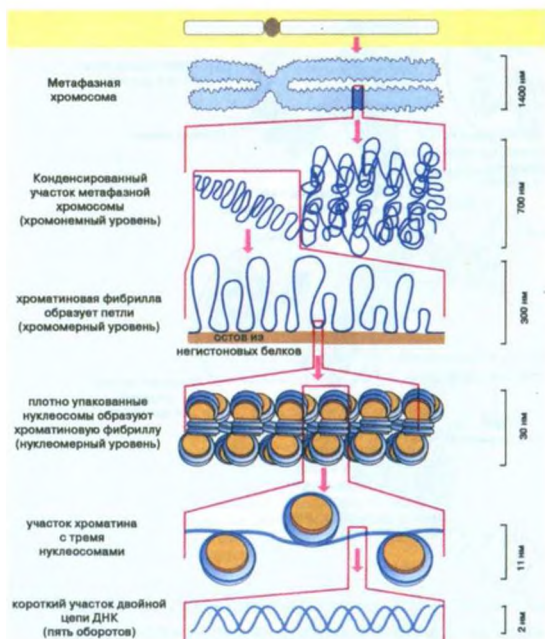


Рис. 65. Уровни упаковки ДНК в хромосоме

Глава IV

МЕНДЕЛИЗМ

Грегор Мендель (1822—1884) родился в крестьянской семье, с детства имел навыки работы с растениями, так как вместе с отцом занимался садоводством. В 1843 г. стал монахом католического августинского монастыря в г. Брюнне (ныне Брно, Чехия). Два года учился в Венском университете, изучал естественную историю и математику. В период обучения в Вене заинтересовался процессом гибридизации растений, был знаком с работами своих предшественников И.Г. Кельрейтера, Т.Э. Найта и др. В 1853 г. вернулся в монастырь, преподавал физику и математику в реальном училище г. Брюнна. Свои эксперименты по скрещиванию посевного гороха *Pisum sativum* L. он проводил на маленьком монастырском участке размером 35 × 7 м.

Горох является самоопыляющимся растением, имеющим множество стабильно сохраняющихся признаков в потомстве (рис. 66). На протяжении 8 лет Г. Мендель проводил опыты по скрещиванию разных сортов гороха, отличающихся контрастными (альтернативными) признаками. В своих экспериментах он тщательно подбирал родительские пары, анализировал полученные результаты, вел количественный учет потомства.

Результаты своих экспериментов он опубликовал в 1866 г. в статье «Опыты над растительными гибридами». В этой работе он изложил основные закономерности наследования признаков от родителей к потомству, которые впоследствии стали называться «законы Менделя». Он показал, что за развитие признаков отвечают определенные наследственные задатки, которые передаются потомкам в виде дискретных единиц через половые клетки. Мендель ввел в генетику такие понятия, как «доминантность» и «рецессивность». При скрещивании чистых линий растений с желтыми и зелеными семенами у гибридов

Семь признаков, которые Мендель изучал в своих экспериментах, и полученные им результаты















Признак		Поколение F ₂	
Доминантная форма		Рецессивная форма	
		Доминантная: Рецессивная Расщепление	
 гургурные цветки	X	белые цветки 	705:224 3.15:1
 желтые горошины	X	зеленые горошины 	6022:2001 3.01:1
 гладкие горошины	X	морщинистые горошины 	5474:1850 2.96:1
 зеленые стручки	X	желтые стручки 	428:152 2.82:1
 надутые стручки	X	спавшиеся стручки 	882:299 2.95:1
 цветки на стебле	X	цветки на верхушке 	651:207 3.14:1
 высокие растения	X	карликовые растения 	787:277 2.84:1

Рис. 66. Признаки гороха, изучаемые Менделем

первого поколения он обнаружил только один из двух альтернативных признаков — желтый. Мендель назвал такой признак доминантным, а альтернативный (зеленый), который не проявился в первом поколении, — рецессивным. Он использовал буквенное обозначение наследственных факторов (генов). Аллель, отвечающий за развитие доминантного признака, стал обозначаться заглавной буквой (А), рецессивный ген — строчной буквой (а). Особи, которые имели два доминантных (АА) или два рецессивных гена (аа), были названы гомозиготными. Гибриды, которые всегда имеют один доминантный, другой рецессивный ген, стали называться гетерозиготными (Аа). Рецессивный ген проявляет себя только в гомозиготном состоянии — аа (зеленый цвет горошка), а доминантный ген может проявлять свои действия как в гомозиготном — АА (желтый цвет горошка), так и в гетерозиготном состоянии — Аа (желтый цвет горошка). Гены, находящиеся в одинаковых участках гомологичных хромосом и отвечающие за раз-

новидность одного признака, называются аллельными, т.е. ген желтого цвета горошка (А) и ген зеленого цвета горошка (а) — аллельные. В половой клетке находится только один аллель, отвечающий за развитие того или иного признака, тогда как в диплоидном организме их два. У человека ген карих глаз (А) доминирует над рецессивным геном голубых (а).

Вторичное открытие законов Менделя произошло в 1900 г. тремя ботаниками, которые получили такие же результаты при скрещивании растений, как и Мендель, и признавшими его приоритет. 1900 г. считается годом рождения генетики. В дальнейшем многие исследователи установили, что по законам Менделя наследуются признаки у растений, животных и человека, т.е. они универсальны для всей живой природы.

Закономерности наследования. Моногибридное скрещивание

В своих опытах Г. Мендель применял гибридологический метод, т.е. метод скрещивания. Мендель начинал с самого простого. Он скрещивал растения и наблюдал наследование контрастирующих признаков, это: цвет семядолей — желтый или зеленый; семена — гладкие или морщинистые; цветки — белые или пурпурные; длина стебля — высокая или низкая. Всего Мендель представил результаты по семи признакам гороха. Такое скрещивание, где особи анализируются только одним контрастным альтернативным признаком, называется моногибридным. Для моногибридного скрещивания Г. Мендель установил закономерности наследования, понятие аллелизма, дискретный характер наследственности, показал стабильность наследственных факторов. Сегодня — это первый и второй законы Менделя.

Первый закон Менделя

Мендель проводил моногибридное скрещивание чистых линий гороха, отличающихся по одной паре альтернативных признаков, а именно по цвету горошин (желтый или зеленый) (рис. 67). В качестве материнского растения использовали горох с желтыми семенами, а отцовского — горох с зелеными семенами. Все

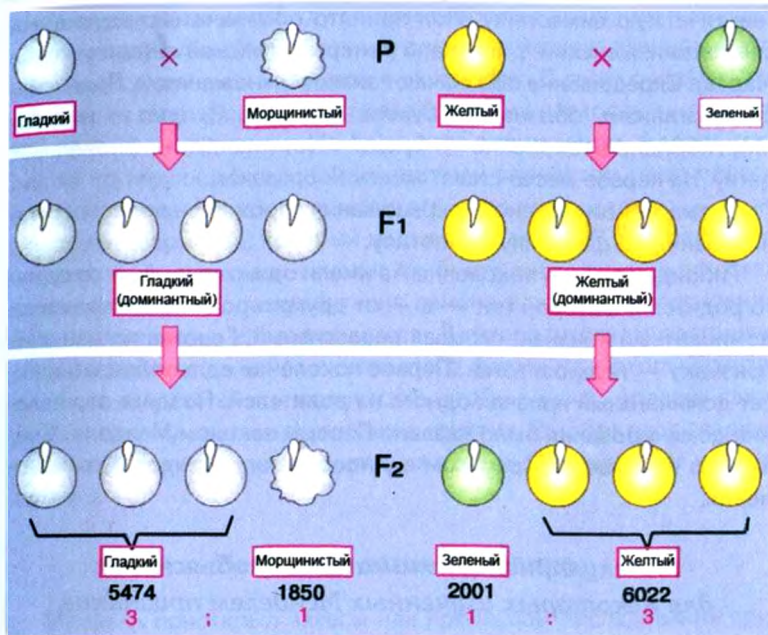


Рис. 67. Схема моногибридного скрещивания гороха при полном доминировании по фенотипу и генотипу

гибриды первого поколения имели желтую окраску семян. Признаки, проявляющиеся у гибридов первого поколения, Г. Мендель назвал **доминантными** (лат. *dominus* — господствующий), а не проявляющиеся — **рецессивными** (лат. *recessus* — отступающий). Желтый цвет оказался доминантным признаком, зеленый — рецессивным. В экспериментах Мендель установил, что аналогичным образом ведут себя все семь исследованных им признаков.

Моногибридное скрещивание подтверждает наличие доминантного гена у гибридов первого поколения, так как гомозиготные организмы дают только один тип гамет с доминантным или рецессивным геном. При проведении схемы скрещивания используют

генетическую символику. Пол принято обозначать следующими символами: женский ♀ (зеркало Венеры), мужской ♂ (щит и копье Марса). Скрещивание обозначают знаком умножения: \times . Родительские организмы обозначают буквой *P* (от лат. *Parento* — родители), гибридное поколение — буквой *F* (от лат. *filli* — филиал или дети). На первое место ставят женский организм.

Схема моногибридного скрещивания гороха при полном доминировании по фенотипу и генотипу.

Гибриды первого поколения *Aa* имели один ген — *A* — от одного родителя, а второй ген — *a* — от другого родителя и проявили доминантный признак, скрывая рецессивный. Генотип по данному признаку — гетерозиготен. Первое поколение единообразно и несет доминантный признак одного из родителей. Позднее это явление доминирования было названо Первым законом Менделя. Сейчас это называется Правилем единообразия гибридов 1-го поколения.

Молекулярное (биохимическое) объяснение для некоторых изученных Менделем признаков

Какая связь существует между молекулярным объяснением доминантности, рецессивности и фактически изученными Менделем признаками (свойствами) зеленого гороха? О некоторых аллельных парах мы уже знаем точно. Один из примеров — это круглые (гладкие) и морщинистые семена гороха. Горох с морщинистыми



Рис. 68. Внешний вид семян гороха с гладкими и морщинистыми горошинами

семенами имеет повышенное содержание сахарозы по сравнению с растением с гладкими семенами. Вследствие этого семена такого гороха, пока они развиваются в бобе, абсорбируют больше воды. Когда они созревают, то теряют часть воды, горошины сморщиваются. Гладкие (круглые) горошины, содержащие меньше сахарозы, но больше крахмала, всасывают в процессе развития меньше воды и поэтому в процессе созревания не теряют ее так много, как морщинистые горошины, и, как следствие этого, остаются гладкими (круглыми) (рис. 68).

Важное различие между сортами гороха с гладкими и морщинистыми семенами (горошинами) состоит в количественном соотношении сахарозы и крахмала в их клетках. В свою очередь, это зависит от ряда ферментов, превращающих сахарозу в крахмал. Каждый из этих ферментов кодируется одним геном. Аллель *r* является мутирующей версией (мутантным вариантом гена) одного из таких генов. Растения, гомозиготные по этому аллелю — *rr*, не образуют фермента, который кодируется геном *R*. Это означает, что растения, имеющие генотип *rr*, будут превращать в крахмал меньше сахарозы, поэтому такие семена в процессе созревания будут терять воду и сморщиваться. В гетерозиготном состоянии (*Rr*) *R*-аллель отвечает за синтез этого фермента, который синтезируется в достаточном количестве, чтобы снизить уровень сахарозы, поэтому растения, имеющие генотип *Rr*, образуют гладкие семена. В этом случае продукт гена аллель *R* доминирует над аллелем *r*.

Неполное доминирование

Мендель приоткрыл завесы над процессом наследования признаков при полном доминировании. Позже ученые установили, что доминирование представляет собой распространенное, но не универсальное явление. В некоторых случаях имеет место неполное доминирование.

Неполное доминирование возникает в тех случаях, когда гетерозиготные формы (особи) имеют фенотип, промежуточный между двумя гомозиготными организмами. Один из примеров — это наследование окраски цветков у львиного зева: *AA*-генотип дает красные цветы, *aa*-генотип — белые (рис. 69). Гетерозигота *Aa* имеет розовые цветы. Это объясняется тем, что гетерозиготная форма хотя и имеет функционально способный ген для синтеза пигмента, но пигмент образуется в недостаточном количестве и окраска цветов получается промежуточной между доминантной и рецессивной формами. Таким образом, при полном и неполном доминировании единообразие особей первого поколения остается.

Поэтому первый закон наследования стал называться законом единообразия гибридов первого поколения, он читается таким образом:

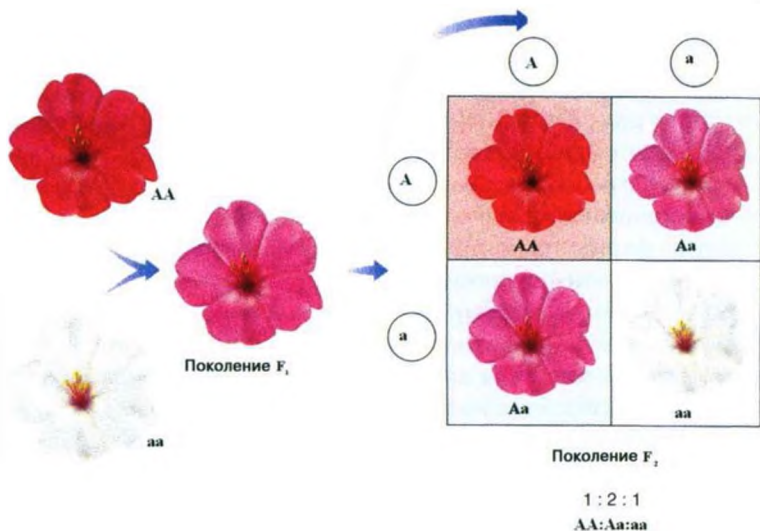


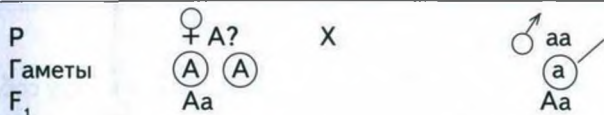
Рис. 69. Неполное доминирование. Промежуточное наследование признака в F₁ у цветков *Mirabilis jalapa* (Ночная красавица)

При моногибридном скрещивании гомозиготных особей, отличающихся контрастными признаками, все потомство в первом поколении единообразно как по фенотипу, так и по генотипу.

Во втором поколении при неполном доминировании расщепление по фенотипу и генотипу совпадает и выражается соотношением 1 : 2 : 1.

Анализирующее скрещивание

Рецессивный признак aa (зеленый горох) проявляется только в гомозиготном состоянии. Гомозиготные AA (желтый горох) и гетерозиготные Aa (желтый горох) особи с доминантными признаками по фенотипу не отличаются друг от друга. Для установления неизвестного генотипа производят анализирующее скрещивание (рис. 70). Для этого необходимо особь, генотип которой неясен (A'), скрестить с рецессивной формой, генотип которой всегда известен (aa). Если в результате скрещивания все потомство будет единообразным — исследуемая особь гомозиготна.



Если произойдет расщепление, то особь гетерозиготна. Потомство гетерозиготной особи при скрещивании с рецессивной формой дает расщепление 1 : 1.

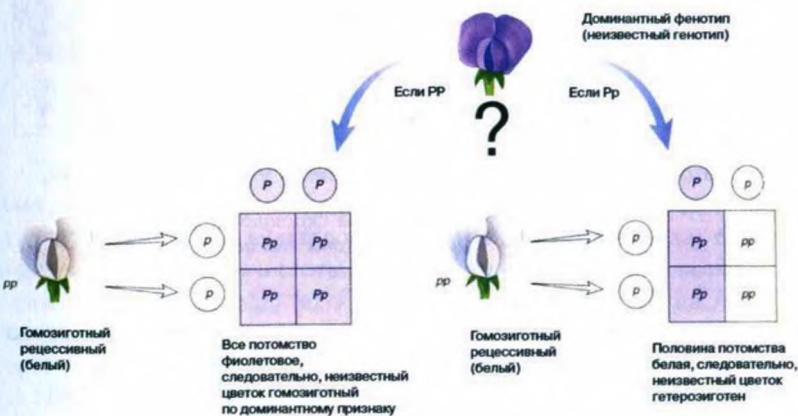
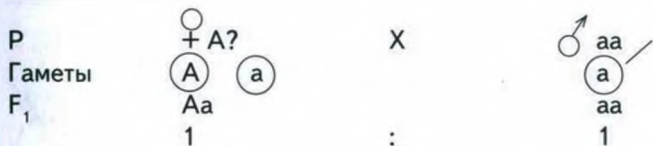


Рис. 70. Анализирующее скрещивание

Анализирующее скрещивание важно и для человека. Иногда по генотипу детей можно определить, гомо- или гетерозиготны его родители. Анализируя родословные по числовым соотношениям потомков, в них можно найти браки, которые являются анализирующими.

При судебно-медицинской экспертизе можно использовать этот метод для исключения отцовства по группам крови в системе АВО и по резус-фактору.

Второй закон Менделя

При скрещивании гибридов (Aa) первого поколения между собой во втором поколении (F_2) Г. Мендель получил особи не только с доминантными, но и с рецессивными признаками, и всегда в соотношении 3:1 по фенотипу (3 доминантных, 1 рецессивный) (рис. 71).

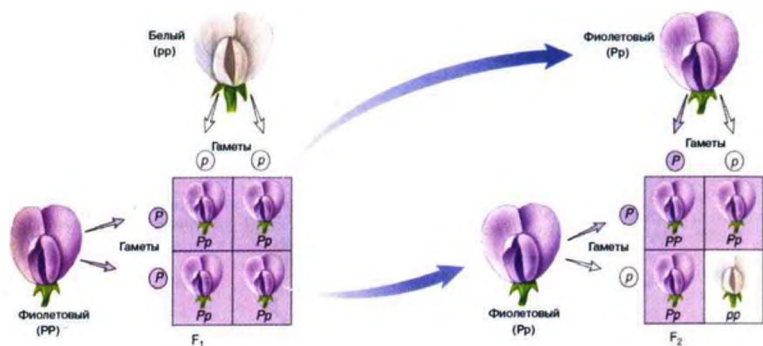


Рис. 71. Моногибридное скрещивание.
Первый и второй законы Менделя

Всего в данном опыте при скрещивании гибридов (F_1) первого поколения было им получено 7324 семени, из которых гладких оказалось 5474, а морщинистых — 1850, отсюда соотношение 2,96 : 1. Близкие соотношения наблюдаются и при скрещивании по другим альтернативным признакам душистого горошка. Особей с доминантными признаками всегда в три раза больше, чем особей с рецессивными. Мендель пришел к выводу, что рецессивный признак у гибридов первого поколения (F_1) не теряется, а лишь прикрыт доминантным и проявляется в следующем поколении. Он связал развитие признаков с наследственными задатками (генами). Наследственность дискретна, т. е. при скрещивании аллельные факторы не исчезают и не смешиваются, а сохраняются в том же виде, в каком они были у родителей, они передаются через половые клетки из поколения в поколение. Схема записи скрещивания гетерозиготных особей по генотипу подтверждает это.

	♀	♂			
P	желтый горох		X	желтый горох	
	♀ Aa			♂ Aa	
Гаметы	(A) (a)			(A) (a)	
	AA	Aa		Aa	aa
Фенотип	желтый	желтый		желтый	зеленый
Генотип	1	: 2		: 1	
Доминантная		Гетерозигота		Рецессивная	
гомозигота				гомозигота	

Это явление было названо законом расщепления, а позднее — вторым законом Менделя и формулируется следующим образом:

При моногибридном скрещивании гетерозиготных родителей происходит расщепление по фенотипу 3 : 1, а по генотипу — 1 : 2 : 1.

Гипотеза «чистоты» гамет

Закон расщепления можно объяснить гипотезой «чистоты» гамет. Явление несмешивания аллелей, отвечающих за альтернативные признаки в гаметах гетерозиготного организма (гибрида), было названо гипотезой «чистоты» гамет (рис. 72), согласно которой гаметы каждого из родителей несут только по одному из наследуемых факторов.

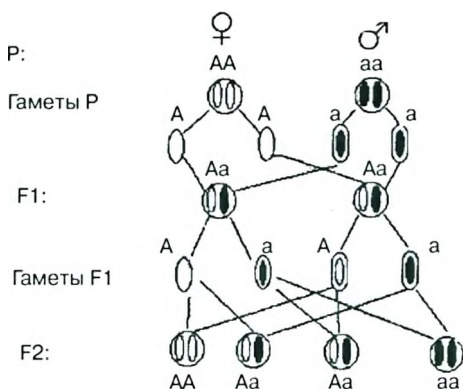
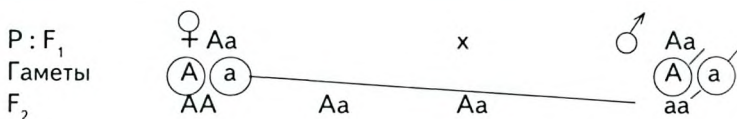


Рис. 72. Цитологическое обоснование гипотезы «чистоты» гамет

В диплоидном организме за каждый признак отвечают два аллельных гена. При образовании гибридов (гетерозиготных особей) аллельные гены не смешиваются, а остаются в неизменном виде. Гибриды — Аа — в результате мейоза образуют два типа гамет. В каждую гамету идет одна из пары гомологичных хромосом с доминантным аллельным геном (А) или с рецессивным аллельным геном (а). Гаметы имеют один ген, поэтому «чисты» от влияния другого аллельного гена.

При оплодотворении мужские и женские гаметы, несущие доминантные и рецессивные аллели, имеют возможность равновероятного сочетания, т.е. свободно комбинируются. При этом восстанавливается парность гомологичных хромосом и аллельных генов. В результате взаимодействия генов после оплодотворения проявился рецессивный признак (зеленый цвет горошин), ген которого в гибридном организме не выявлял своего действия.



Признаки, наследование которых происходит согласно закономерностям, установленным Менделем, называются менделирующими. Простые менделирующие признаки дискретны и имеют моногенные отличия родительских форм. У человека большое количество признаков наследуется по законам Менделя (табл. 2).

Таблица 2

Некоторые доминантные и рецессивные признаки человека

Признаки	Доминантные	Рецессивные
Размер глаз	Большие	Маленькие
Цвет глаз	Карие	Голубые
Разрез глаз	Прямой	Косой
Тип глаз	Монголоидный	Европеоидный
Острота зрения	Близорукость	Нормальная
Верхнее веко	Нависающее (эпикант)	Нормальное
Ямочки на щеках	Есть	Нет
Уши	Широкие	Узкие
Подбородок	Длинный Прямой Широкий	Короткий Отступающий назад Узкий и острый

Признаки	Доминантные	Рецессивные
Выступающие зубы и челюсти	Имеются	Отсутствуют
Щель между резцами	Есть	Нет
Тип волос	С мелкими завитками Жесткие, прямые, «Ежик» Вьющиеся	Вьющиеся, волнистые Прямые, мягкие Волнистые или прямые
Поседение волос	В возрасте 25 лет	После 40 лет
Облысение	У мужчин	У женщин
Белая прядь волос над лбом	Имеется	Отсутствует
Рост волос по средней линии лба	Есть	Нет
Мохнатые брови	Есть	Нет
Нижняя губа	Толстая и отвисающая	Нормальная
Способность загибать язык назад	Есть	Нет
Способность свертывать язык трубочкой	Есть	Нет
Зубы при рождении	Имеются	Отсутствуют
Кожа	Толстая	Тонкая
Цвет кожи	Смуглый	Белый
Веснушки	Есть	Нет
Кисть	С 6 или 7 пальцами	С 5 пальцами
Преобладающая рука	Правая	Левая
Узоры на коже пальцев	Эллиптические	Циркулярные
Антигены системы ABO	A, B	O
Голос (у женщины)	Сопрано	Альт
Голос (у мужчины)	Бас	Тенор
Абсолютный музыкальный слух	Имеется	Отсутствует
Наследственная глухота	Отсутствует	Имеется

Решетка Пеннета

Решетка Пеннета называется так в честь генетика Пеннета, она применяется для записи результатов скрещивания.

Решетку Пеннета строят следующим образом (рис. 73). Сначала выписывают гаметы, которые могут образовывать родители. Затем чертят прямоугольник и записывают гаметы одного родителя на горизонтальной стороне прямоугольника, а другого — на вертикальной. Проводят горизонтальные и вертикальные линии по количеству гамет каждого родителя. Гаметы вписывают в образовавшиеся клетки, где они, соединяясь друг с другом, образуют генотип организма, а по генотипу можно определить и фенотип, зная, какие гены являются доминантными, а какие — рецессивными.

Гаметы ♀ \ ♂	○ A	○ A
Ⓐ	AA	AA
ⓐ	Aa	Aa

Рис. 73. Решетка Пеннета

Ди- и полигибридное скрещивание. Третий закон Менделя

После установления закономерностей наследования признаков при моногибридном скрещивании Г. Мендель проводил скрещивание, где родительские пары отличались двумя признаками. Такое скрещивание называют дигибридным (рис. 74). Скрещивание, при котором родители отличаются большим количеством признаков, называют полигибридным. При дигибридном скрещивании сорта гороха отличаются двумя признаками: формой семян (гладкая или морщинистая) и их окраской (желтая или зеленая). Скрещивают дигомозиготные растения по таким доминантным признакам, как форма и цвет семян (гладкие и желтые) (RRYY) с дигомозиготными по рецессивным признакам (морщинистые и зеленые семена) (rryy). В первом поколении (F₁) растения были однородны и проявляли оба доминантных признака. Они были гладкие и желтые (RRYy), так как гладкая поверхность доминирует над морщинистой, а желтая окраска — над зеленой. При скрещивании между собой полученных дигетерозигот (гладких желтых се-

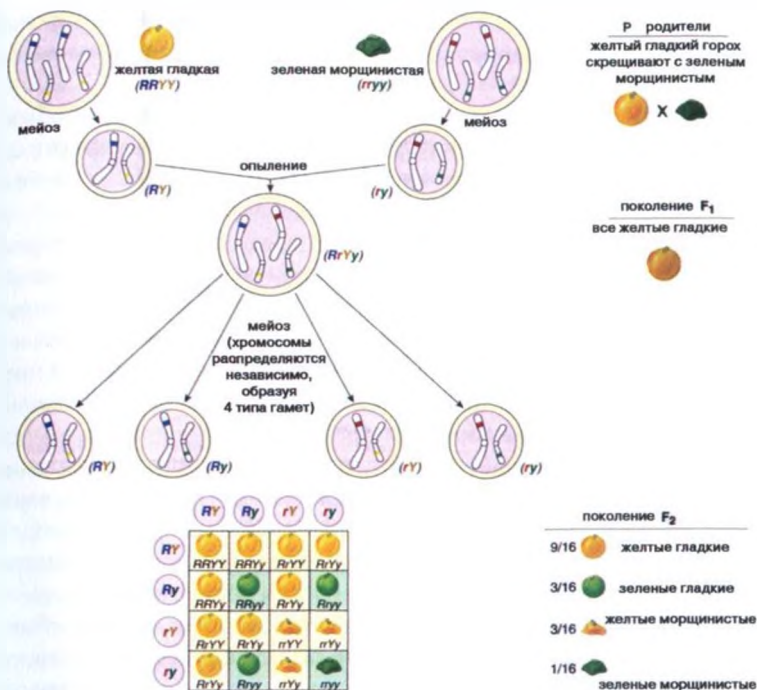


Рис. 74. Дигибридное скрещивание — третий закон Менделя

мян) ($RrYy$) во втором поколении (F_2) Мендель обнаружил четыре типа семян. Наряду с исходными фенотипами (гладкие желтые и зеленые морщинистые) появились две новые комбинации фенотипа: морщинистые желтые и гладкие зеленые семена.

У дигетерозиготной особи $RrYy$ в результате мейоза в каждую гамету попало по одному из аллельных генов из гомологичной пары хромосом. При формировании гамет аллель R мог оказаться в одной гамете с Y или y . Аллель r мог попасть в одну гамету с Y или y . Дигетерозиготная особь образовала четыре типа гамет: RY , Ry , rY , ry .

При слиянии гамет возможно появление 16 комбинаций. Произошло расщепление по фенотипу в соотношении 9 : 3 : 3 : 1, 9 особей с двумя доминантными признаками (желтый, гладкий), 1 — особь с двумя рецессивными признаками (зеленый, морщинистый),

3 особи — с одним доминантным, а другим рецессивным признаком (желтый, морщинистый), 3 особи с другими доминантным и рецессивным признаками (зеленый, гладкий).

Такую сложную комбинацию сочетания фенотипов Мендель объяснил исходя из предположения о наличии наследственных факторов, или генов, которые отвечают за отдельные признаки. При образовании половых клеток гены разных пар попадают в них, независимо друг от друга комбинируясь во всевозможных сочетаниях. Сложность расщепления представляет собой комбинационный ряд из двух моногибридных расщеплений по форме и цвету семян. Если мы подсчитаем соотношение гладких и морщинистых горошин, а также желтых и зеленых, то получим 12 желтых, 4 зеленых (3 : 1) и 12 гладких, 4 морщинистых (3 : 1). Мендель показал, что дигибридное скрещивание — комбинация двух моногибридных скрещиваний. Посмотрев совместно оба признака, была обнаружена комбинаторика (сочетание признаков) 9 : 3 : 3 : 1, это является, собственно, произведением вероятностей двух независимых событий (3 : 1)². Это послужило поводом для создания закона о независимом комбинировании признаков, связанном с независимым нахождением генов в разных хромосомах.

Заслуга Г. Менделя состоит в том, что на основе математического анализа данных, полученных им при скрещивании гороха, он разгадал закономерность, характеризующую дискретное поведение наследственных факторов (генов, находящихся в разных негомологичных хромосомах) при мейозе и соединении гамет при оплодотворении. Таким образом, форма семян наследуется отдельно от их окраски. Это явилось фундаментальным открытием процесса наследования независимых признаков.

В этом, собственно, и состоит Третий закон Менделя, который гласит: **Наследственные признаки передаются поколению независимо друг от друга, сочетаясь во всех возможных комбинациях. В настоящее время мы знаем, что это происходит только в том случае, если гены, отвечающие за данные признаки, находятся в различных (негомологичных) хромосомах или достаточно далеко друг от друга в одной и той же хромосоме.**

Независимое наследование у человека может происходить при наследовании групп крови в системе АВО и резус Rh-фактора.

У человека IV группы крови в системе АВО и положительный или отрицательный резус-фактор.

Резус-фактор — Rh-антиген, содержащийся на эритроцитах человека и обезьяны (*Macacus rhesus* — макаки резус), был обнаружен К. Ландштейнером и Винером в 1939 г. в крови людей с помощью сыворотки животных, иммунизированных эритроцитами обезьяны. Система резус-фактор является важнейшей генетической системой групп крови человека после системы групп крови АВО.

Резус-фактор передается по наследству и не изменяется в течение жизни. 85% людей на земном шаре имеют резус Rh-положительную кровь, а 15% — резус Rh-отрицательную. Синтез антигенов контролируется тремя парами сцепленных неаллельных генов — Cc, Dd, Ee, расположенных на коротком плече хромосомы. В эритроцитах они могут образовывать 27 генотипов. Наибольшее значение среди них имеет ген D. Антиген D выявляется у 85% людей.

Резус-фактор генетически детерминирован и наследуется по доминантному типу. Резус Rh-положительный организм может иметь генотип DD или Dd, а резус Rh-отрицательный — dd.

Если резус Rh-отрицательная женщина выходит замуж за гомозиготного резус Rh-положительного мужчину, то их ребенок будет иметь положительный резус — Rh+ фактор.

Резус Rh-фактор развивающегося плода будет являться антигеном для организма матери, и потому может возникнуть резус-конфликт. Но кровоток матери отделен от кровотока плода плацентарным барьером, через который эритроциты плода не могут проникнуть в кровеносное русло матери. Первая беременность, как правило, заканчивается благополучно. При родах несколько миллилитров крови при отслойке плаценты проникают в кровяное русло матери.

В результате этого в организме матери вырабатываются антитела против антигена положительного резус Rh-фактора. Эти антитела называют антирезус-антитела.

Антирезус-антитела способны проникать через плацентарный барьер и при повторной беременности взаимодействовать с Rh-фактором плода. В результате может возникнуть иммунологический конфликт, произойдет гемолиз эритроцитов и разовьется гемолитическая анемия.

Состояние плода при резус-конфликте тем тяжелее, чем более высок титр антител у матери (рис. 77). Однако полного параллелизма между высотой титра резус-антител в крови матери и тяжестью гемолитической болезни новорожденных не существует. При

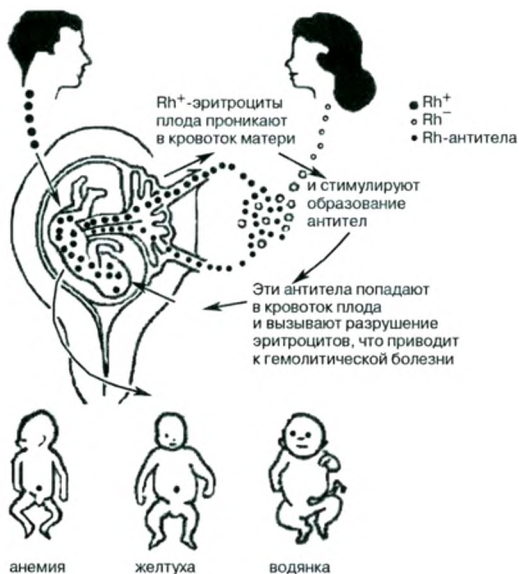


Рис. 77. Несовместимость по резус-фактору. Резус-конфликт

относительно низких титрах резус-антител в сыворотке крови матери наблюдаются смертельные исходы у плодов, а при высоких титрах материнских антител у Rh-положительного ребенка развиваются легкие формы гемолитической болезни новорожденных.

Вторая беременность чаще заканчивается выкидышем, или мертворождением, или рождается ребенок с гемолитической болезнью. Для гемолитической болезни характерны гемолитическая желтуха, тяжелая анемия. Чтобы спасти ребенка, ему необходимо срочно переливать резус-отрицательную кровь. С целью иммунопрофилактики Р. Финн. и соавт. (1961 г.) предложили вводить женщине сразу же после родов или аборта в первые 72 часа анти-D-антитела в дозе 250—300 мкг. Эта доза нейтрализует 30 мл крови плода, попадающей при родах в материнский кровоток. Это позволило снизить детскую смертность из-за гемолитической болезни с 10% до 0.

Резус Rh-отрицательным женщинам противопоказано переливание резус-положительной крови, чтобы не возникло бесплодие.

Глава V

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ
АЛЛЕЛЬНЫХ
И НЕАЛЛЕЛЬНЫХ
ГЕНОВ**

Развитие того или иного признака всегда обусловлено взаимодействием генов. Различные формы одного и того же гена называются аллельными. Аллельные гены находятся в гомологичных участках гомологичных хромосом. Таким образом, аллели — одна из альтернативных форм гена в классической генетике. Под аллелью гена понимают его функциональное проявление: окраска семян у гороха может быть желтой или зеленой, это зависит от взаимодействия аллелей.

В молекулярной генетике аллель гена рассматривается как один из вариантов нуклеотидной последовательности определенного участка ДНК. Замена одного нуклеотида в гене ведет к такому заболеванию, как серповидно-клеточная анемия. Взаимодействуют гены не только аллельной пары, но и неаллельные гены, находящиеся в разных локусах и отвечающие за один и тот же признак.

Взаимодействие аллельных генов

Взаимодействие аллельных генов происходит по типу (рис. 76):

- 1) полного доминирования;
- 2) неполного доминирования;
- 3) кодоминирования;
- 4) сверхдоминирования;
- 5) аллельного исключения;
- 6) межаллельной комплементации.

Полное доминирование

При полном доминировании действие одного гена (доминантного) полностью подавляет действие другого (рецессивного).

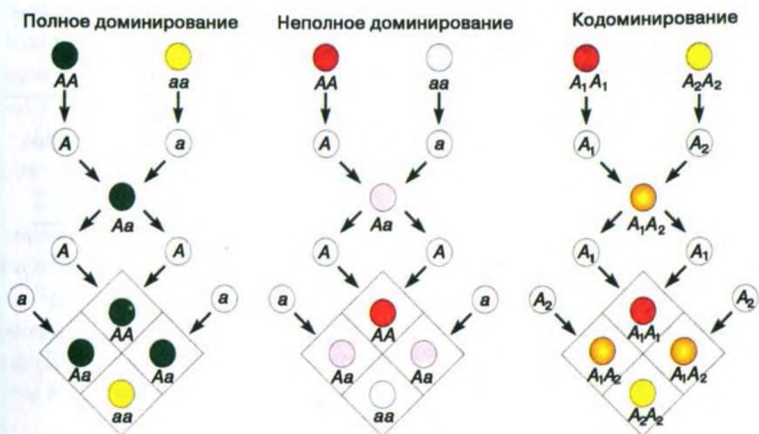


Рис. 76. Типы доминирования различных аллелей

Доминантный признак проявляется в каждом поколении. Например, желтый цвет горошин доминирует над зеленым. Доминантный ген (A) кодирует активную форму фермента, поэтому обеспечивает формирование нормального признака. Рecessивный аллель гена (a) появляется в результате мутаций доминантного гена, т.е. это измененный ген. Он не может кодировать активный фермент, поэтому проявляется другой признак, отличный от доминантного.

Доминирование аллелей можно рассматривать на примере наследования групп крови по системе АВО, которые зависят от наличия или отсутствия антигенов на эритроцитах крови.

Генетика групп крови

Кровь каждого человека характеризуется определенным набором специфических эритроцитарных антигенов. В настоящее время выделяют более 30 систем групп крови.

Девять важнейших генетических систем групп крови, аллоантигены эритроцитов которых вызывают при переливании крови или в результате несовместимой по аллоантигенам беременности у реципиентов (или у беременных женщин) образование антител к соответствующим эритроцитарным аллоантигенам, представлены в табл. 3.

Некоторые важные антитела, специфические к аллоантигенам эритроцитов, генетических систем групп крови человека

Генетические системы групп крови	Антитела	Гемолитические трансфузионные реакции	Гемолитическая болезнь новорожденных
ABO	Анти-А	Да	Да
	Анти-В	Да	Редко
	Анти-А ₁	Очень редко	Нет
	Анти-Н	Нет	Нет
Резус (Rh)	Анти-С	Да	Вероятно
	Анти-с	Да	Вероятно
	Анти-С ^w	Да	
	Анти-D	Да	Да
	Анти-Е	Да	Вероятно
	Анти-е	Да	Вероятно
MNSs	Анти-М, -N, -S, -s	Очень редко	Очень редко
P	Анти-Р ₁	Нет	Нет
Лютеран (Lu)	Анти-Lu ^b	Да	Редко
Келл (K)	Анти-К	Да	Да
Левис (Le)	Анти-Le ^a	Да	Нет
	Анти-Le ^b		
Даффи (Fy)	Анти-Fy ^a	Да	Вероятно
Кидд (Jk)	Анти-Jk ^a	Да	Редко

Группы крови ABO

Система групп крови ABO открыта в 1901 г. К. Ландшейнером. По системе ABO выделяют четыре главные группы (фенотипа) крови, именно: O (I), A (II), B (III), ABO (IV) (рис. 77). Эти группы крови определяли первоначально с помощью сыворотки крови человека, содержащих «естественные» антитела. Смешивание *in vitro* (вне организма) эритроцитов исследуемого лица с соответствующими

сыворотками крови человека, относящимися к четырем указанным выше группам крови, сопровождалось агглютинацией эритроцитов (или ее отсутствием). Результаты такого тестирования представлены в табл. 4.

Первая, или 0, группа крови рецессивна, так как ген 1 не кодирует развитие антигена, на эритроцитах имея генотип I^0I^0 .

Вторая, или А, группа крови — доминантная по отношению к первой группе крови, так как ген I кодирует развитие антигена (А) на эритроцитах, имея генотип I^AI^0 .

Третья, или В, группа крови — также доминантная по отношению к первой группе крови, так как ген I кодирует развитие антигена (В) на эритроцитах, имея генотип (I^BI^0). Таким образом, аллели I^A и I^B выступают доминантными по отношению к аллелю I^0 .

Таблица 4

Группы крови	I	II	III	IV
Антигены	0	A	B	AB
Гены	I^0	I^A	I^B	I^{AB}
Генотипы	I^0I^0	I^AI^A I^AI^0	I^BI^B I^BI^0	I^AI^B

Национальность	Количество людей с группой крови (в %)			
	0 (I)	A (II)	B (III)	AB (IV)
Австралийцы	57	38,5	3	1,5
Австрийцы	42	40	10	8
Англичане	46,4	43,4	7,2	3
Греки	38,5	41,6	16,2	4
Индейцы (Северная Америка)	76,5	23,5	0	0
Итальянцы	47,2	38	11	3,8
Казахи	33,7	26,8	30,9	8,6
Киргизы	37,6	26,5	28,5	7,4
Немцы	40	43	12	5
Французы	43,2	42,6	11,2	3
Японцы	27	41	18	14

Ген системы АВО локализован на девятой хромосоме, состоит из 1062 нуклеотидов, в состав гена входят шесть экзонов и пять нейтронов.

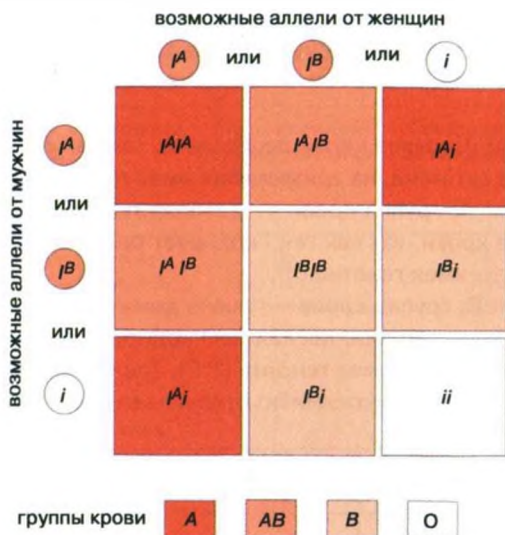


Рис. 77. Наследование групп крови по системе ABO у человека

Ген кодирует белок — галактозил-трансферазу — фермент, катализирующий одну из биохимических реакций. Гены A и B отличаются по мутациям в семи нуклеотидах, но только мутации в четырех позициях — 523, 700, 793, 800 — ведут к изменению белка. У людей, имеющих группу крови A, в этих позициях находятся нуклеотиды ЦГЦГ, тогда как у людей с группой крови B — ГААЦ.

Ген группы крови O у человека отличается от гена группы A тем, что единственная мутация связана с делецией, в позиции 258 нуклеотида Г. Эта делеция привела к сдвигу рамки считывания, нарушает работу фермента, в результате чего не образовался антиген на поверхности эритроцитов.

Неполное доминирование

При неполном доминировании фенотипы гомозигот AA и aa отличаются от фенотипа гетерозиготы Aa. Обе гомозиготы имеют по двойной одинаковой дозе гена и способны сформировать нормальный признак. У гетерозигот — по одному гену из каждой аллели, поэтому не может сформироваться ни один из родительских признаков, проявляется промежуточный признак.

Кодоминирование

При кодоминировании наблюдается такой тип взаимодействия аллельных генов, когда каждый из аллелей в генотипе проявляет свое действие, а в результате возникает новое выражение признака. Пример — формирование IV группы крови. При взаимодействии генов I^A и I^B проявляется новое выражение признака: IV группа крови с генотипом $I^A I^B$. Такие гетерозиготы несут оба антигена А и В, ни один из аллелей при этом не доминирует.

Сверхдоминирование

При сверхдоминировании наблюдается более сильное проявление признака гетерозиготных организмов по сравнению с исходными доминантными гомозиготными родительскими формами. Примером сверхдоминирования у мухи-дрозофилы может служить такой признак, как плодовитость. Плодовитость у гетерозигот была более высокой по сравнению с родительскими формами. Сверхдоминирование объясняется явлением гетерозиса, наблюдаемого у гибридов первого поколения. Гетерозис активно проявляется по количественным признакам, таким как плодовитость, продолжительность жизни, вес и др. Явление сверхдоминирования проявляется у гетерозигот по серповидно-клеточной анемии у человека (рис. 78). Гетерозиготный гемоглобин эритроцитов крови человека $HbA HbS$ обладает большей резистентностью к тропической малярии по сравнению с геном доминантного аллельного гена $HbA HbA$.

Аллельное исключение — в различных клетках организма наблюдается активность одного аллеля, а второй аллель «выключен».

Такое взаимодействие хорошо видно на работе генов в X-хромосоме. Известно, что в X-хромосоме находится более 1000 генов. Например, ген, контролирующий образование потовых желез в коже человека. При наличии доминантного аллеля (А) этого гена

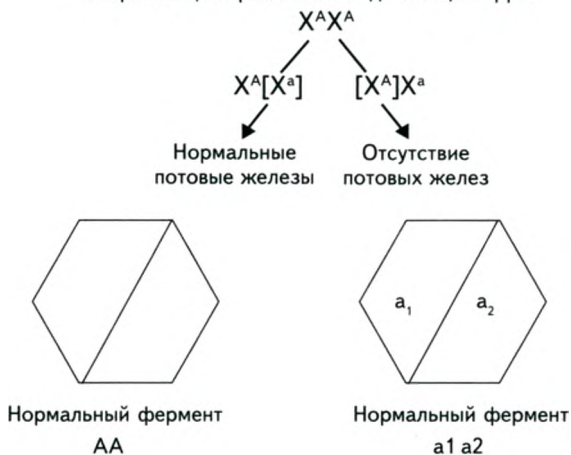


Рис. 78. Форма эритроцитов при серповидно-клеточной анемии

в коже формируются нормальные потовые железы, а при наличии рецессивного аллеля (a) этого гена в X-хромосоме в коже отмечается отсутствие потовых желез.

В различных клетках кожи может быть инактивирована либо одна, либо другая X-хромосома. При этом наблюдается мозаицизм в продолжении потовых желез в коже в результате инактивации одной из X-хромосом.

Спирализация хромосом в виде тельца Барра:



Инактивация (спирализация хромосомы в виде тельца Барра) => отсутствие потовых желез.

Другим примером аллельного исключения является избирательная инактивация генов, кодирующих синтез определенных антител в организме.

Межаллельная комплементация — два мутантных аллеля совместно могут обеспечить нормальный фенотип. Такое взаимодействие проявляется чаще всего на уровне объединения белковых молекул, образующих единый фермент.

Взаимодействие неаллельных генов

Генотип организма — это система взаимодействующих генов. Взаимодействие генов появляется как результат пары аллельных генов, так и результат различных пар неаллельных генов. Очень часто на раз-

вите одного признака оказывают влияние две или несколько пар неаллельных генов. Взаимодействие неаллельных генов проявляется у многих растений и животных, в том числе и у человека.

Различают следующие типы взаимодействия неаллельных генов:

- 1) комплементарное;
- 2) эпистатическое;
- 3) полимерное.

Комплементарное взаимодействие генов

Комплементарное или дополняющее действие генов проявляется при одновременном присутствии в генотипе двух доминантных или рецессивных неаллельных генов, в результате чего формируется новое выражение признака.

Каждый из доминантных генов может проявлять свое действие самостоятельно, если другой неаллельный ген находится в рецессивном состоянии. Оба доминантных гена попадают в генотип, дополняя друг друга, формируют новое проявление признака. Наглядный пример комплементарного взаимодействия генов наблюдается у кур или у петухов при наследовании форм гребня (рис. 79). Две пары неаллельных генов в этом случае обеспечивают появление четырех форм гребня у кур: ореховидного, розовидного, гороховидного и листовидного. При скрещивании кур с гороховидным гребнем (AAвв) и розовидным гребнем (aaBB) все гибриды первого поколения имеют новую форму проявления гребня — ореховидную. Это новое проявление признака возникает благодаря взаимодействию двух доминантных неаллельных генов А и В в дигетерозиготах (AaBb).

При скрещивании дигетерозигот во втором поколении расщепление составляет 9 : 3 : 3 : 1 по фенотипу. Это подтверждает, что за один признак отвечают два неаллельных гена, так как это — формула расщепления при дигибридном скрещивании (см. решетку Пеннета).

	Розовидный	x	Гороховидный
P:	(AAвв)		(aaBB)
	A в		a B
F ₁ :	AaBb		
	Ореховидный		



Розовидный



Гороховидный



Ореховидный



Листовидный

Рис. 79. Форма гребней у кур

Скрещивание гибридов F_1 дает следующие результаты:

F_2 :

гаметы	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB орех.	AABb орех.	AaBB орех.	AaBb орех.
Ab	AABb орех.	AAbb розов.	AaBb орех.	Aabb розов.
aB	AaBB орех.	AaBb орех.	aaBB горох.	aaBb горох.
ab	AaBb орех.	Aabb розов.	aaBb горох.	aabb лист.

Нетрудно заметить, что ореховидным гребнем обладают особи, в генотипе которых присутствуют два доминантных гена одновременно: AABB, AABb, AaBB, AaBb.

Эпистатическое взаимодействие генов

Эпистаз — взаимодействие, при котором один из доминантных или рецессивных неаллельных генов подавляет действие другого неаллельного гена. Каждый из них, находясь в доминантном состоянии, при условии, если другой ген находится в рецессивном, имеет свое фенотипическое проявление. Если оба гена попадают в генотип в доминантном состоянии, то один доминантный ген подавляет действие другого доминантного гена. Ген, подавляющий

действие другого, проявляет эпистатическое действие. Подавленный ген называют гипостатическим.

Эпистаз бывает доминантным и рецессивным. Явление доминантного эпистаза можно наблюдать при наследовании масти лошадей (рис. 80). Вороная окраска определяется доминантным аллелем В, доминантный аллель С дает серую масть. Гомозиготы и гетерозиготы по С-аллелям будут серыми из-за седины волос, независимо от того, какой аллель гена В будет у лошади. Ген С обладает эпистатическим действием по отношению к гену В, так как ген С подавляет развитие вороной окраски. В основе взаимодействия неаллельных генов лежат биохимические реакции белков-ферментов, кодируемых этими генами.

ВВсс — вороная

ВbСС — серая

bbсс — рыжая

ВВСС — серая

ВbСс — серая

Таким образом, мы видим, что доминантный ген С, находясь в гомо- или гетерозиготном состоянии, не дает проявиться ни генам В — вороной окраски, ни генам в — рыжей окраски.

Бомбейский феномен

Рецессивный эпистаз можно рассмотреть на примере бомбейского феномена. В семье женщины с I группой крови ($I^{0}I^{0}$) и мужчины со II группой крови ($I^{A}I^{A}$) родился ребенок с IV группой крови ($I^{A}I^{B}$). С точки зрения традиционного наследования, т.е. взаимодействия аллельных генов групп крови, — это невозможно. Детальное исследование этого феномена показало, что для синтеза антигенов групп крови А и В в системе АВО еще необходим белок-предшественник, который детерминируется доминантным геном Н. Если в генотипе рецессивные гомозиготы, имеющие аллели белка предшественника hh, сочетаются с доминантными аллелями гена крови I^A или I^B , антигены А и В не синтезируются и фенотипически такие люди имеют группу $I^{0}I^{0}$. При исследовании этого феномена оказалось, что женщина унаследовала от матери ген I^B , а от отца — ген I^0 . Проявил свое действие только ген I^0 , и поэтому считалось, что женщина имеет I группу крови. Ген I^B был подавлен рецессивным геном h, находящимся в гомозиготном состоянии hh. Подавленный ген I^B проявил свое действие во втором поколении, и ребенок имел IV группу крови.

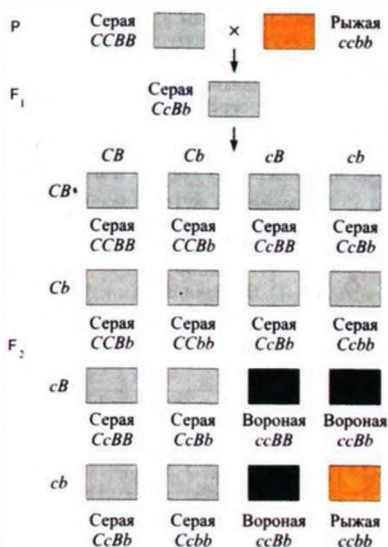


Рис. 80. Наследование окраски у лошадей по типу доминантного эпистаза

Эпистаз при наследовании масти у лошадей

Полимерное действие генов

Полимерное действие генов связано с тем, что несколько неаллельных генов однотипного действия могут отвечать за один и тот же признак, усиливая или понижая его проявление. Признаки, зависящие от многих полимерных генов, относят, как правило, к количественным — вес, рост, умственные способности, цвет кожи. Если бы количественные признаки не контролировались полигенно, то у количественных признаков не было бы переходов. Гены, отвечающие за развитие количественных признаков, обладают суммарным эффектом.

Степень проявления признака зависит от сочетания доминантных и рецессивных аллелей. Чем больше доминантных генов, тем сильнее проявляется признак. Полимерные гены отвечают за реализацию одного и того же признака, и поэтому их обозначают одной и той же буквой, цифрами указывая число аллельных пар: $A_1A_2A_3A_4A_5$. Например, за пигментацию кожи у человека отвечают полимерные гены S_1S_2 . В присутствии доминантных аллелей этих ге-

нов синтезируется много пигмента, а в присутствии рецессивных — мало. Интенсивность пигментации кожи зависит от количества пигмента и определяется количественным сочетанием доминантных и рецессивных генов.

От брака между женщиной с черным цветом кожи и мужчиной с белой кожей рождаются мулаты, имеющие промежуточную окраску кожи.

Темный цвет кожи	X	Светлый цвет кожи
P: +S ₁ S ₁ S ₂ S ₂		s ₁ s ₁ s ₂ s ₂
Гаметы (S ₁ S ₂)		(s ₁ s ₂)
F ₁ :		S ₁ s ₁ S ₂ s ₂ (мулат)

От брака между мулатами с генотипом S₁s₁S₂s₂ могут рождаться дети с пигментацией кожи от светлой до темной, что определяется комбинацией двух пар аллелей полимерных генов (табл. 5).

P: ♀ S₁s₁S₂s₂ X ♂ S₁s₁S₂s₂

Таблица 5

Гаметы ♀ \ ♂	S ₁ S ₂	S ₁ s ₂	s ₁ S ₂	s ₁ s ₂
S ₁ S ₂	S ₁ S ₁ S ₂ S ₂	S ₁ S ₁ s ₂ S ₂	S ₁ s ₁ S ₂ S ₂	S ₁ s ₁ s ₂ S ₂
S ₁ s ₂	S ₁ S ₁ S ₂ s ₂	S ₁ S ₁ s ₂ s ₂	S ₁ s ₁ S ₂ s ₂	S ₁ s ₁ s ₂ s ₂
s ₁ S ₂	S ₁ s ₁ S ₂ S ₂	S ₁ s ₁ s ₂ S ₂	S ₁ s ₁ S ₂ s ₂	s ₁ s ₁ S ₂ s ₂
s ₁ s ₂	S ₁ s ₁ S ₂ s ₂	S ₁ s ₁ s ₂ s ₂	s ₁ s ₁ S ₂ s ₂	s ₁ s ₁ s ₂ s ₂

Вероятность рождения ребенка с белым и черным цветом кожи равна 1/16.

Множественный аллелизм

Многие гены у разных организмов существуют более чем в двух аллельных состояниях. Множественный аллелизм возникает вследствие мутаций. Большинство генов состоят из тысяч нуклеотидных последовательностей ДНК. Мутации приводят к замене или изменению количества нуклеотидов, и это может происходить в разных участках гена, порождая новые аллели гена. Но в генотипе любого

диплоидного организма могут находиться только два гена из серии аллелей. Остальные аллели данного гена в разных сочетаниях входят в генотипы других особей данного вида в популяции. Множественный аллелизм характеризует разнообразие генофондов вида и имеет большое значение в эволюции. Все аллели одного и того же гена обозначают одной буквой с разными индексами: A^1 , A^2 , A^3 , A^4 и т.д.

Множественный аллелизм можно проследить на примере кроликов по генам окраски шерсти. Гены, отвечающие за окраску шерсти, у кроликов аллельны и находятся в гомологичных хромосомах в одних и тех же локусах. Ген дикой окраски (C) доминирует над всеми остальными генами окраски. Ген шиншилловой (c^{sh}) и гималайской (c^h) доминирует над геном альбинизма (c) (рис. 81).

Гетерозиготы от шиншилловой и гималайской окраски дают светло-серую окраску.



Генотип: C
Фенотип: дикий тип окраски — агуты



Генотип: C^{sh}
Фенотип: шиншилла или светло-черный



Генотип: C^h
Фенотип: гималайский



Генотип: c
Фенотип: альбинизм

Рис. 81. Окраска шерсти кроликов

У дрозофилы известно множество аллелей цвета глаз, от нормального красного цвета до полного отсутствия пигмента — белого.

Примером множественных аллелей у человека могут быть гены, отвечающие за развитие АВО групп крови, эти гены встречаются в трех разных формах: I^A , I^B , I^0 . Гены I^A и I^B доминантны по отношению к гену I^0 . Множественные аллели не только детерминируют развитие разновидностей одного признака, но и оказываются в разных доминантно-рецессивных отношениях друг с другом.

Плейотропное действие гена. Синдром Марфана

Множественное действие одного гена называется плейотропным действием. Плейотропная мутация изменяет сразу несколько признаков организма. Примером плейотропной мутации может быть синдром Марфана, который относится к числу наследственных болезней обмена веществ и характеризуется системным поражением соединительной ткани.

Синдром Марфана проявляется в результате доминантной мутации гена, ответственного за синтез белка соединительно-тканых волокон фибриллина. Блокирование синтеза фибриллина приводит к повышенной растяжимости соединительной ткани.

Описан синдром В. Марфана в 1886 г. (рис. 82).

Частота синдрома Марфана в популяции 1 : 10 000 человек. Синдромом Марфана страдали президент США Авраам Линкольн и великий итальянский скрипач Никколо Паганини, президент Франции Шарль де Голль.



Рис. 82. Синдром Марфана. Очень длинные кисти, стопы и пальцы

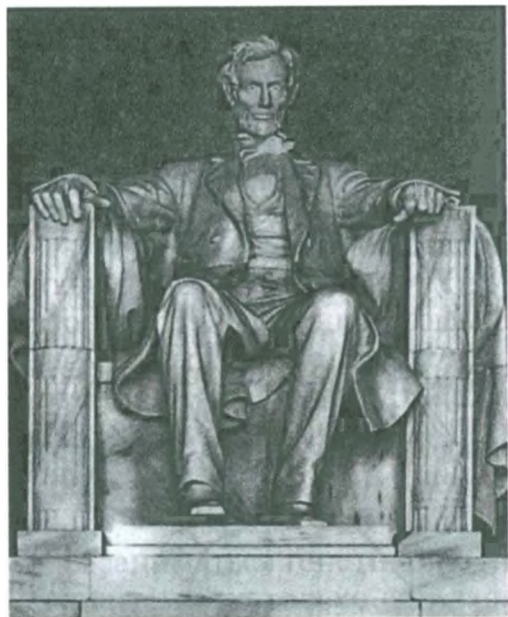


Рис. 83. Синдром Марфана. Памятник Аврааму Линкольну (гигантский рост — 193 см, относительно небольшое туловище, огромные ноги, руки, стопы, очень длинные пальцы)

Глава VI

**ХРОМОСОМНАЯ
ТЕОРИЯ
НАСЛЕДСТВЕННОСТИ**

В начале XX в. благодаря Грегору Менделю стало известно, что передача признаков и свойств организма связана с наследственными факторами, или генами. В то время трудно было связать данные, полученные Г. Менделем, с какими-то структурами в клетках и гаметах, с помощью которых наследственные факторы передаются от родителей к детям. В 1875 г. немецкий эмбриолог Гервиг обратил внимание на то, что при оплодотворении яиц морского ежа происходит слияние ядер спермия и яйцеклеток. В 1882 г. Флеминг описал поведение хромосом во время митоза.

В 1902 г. два исследователя — Вальтер Саттон в США и Теодор Бовери в Германии — независимо друг от друга сопоставили менделевские законы наследственности с поведением хромосом.

1. Подобно генам, хромосомы парные: каждая клетка содержит два их набора: один — от отца, а другой — от матери.

2. Мендель предполагал, что половые клетки содержат только по одному из двух генов, определяющих каждый признак. Но и в каждой половой клетке имеется по одному набору хромосом, т.е. по одной хромосоме из каждой пары.

3. Мендель полагал, что каждый признак наследуется независимо от других, и хромосомы попадают в половые клетки независимо, т.е. случайно.

Таким образом, был установлен параллелизм между наследованием генов и хромосом. Ученые предположили, что гены находятся в хромосомах.

Но чтобы доказать, что хромосомы действительно являются носителями генов, потребовались годы.

В. Саттон высказал предположение, что гены, расположенные в одной хромосоме, будут наследоваться вместе. В 1906 г. У. Бетсон

и Р. Пеннет наблюдали сцепление признаков у душистого горошка при дигибридном скрещивании на примере окраски цветка и формы пыльцевых зерен. Но не смогли объяснить и доказать хромосомную природу этого явления.

В 1909 г. эмбриолог Томас Морган начал заниматься генетикой. Вместе со своими сотрудниками и студентами он не только доказал, что наследственность обусловлена генами, но и первым установил месторасположение отдельных генов в соответствующих хромосомах. Эти работы окончательно подтвердили, что параллелизм поведения генов определяется параллелизмом поведения хромосом в мейозе. Объектом своих исследований Морган избрал насекомое — плодовую мушку-дрозофилу. От растений, дающих одно поколение в год, плодовые мушки отличались очень выгодно. Они давали новое поколение каждые две недели.

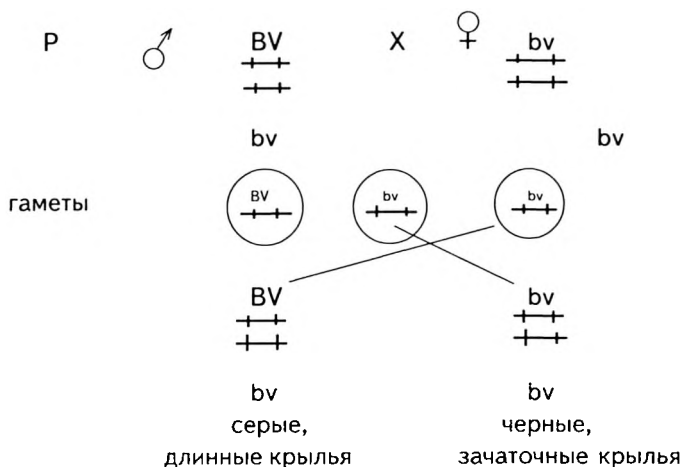
Полное сцепление

В своих экспериментах Т. Морган исследовал закономерности наследования мутаций (b — черное тело и v — зачаточные крылья) у мухи *D. melanogaster*. Доминантные аллели дикого типа определяли серое тело (B) и нормальные крылья (V).

Скрещивание серой мухи с нормальными крыльями (дигомозиготной $BbVv$) с черной мухой с зачаточными крыльями ($bbvv$) в первом поколении дает серых гибридов с нормальными крыльями ($BbVv$ — дигетерозиготы). На основании закона независимого наследования признаков, эти дигетерозиготы ($BbVv$) должны дать четыре типа гамет: BV , Bv , bV , bv .

При скрещивании дигетерозиготного самца ♂ ($BbVv$) из первого поколения с черной самкой ♀ с зачаточными крыльями ($bbvv$), согласно третьему закону Менделя, исследователи должны были получить следующую схему, по которой во втором поколении произойдет расщепление в отношении $1:1:1:1$, причем наряду с исходными формами — серый цвет тела и длинные крылья ($BbVv$) и черный цвет тела и зачаточные крылья ($bbvv$) — также должны были проявиться черные мухи с длинными крыльями ($bbVv$) и серые с зачаточными крыльями ($Bbvv$) с одинаковой частотой $1:1:1:1$. Однако в эксперименте получались данные, не подтверждающие этот расчет, основанный на третьем законе Менделя. Вместо четы-

рех типов особей при анализирующем скрещивании получается только два: мухи черные с зачаточными крыльями и нормальные по обоим признакам, т. е. исходные формы, взятые первоначально для скрещивания. Анализ полученных данных дает право заключить, что черный цвет тела и зачаточные крылья, вероятно, наследуются вместе — сцеплены между собой, так же как и их нормальные аллели, — серый цвет и длинные крылья, т.е. находятся в одной и той же хромосоме. Запись данного скрещивания с хромосомами подтверждает это:



Гены В и V наследуются совместно, так как находятся в одной хромосоме. Такое совместное наследование Т. Морган назвал сцеплением.

Может возникнуть вопрос: не являются ли эти два признака — цвет тела и длина крыльев — зависимыми от одного гена? В работах Т. Моргана было доказано, что эти два признака детерминируют два различных гена. Таким образом, было открыто правило, определяющее характер наследования при локализации генов в одной хромосоме. Обнаружение явления сцепления окончательно убедило исследователей, что именно хромосомы являются носителями тех материальных частиц, которые назвали генами.

Если гены находятся в одной хромосоме и всегда передаются вместе, говорят о полном сцеплении.

В опытах с дрозофилой полное сцепление наблюдается только у самцов (рис. 84), т.е. у самцов дрозофилы имеется полное сцепление генов в одной хромосоме. Как показали опыты, у самки дрозофилы и других представителей мужского и женского пола полного сцепления нет, а наблюдается частичное сцепление.

Неполное сцепление

Из первого поколения были взяты дигетерозиготные самки ♀ (BbVv) и скрещены с рецессивными дигомозиготными самцами ♂ (bbvv).

В потомстве таких самок было получено не два, а четыре типа особей. Кроме мух черных с зачаточными крыльями и мух, имеющих серый цвет и длинные крылья, были получены мухи серого цвета с зачаточными крыльями и черные с длинными крыльями (рис. 85, 86).

По числу различных форм результат как будто бы соответствовал тому, что должно было получиться на основании закона независимого комбинирования признаков.

В таком случае надо было ожидать, что четыре типа мух появятся в количественном отношении $1 : 1 : 1 : 1$. Однако при подсчете потомства количество мух с серым цветом тела и длинными крыльями и черных с зачаточными крыльями получается значительно больше, по 41,5% (всего 83%), тогда как серых с зачаточными крыльями и черных с длинными крыльями — по 8,5% (всего 17%).

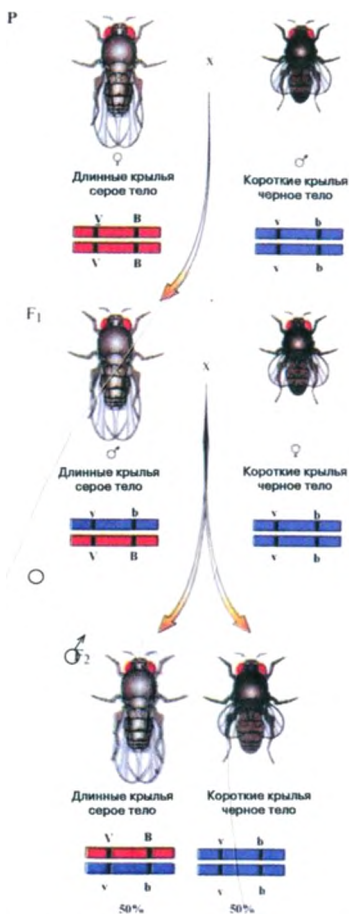


Рис. 84. Полное сцепление. Схема опыта

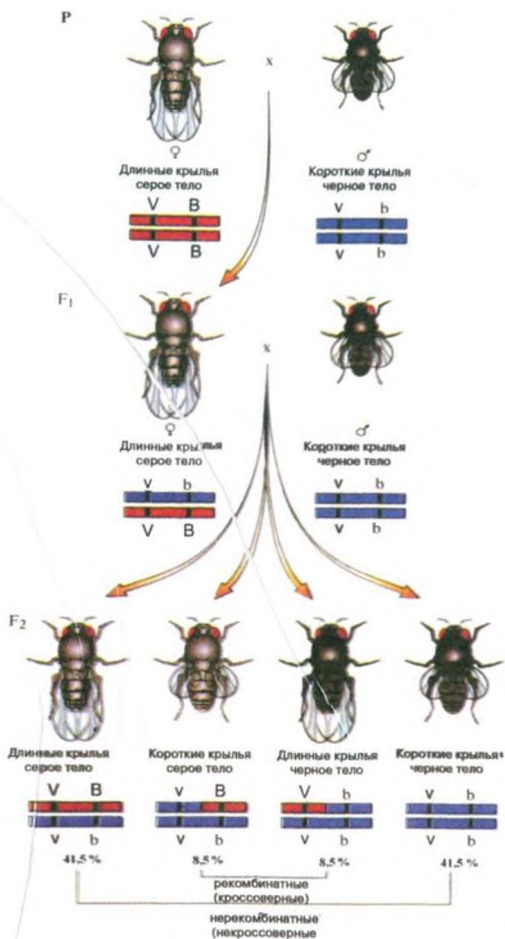


Рис. 85. Неполное сцепление. Схема опыта

Проведение повторных опытов подобного рода показало, что этот результат при одних и тех же условиях постановки опыта — постоянный.

Таким образом, у гибридной дигетерозиготной самки происходит нарушение сцепления, ведущее к появлению новых комбинаций генов (в данном случае — $8,5\% + 8,5\% = 17\%$).

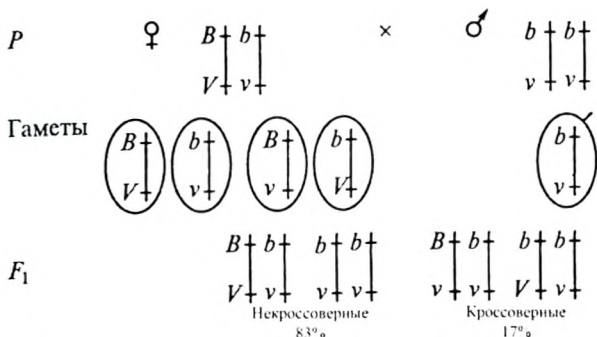


Рис. 86. Схема скрещивания. Неполное сцепление

Если факт сцепления генов объясняется локализацией сцепленных генов в одной хромосоме, то как объяснить нарушение этого сцепления?

Механизм неполного сцепления — кроссинговер

Опираясь на наблюдения Ф. Янсена, обнаружившего в мейозе хизмы (X-образная структура, возникшая вследствие кроссинговера), Морган предположил, что особи $Bbv v$ и $bbVv$ появились в результате перекреста и разрыва гомологичных хромосом, благодаря чему и происходит обмен гомологичными участками гомологичных хромосом в точках между генами B и V . Сам процесс перекреста был назван кроссинговером, и особи, образовавшиеся из гамет, сочетающих в результате перекреста признаки обоих родителей, — кроссоверными (17%). Особи, образовавшиеся из гамет, у которых не было кроссинговера, были названы некроссоверными (83%).

Кроссинговер

Такой процесс Т. Морган назвал генетической рекомбинацией генов. Генетическая рекомбинация генов может происходить с разной частотой. Этот процесс зависит от того, на каком расстоянии друг от друга расположены гены. Кроссинговер может происходить на разных участках хромосомы. Если два гена находятся близко друг от друга, то при кроссинговере они остаются вместе, если далеко — то воз-

возможность перекреста больше. При независимом комбинировании генов 50% особей сочетают признаки обоих родителей.

Кроссинговер между несестринскими хроматидами происходит в профазе 1-го мейотического деления на стадии тетрады, т.е. четырех хроматид. В каждой точке обмена происходит разрыв и воссоединение только двух из четырех несестринских хроматид. Кроссинговер может происходить не только во время мейоза, но и митоза, на стадии четырех хроматид, они могут перекрещиваться. Частота митотического кроссинговера значительно ниже мейотического. Морган допускал, что перекрест между хроматидами гомологичных хромосом может происходить одновременно в нескольких точках: если происходит в одной точке — называется одиночным кроссинговером, в двух точках одновременно — двойным, т.е. кроссинговер может быть множественным. Каждый двойной кроссинговер возникает благодаря двум независимым одинарным разрывам в двух точках, поэтому двойные кроссинговеры сокращают регистрируемое расстояние между генами.

На основании этих данных Морган выдвинул гипотезу о линейном расположении генов в хромосоме. Эта гипотеза была доказана опытами Моргана на основании открытия сцепления и рекомбинации. Это важный аргумент в пользу того, что гены расположены линейно вдоль хромосом, благодаря чему было введено понятие генетического картирования — определение положения какого-либо гена по отношению к двум (как минимум двум) генам. Постоянство процесса кроссинговера между определенными генами позволяет локализовать их. За единицу расстояния между генами принято считать 1 морганиду, названную в честь Моргана в 1919 г. Дж. Холдейном, равную 1% кроссинговера. При расстоянии 50 морганид и более признаки наследуются независимо, несмотря на локализацию их в одной хромосоме.

В нашем примере при 17% кроссинговера расстояние между генами В и V равно 17 морганидам.

Морган и его сотрудники показали, что, установив группу сцепления, можно построить генетические карты и указать порядок расположения генов.

Генетической картой хромосом называют схему взаимного расположения генов, находящихся в одной группе сцепления. Определение группы сцепления осуществляется гибридологическим методом, т.е. при изучении результатов скрещивания.

Если известно, что расстояние между двумя генами одной группы сцепления А и С составляло 4%, и необходимо установить место третьего гена В в той же хромосоме, то необходимо выяснить процент кроссинговера между геном В и генами А и С. Если процент кроссинговера между А и В составил 3%, то ген В расположен между А и С. Если процент кроссинговера между А и В составил 5%, то ген В находится на одном из концов хромосомы.



Схема взаимного расположения генов А, В, С

На основании опытов Т. Морган и его сотрудники сформулировали основные положения хромосомной теории.

Преемственность свойств организмов в ряду поколений определяется преемственностью их хромосом. Было установлено, что:

- гены находятся в хромосомах;
- каждый ген занимает определенное место в хромосоме;
- гены в хромосоме расположены в линейном порядке;
- каждая хромосома представляет собой группу сцепления;
- число групп сцепления равно гаплоидному числу хромосом;
- между гомологичными хромосомами происходит обмен аллельными генами;
- расстояние между генами пропорционально проценту кроссинговера между ними.

Теперь мы можем сказать, что для каждого гена существует два принципиальных типа наследования:

Ген может наследоваться:

1. Сцепленно с другими генами.
2. Независимо от других генов.

Хромосомный механизм определения пола

В конце XIX — начале XX в. некоторые исследователи показали, что у ряда насекомых хромосомный набор самцов и самок

различается между собой. Так, Уилсон обнаружил, что у клопа *Lygaeus turneus* самки имеют 7 пар хромосом, у самца — 6 пар одинаковых с самкой хромосом, а в седьмой паре одна хромосома такая же, как соответствующая хромосома самки, а другая значительно меньше по размеру. Дальнейшие исследования, связанные с хромосомным механизмом наследования пола, принадлежат школе Т. Моргана. В 1914 г. Э. Вильсон, работавший в лаборатории Т. Моргана, доказал, что важнейшая роль в генетической детерминации пола принадлежит хромосомному аппарату. При изучении кариотипа мухи-дрозофилы было доказано, что кариотипы самки и самца различны, и это различие — по одной из четырех пар хромосом, которые он назвал половыми хромосомами. Остальные три пары называют аутосомами. У самки — две одинаковые половые хромосомы, их обозначили как X-хромосомы, у самца — одна X-хромосома, идентичная женской половой хромосоме, другая — короткая Y-хромосома. Женский пол имеет две X-хромосомы, мужской пол имеет две различные хромосомы — X и Y. От сочетания X- и Y-хромосом зависит пол насекомых. Самки дрозофилы будут образовывать только один тип гамет (3A + X), тогда как в гонадах самцов будут образовываться два типа гамет (3A + X) и (3A + Y), где A — аутосомы. В данном случае женский пол называют *гомогаметным* (XX), мужской — *гетерогаметным* (XY). У человека гомогаметный пол — женский. Все яйцеклетки женщины содержат гаплоидный набор аутосом и одну X-хромосому (22 + X). У мужчин сперматозоиды могут быть двух типов: одна половина несет гаплоидный набор хромосом и X-хромосому (22 + X), другая половина — гаплоидный набор аутосом и Y-хромосому. Мужской пол у человека, соответственно, гетерогаметен. Такой тип наследования пола встречается у млекопитающих, рыб, у двукрылых насекомых, а также у двудольных растений.

Другой тип наследования пола наблюдается у кур. Гетерогаметным является женский пол (WZ), а гомогаметным — мужской (ZZ). Такой же тип наследования пола наблюдается у бабочек, птиц, некоторых рыб и земноводных.

Третий тип хромосомного наследования пола характерен для многих клопов, жуков, прямокрылых насекомых, пауков, многоножек и нематод. Женские особи имеют гомогаметный генотип (XX),

предуцируют гаметы с X-хромосомой, мужские особи имеют моногаметный тип (X⁰), производят сперматозоиды с X-хромосомой или без нее (0) (рис. 88).

В природе более широко распространен гетерогаметный мужской пол (XY, X⁰).

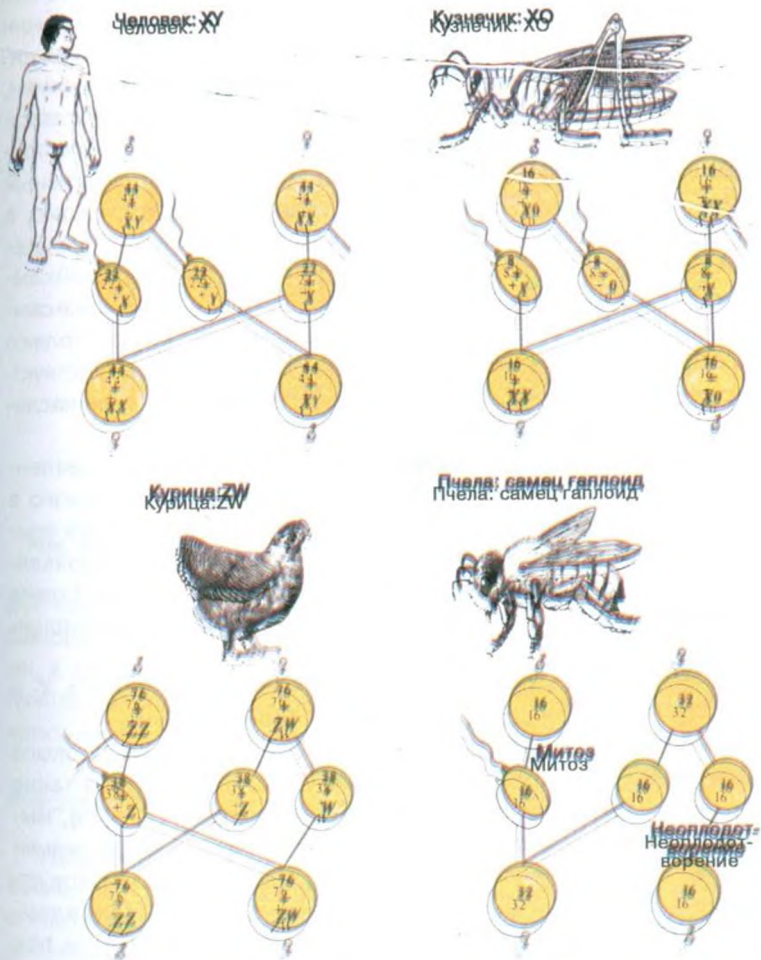


Рис. 87. Четыре типа определения пола

Наследование признаков, сцепленных с полом

Морган и его сотрудники заметили, что наследование окраски глаз у дрозофилы зависит от пола родительских особей, несущих альтернативные аллели. Красная окраска глаз доминирует над белой. При скрещивании красноглазого самца с белоглазой самкой в F_1 получили равное число красноглазых самок и белоглазых самцов. Однако при скрещивании белоглазого самца с красноглазой самкой в F_1 были получены в равном числе красноглазые самцы и самки. При скрещивании этих мух F_1 между собой были получены красноглазые самки, красноглазые и белоглазые самцы, но не было ни одной белоглазой самки. Тот факт, что у самцов частота проявления рецессивного признака была выше, чем у самок, наводил на мысль, что рецессивный аллель, определяющий белоглазость, находится в X -хромосоме, а Y -хромосома лишена гена окраски глаз. Чтобы проверить эту гипотезу, Морган скрестил исходного белоглазого самца с красноглазой самкой из F_1 . В потомстве были получены красноглазые и белоглазые самцы и самки. Из этого Морган справедливо заключил, что только X -хромосома несет ген окраски глаз. В Y -хромосоме соответствующего локуса вообще нет. Это явление известно под названием наследования, сцепленного с полом (рис. 88).

Гены, находящиеся в половых хромосомах, называют сцепленными с полом. В X -хромосоме имеется участок, для которого в Y -хромосоме нет гомолога. Поэтому у особей мужского пола признаки, определяемые генами этого участка хромосомы, проявляются даже в том случае, если они рецессивны. Эта особая форма сцепления позволяет объяснить наследование признаков, сцепленных с полом.

При локализации генов в негомологичных участках или в X - и Y -хромосомах наблюдается полное сцепление с полом.

У человека более 1000 генов находятся в X -хромосоме и около 300 генов идентифицировано, среди них гены, вызывающие такие заболевания, как гемофилия, дальтонизм (цветовая слепота), мышечная дистрофия, потемнение эмали зубов, одна из форм агаммглобулинемии и др. (рис. 89, 90). Наследование таких признаков отклоняется от закономерностей, установленных Г. Менделем. X -хромосома закономерно переходит от одного пола к другому, при этом дочь наследует X -хромосому отца, а сын — X -хромосому мате-

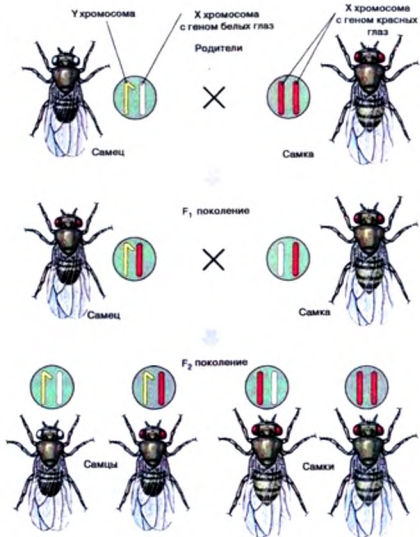


Рис. 88. Сцепленное с полом наследование окраски глаз у *Drosophila*

ри. Наследование, при котором сыновья наследуют признак матери, а дочери — признак отца, получило название крисс-кросс (или крест-накрест) наследование.

Наследование дальтонизма

Известны нарушения цветового зрения, так называемая цветовая слепота. Колбочки в сетчатке глаза человека содержат три типа фоторецепторов: синего с длиной



Рис. 89. X- и Y-хромосомы человека

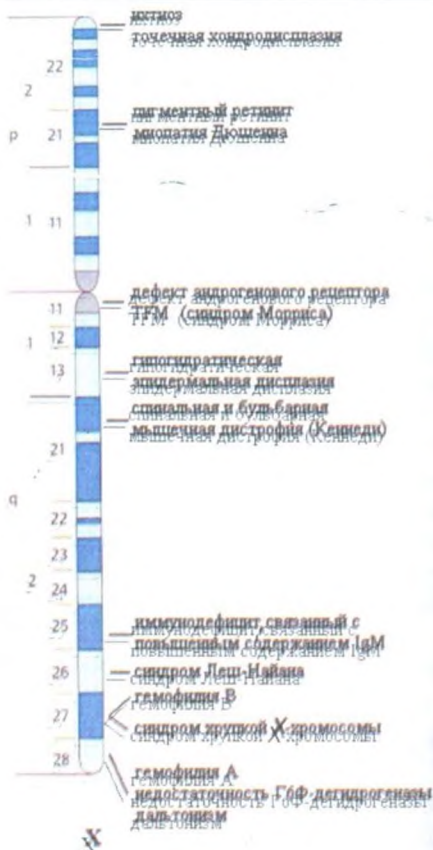
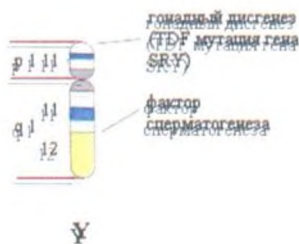
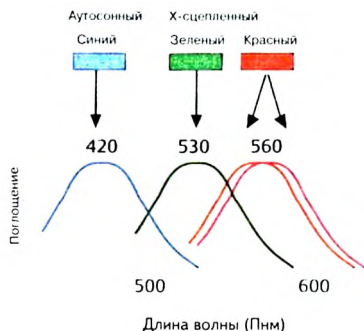


Рис. 90. Лocusы, в которых расположены гены болезней человека (X- и Y-хромосомы)

волны 420 нм, зеленого с длиной волны 530 нм и красного с длиной волны 560 нм. Наибольшие изменения в цветовом восприятии существуют в области красного цвета. Гены фоторецепторов синего цвета расположены в седьмой аутосоме (рис. 91), гены для красных и зеленых фоторецепторов расположены в X-хромосоме. В основе появления этих дефектов зрения лежит мутация соответствующих генов. Красно-зеленая слепота обычно называется дальтонизмом. Еще задолго до появления генетики в конце XVIII—XIX в. было установлено, что цветовая слепота наследуется согласно вполне закономерным правилам. Так, если женщина, страдающая цветовой

Рис. 91. Белки фоторецепторов в клетках-колбочках сетчатки



слепотой, выходит замуж за мужчину с нормальным зрением, то у их детей наблюдается своеобразная картина перекрестного наследования. Все дочери от такого брака получают признак отца, т.е. они имеют нормальное зрение, а все сыновья, получая признак матери, страдают цветовой слепотой (дальтонизм, сцепленный с X-хромосомой).

Когда отец — дальтоник, а мать имеет нормальное зрение, все дети оказываются нормальными. В отдельных браках, где мать и отец обладают нормальным зрением, но если мать является носителем X-сцепленного рецессивного гена, 50% сыновей может оказаться пораженными, а у дочерей процент поражения — 0%. В то же время риск быть гетерозиготными носительницами у женщин равен 50%. Цветовая слепота чаще встречается у мужчин, 8% мужчин на нашей планете — дальтоники, женщины-дальтоники — менее 1%. Наследование этого признака Э. Вильсон объяснил, предположив, что он локализован в X-хромосоме и что у человека гетерогаметным (XY) является мужской пол. Становится вполне понятным, что в браке гомозиготной женщины с нормальным цветовым зрением ($X^A X^A$) с мужчиной-дальтоником ($X^a Y$) все дети рождаются с нормальным цветовым зрением. Однако при этом все дочери становятся скрытыми носителями гена дальтонизма, что может проявиться в последующих поколениях.

Наследуемые дефекты цветного зрения у человека наблюдались более 2000 лет и упоминаются в Талмуде. Высокая частота поражения мужчин может объясняться tandemным строением генов пигментов красного и зеленого цветов.

Благодаря сходству последовательности неравный кроссинговер часто происходит в межгенной области (около 15 тысяч пар нуклеотидов), который приводит к делеции — дупликации и различной степени дефектам красно-зеленого зрения (рис. 92).

Другие дефекты зрения включают синий пигмент (тританопия) или вызывают полную потерю цветного зрения (ахроматопсия).

Наследование гемофилии

Другим примером наследования сцепленного с полом может послужить рецессивный полужелетальный ген, вызывающий не-свертываемость крови на воздухе — гемофилию. Это заболевание проявляется почти исключительно только у мальчиков. При гемофилии нарушается образование фактора VIII, ускоряющего свертывание крови (рис. 93). Ген, детерминирующий синтез фактора VIII, находится в участке X-хромосомы и наследуется

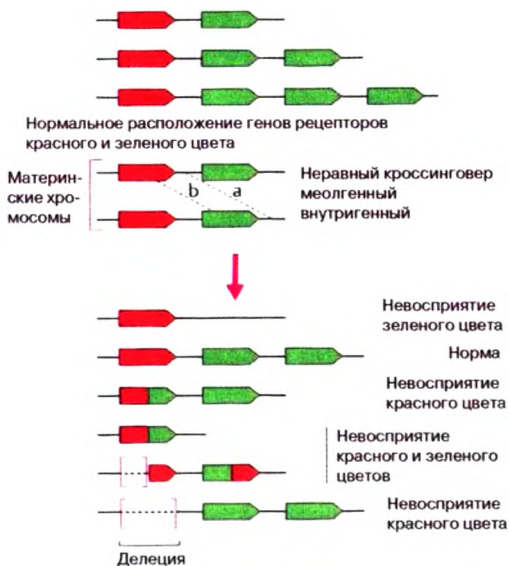


Рис. 92. Дефекты цветного зрения, возникающие в результате неравного кроссинговера между X-хромосомами

по рецессивному типу. Возможны следующие генотипы и фенотипы (табл. 6):

Таблица 6

Генотипы	Фенотипы
$X^H X^H$	Нормальная женщина
$X^H X^h$	Нормальная женщина (носитель)
$X^H Y$	Нормальный мужчина
$X^h Y$	Мужчина-гемофилик

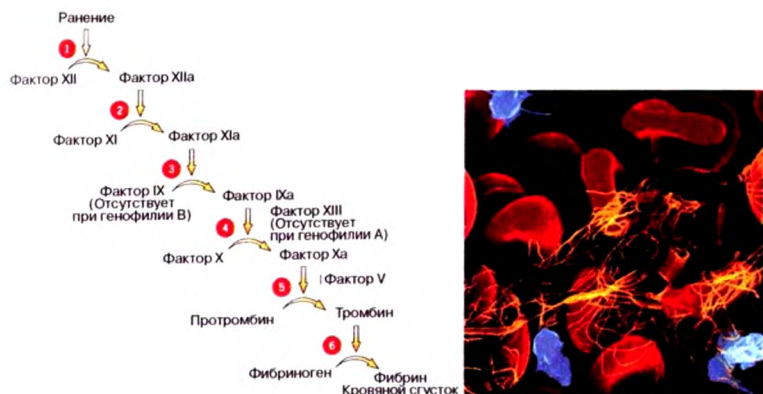


Рис. 93. Упрощенная схема свертывания крови у человека, каскад реакций активируется при разрушении клетки в месте ранения. Каждый фактор является продуктом специфического гена. На каждом шагу этого пути каждый фактор превращается в свою активную форму (отмеченную буквой «а»), которая затем активирует следующий фактор в данном пути. Некоторые факторы, такие как фактор VIII, принимают участие в активации других факторов без предшествующей собственной активации. На последних двух этапах данного пути факторы протромбин и фибриноген превращаются в их активные формы — тромбин и фибрин соответственно. Длинные нити фибрина стабилизируют кровяной сгусток, улавливая клетки, называемые кровяными пластинками (тромбоциты). Отсутствие факторов VIII и IX у индивидуумов с гемофилией А и В, соответственно, блокирует процесс свертывания до этапа образования фибрина, который приводит к кровотечению или геморрагии при порезе или ранении

В гомозиготном состоянии у женщин ген гемофилии приводит к летальному эффекту.

Особей женского пола, гетерозиготных по любому из сцепленных с полом признаков, называют носителями соответствующего рецессивного гена. Они фенотипически нормальны, но половина их гамет несет рецессивный ген. Несмотря на наличие у отца нормального гена, сыновья матерей-носителей с вероятностью 50% будут страдать гемофилией.

Один из наиболее хорошо документированных примеров наследования гемофилии мы находим в родословной потомков английской королевы Виктории (рис. 94). Предполагают, что ген гемофилии возник в результате мутации у самой королевы Виктории или у

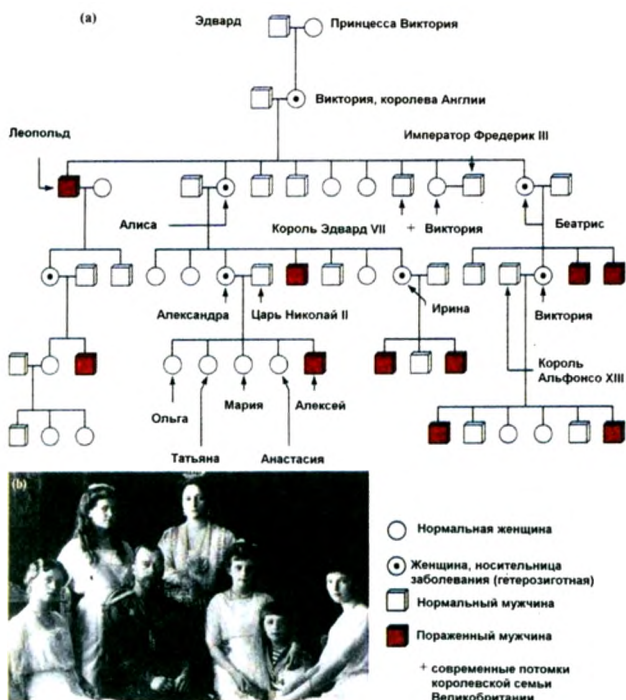


Рис. 94. Родословная потомков английской королевы Виктории. Наследование гемофилии

одного из ее родителей. Среди унаследовавших это врожденное заболевание — цесаревич Алексей, сын последнего русского царя Николая II. Мать цесаревича, царица Александра Федоровна (Алиса), получила от своей бабушки, королевы Виктории, ген гемофилии и передала его в четвертом поколении бывшему наследнику царского престола. На рисунке 94 показано, как этот ген передавался ее потомкам.

Один из сцепленных с полом рецессивных генов вызывает особый тип мышечной дистрофии (тип Дюшена). Эта дистрофия проявляется в раннем детстве и постепенно ведет к инвалидности и смерти ранее 20-летнего возраста. Поэтому мужчины с дистрофией Дюшена не имеют потомства, а женщины, гетерозиготные по гену этого заболевания, вполне нормальны.

Среди доминантных признаков, связанных с X-хромосомой, можно указать на ген, который вызывает недостаточность органического фосфора в крови. В результате при наличии этого гена часто развивается рахит, устойчивый к лечению обычными дозами витамина D. В этом случае картина сцепленного с полом наследования заметно отличается от того хода передачи гена поколениям, который был описан для рецессивных болезней. В браках девяти больных женщин со здоровыми мужчинами среди детей была половина больных девочек и половина — мальчиков. Здесь, в соответствии с характером наследования доминантного гена, в X-хромосомах произошло расщепление в отношении 1:1:1:1.

Другим примером доминантного гена, локализованного в X-хромосоме человека, может послужить ген, вызывающий дефект зубов, приводящий к потемнению эмали.

Так как гетерогаметный пол гемизиготен по сцепленным с полом генам, то эти гены всегда проявляются в их фенотипе, даже если они рецессивны. Большинство генов, имеющих в X-хромосоме, в Y-хромосоме отсутствует, однако определенную генетическую информацию последняя все-таки несет. Различают два типа такой информации: во-первых, содержащуюся в генах, присутствующих только в Y-хромосоме, и, во-вторых, в генах, присутствующих как в Y-, так и в X-хромосоме (геморрагический диатез).

Y-хромосома передается от отца всем его сыновьям. Следовательно, для генов, содержащихся только в Y-хромосоме, характер-

но голандрическое наследование, т.е. они передаются от отца к сыну и проявляются у мужского пола.

У человека в Y-хромосоме содержатся более 100 генов, несколько десятков из них идентифицированы, один из них необходим для дифференциации семенников, второй требуется для проявления антигена гистосовместимости, а третий оказывает влияние на размер зубов. В Y-хромосоме выявлены гены, которые отвечают за патологические признаки.

К ним относят гипертрихоз (оволосение ушной раковины в зрелом возрасте); наличие перепонки на нижних конечностях; один из видов ихтиоза (чешуйчатость и пятнистое утолщение кожи).

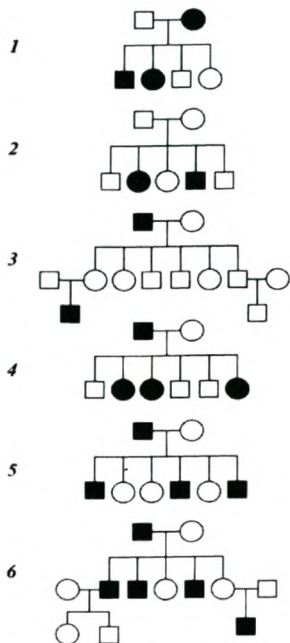
Типы наследования признаков

Типы наследования признаков в поколениях определяются тем, какой признак наследуется, доминантный или рецессивный, и в какой хромосоме локализован ген, контролирующий этот признак, в аутосомах или половых хромосомах. Информация о механизмах наследования имеет важное значение в медико-генетическом консультировании при определении риска рождения ребенка с наследственной болезнью. Для анализа типа наследования используется генеалогический метод (см. с. 293). Он заключается в анализе родословных и позволяет определить тип наследования. Для этого применяют определенные методики и обозначения. Человек, с которого начинается исследование, называется *пробандом*, его братья и сестры — *субсами*. В настоящее время определяют 5 типов наследования признаков (рис. 95):

- 1) аутосомно-доминантный;
- 2) аутосомно-рецессивный;
- 3) сцепленный с полом доминантный;
- 4) сцепленный с полом рецессивный;
- 5) голандрический.

Для аутосомно-доминантного типа наследования характерно:

- 1) признак проявляется в каждом поколении;
- 2) редкий признак наследуется половиной детей — это наследование связано с неполной пенетрантностью и низкой экспрессивностью;
- 3) оба родителя в равной мере передают признак детям;
- 4) одинаковое соотношение фенотипов самок и самцов в F_1 и F_2 .



1 — аутомно-доминантный; 2 — аутомно-рецессивный; 3 — сцепленный с полом (рецессивный); 4 — сцепленный с полом (доминантный); 5 — голандрический; 6 — зависимый от пола (аутомно-доминантный)



Рис. 95. Родословные, демонстрирующие различные типы наследования признаков у человека

Примером является ахондроплазия (укороченные конечности, туловище нормальное) (рис. 96).

Для аутомно-рецессивного типа наследования характерно (рис. 97):

1. Рецессивный признак может отсутствовать в поколении детей и может проявиться в поколении внуков в 25% случаев.

2. Признак проявляется при анализирующем скрещивании $Aa \times aa$ с вероятностью 50%.



Рис. 96.
Ахондроплазия

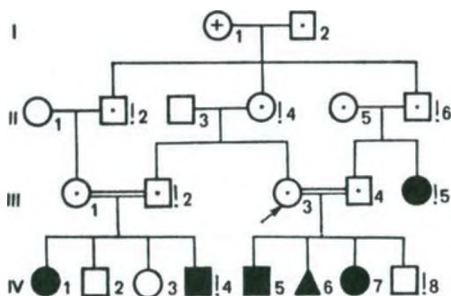


Рис. 97. Родословная семьи с альбинизмом

3. Признак наследуется потомками как мужского, так и женского пола.

Для сцепленного с полом (х) доминантного типа наследования признака характерно (рис. 98):

1. Женщины наследуют признак чаще, чем мужчины.
2. Если признак есть у матери, то наследуют либо все дети (мать гомозиготна), либо половина детей, безотносительно к их полу (мать гетерозиготна).
3. Если признак есть у отца, то он наследуется всеми детьми женского пола.

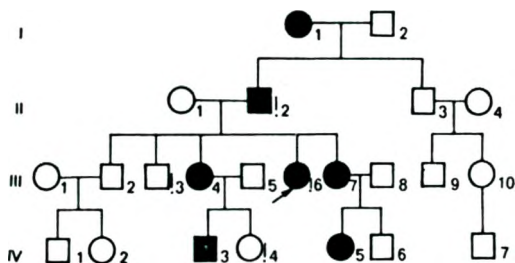


Рис. 98. Родословная семьи с доминантным сцепленным с X-хромосомой типом наследования (коричневой окраской зубной эмали)

Примером может служить наследование коричневой эмали зубов, рахита, не поддающегося лечению витамином D.

Для рецессивного, сцепленного с полом (x) признака характерно:

- 1) мужчины наследуют этот признак чаще, чем женщины;
- 2) девочки наследуют признак от отца;
- 3) если у родителей признак не выражен — мать является носителем, 50% сыновей будут его наследовать;
- 4) прослеживается тенденция к чередованию поколений с большим и меньшим числом мужчин, имеющих данный признак. Например, так наследуется гемофилия.

Для голландрического типа наследования признаков характерна передача признака от отца к сыну.

Не всегда наследование идет строго по одному какому-то типу. Например, более чем 100 генов вовлечены в наследственную глухоту, они локализованы почти на каждой хромосоме. Около 75—85% мутаций являются аутосомно-рецессивными, 15% — аутосомно-доминантными и 1—2% сцеплены с X-хромосомой. Индивидуумы, имеющие определенные мутации митохондриальной ДНК, являются высокочувствительными к антибиотикам, в частности к стрептомицину.

Пенетрантность и экспрессивность

Пенетрантность — это количественный показатель фенотипического проявления гена. Пенетрантность характеризует процент

особей, у которых он проявился. Если мутантный ген проявляется у всех особей — это 100%-ная пенетрантность. Если пенетрантность неполная, то указывается процент особей, у которых проявился ген. Например, пенетрантность некоторых форм шизофрении (доминантный признак) для гомозигот составляет 100%, а для гетерозигот — 20%.

Неполная пенетрантность — это взаимодействие генетических и средовых факторов (рис. 99).

Экспрессивность — степень выраженности признака при реализации генотипа в различных условиях среды. Примером экспрессивности доминантных генов у человека является степень выраженности развития дополнительных пальцев при полидактилии, различной степени расщепления губы и неба.



Рис. 99. Полидактилия

Глава VII

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА

Доказательства роли нуклеиновых кислот в хранении и передаче генетической информации

Опыты Гриффитса — явление трансформации

В наши дни общеизвестно, что дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) — носитель наследственной информации у всех эукариот и прокариот, а рибонуклеиновая кислота (РНК) — может быть у вирусов.

Прямые данные о способности ДНК передавать генетическую информацию впервые были получены в экспериментах с трансформирующим фактором, который был выделен из пневмококков и некоторых других бактерий. Эти эксперименты базировались на данных английского исследователя Фредерика Гриффитса, который еще в 1928 г. изучил два различных штамма пневмококков: вирулентный «гладкий» S-штамм с полисахаридной капсулой и авирулентный «шероховатый» R-штамм, клетки которого не имели капсулы. Когда он впрыскивал мышам неубитую культуру бактерий «шероховатого» типа, мыши оставались живыми. После впрыскивания живых бактерий «гладкого» S-штамма мыши погибали (рис. 100). В решающем эксперименте мышам вводили смесь живых «шероховатых» бактерий с убитыми «гладкими». Их смесь оказалась для мышей губительной. Из погибших мышей удалось выделить живые «гладкие» бактериальные клетки S-штамма. На основании этих и других экспериментов Ф. Гриффитс заключил, что живые бактерии «шероховатого» штамма трансформировались в «гладкую» форму под действием какого-то материала из убитых клеток «гладкого» S-штамма. При выращивании в культуре трансформированные бактерии давали потомство «гладкой» формы. Возникло предположение, что какой-то материал из

убитых клеток проникал в живые «шероховатые» бактерии и превращал их в «гладкие».

Опыты Эвери

После того как были разработаны методы, позволявшие осуществлять трансформацию бактерий не в организме мыши, а в культурах на питательных средах, начался активный поиск вещества, ответственного за трансформацию бактерий. В 1944 г. Освальд Эвери, Колин Мак-Левод и Маклин Мак-Карти показали, что этот фактор утрачивал активность после обработки культуры бактерий дезоксирибонуклеазой, но сохранял ее после воздействия такими (разрушающими все белки) протеолитическими ферментами, как трипсин или хемотрипсин. Затем трансформирующий фактор был выделен и очищен в достаточном количестве, и было показано, что он состоит из ДНК с высокой молекулярной массой. Тепловая инактивация оставляла ДНК бактериальной хромосомы неповрежденной. Следует подчеркнуть, что химический состав ДНК совершенно отличен от полисахарида, образующего оболочку S-штамма. Это

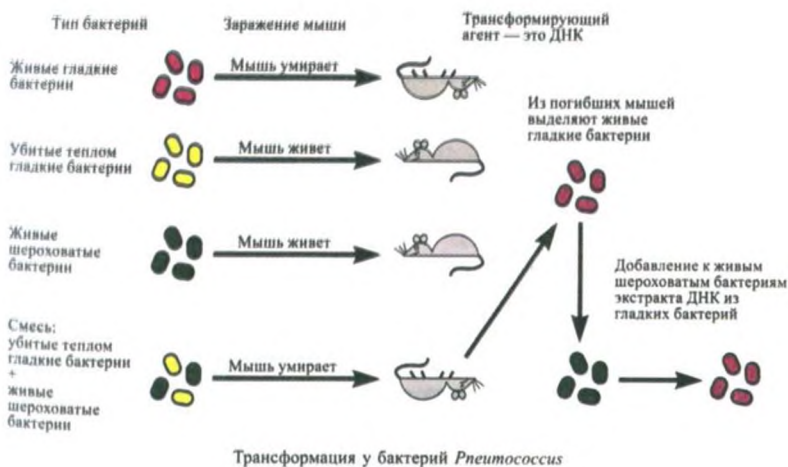


Рис. 100. Опыт, демонстрирующий трансформацию у бактерий *Рнеитососсис*



Рис. 101. Освальд Эвери (1877—1955)

означает, что трансформирующий фактор не является фенотипическим проявлением, а определяет биосинтетическую функцию и передается от одной клетки к другой с очищенной ДНК. Так, О. Эвери (рис. 101) и его сотрудники доказали, что трансформирующий фактор представляет собой ДНК.

Фундаментальное значение этого открытия, однако, не было вполне оценено сразу. Требовались новые доказательства, которые утвердили генетическую роль нуклеиновых кислот и в живых биологических системах.

В последующем в работе с фагами и вирусом мозаичной болезни табака (ВМ) было показано, что именно РНК является у них носителем генетической информации.

Стало ясно, что именно нуклеиновые кислоты являются носителями наследственной информации во всех организмах. При этом два типа нуклеиновых кислот — ДНК и РНК — выполняют генетические функции во всех прокариотических и эукариотических клетках. В качестве основного генетического материала клетки всегда используют ДНК; что касается вирусов, то одни из них используют ДНК, другие же — РНК, но во всех случаях генетическим материалом являются нуклеиновые кислоты.

Химический состав и строение нуклеиновых кислот

Нуклеиновые кислоты открыты Мишером в 1872 г. Они так же, как и белки, представляют собой высокополимерные макромолекулярные соединения. Но их цепи построены из звеньев совершенно иного типа. Основная структурная единица нуклеиновых кислот — нуклеотид (рис. 102—104). Каждый нуклеотид состоит из трех химически различных частей, соединенных ковалентными связями. Первая часть — пятиуглеродное

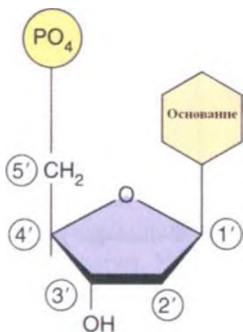


Рис. 102. Строение нуклеотида

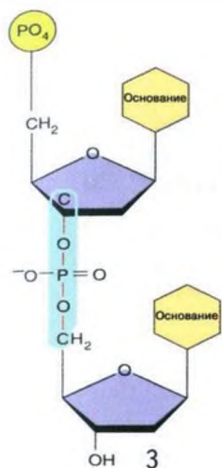


Рис. 103. Структура динуклеотида

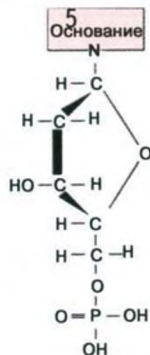
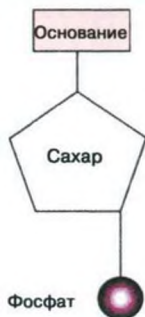
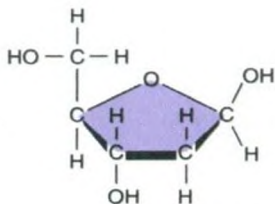


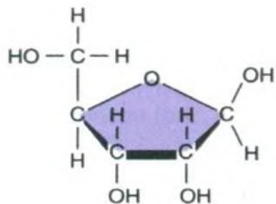
Рис. 104. Состав нуклеотида. Слева — упрощенный вид, справа — химическая формула

сахарное кольцо (пентоза): дезоксирибоза в ДНК и рибоза — в РНК (рис. 105). Различие этих двух типов пентоз заключается в отсутствии или наличии гидроксильной группы во втором положении атома углерода сахарного кольца. Вторая часть — пуриновое и пиримидиновое азотистое основание или ковалентно соединенное с первым атомом углерода пентозы. Оно формирует структуру, называемую нуклеозидом. Третью часть нуклеотида составляет фосфатная группа. Именно фосфатные группы соединяют соседние нуклеозиды в полимерную цепочку посредством фосфодизфирных связей (рис. 106, 107).

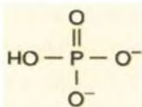
Пурины и пиримидины представляют собой плоские азотсодержащие гетероциклические молекулы, обладающие основными свойствами. Пиримидины состоят из шестичленного кольца, а у пуринов — по два конденсированных кольца: одно — пятичленное и второе — шестичленное. Азотистые основания соединены с пентозным кольцом ковалентной связью: между С-1 пентозного кольца и N-3 пиримидина или N-9 пурина. Чтобы избежать путаницы в нумерации атомов азотистых оснований и сахаров, положения атомов углерода пентозы пишут со штрихом (').



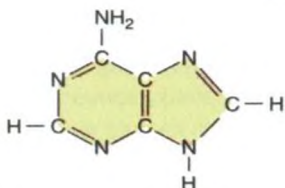
Дезоксирибоза
(только ДНК)



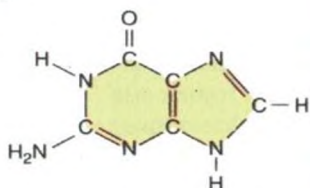
Рибоза
(только РНК)



Фосфат

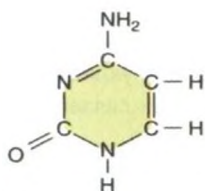


Аденин

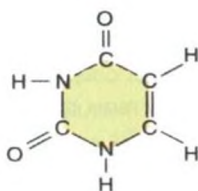


Гуанин

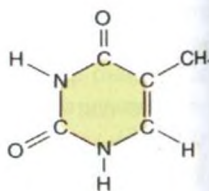
Пурины



Цитозин



Урацил
(только РНК)



Тимин
(только РНК)

Пиримидины

Рис. 105. Компоненты нуклеотидов
(пятиуглеродный сахар рибоза или дезоксирибоза, остаток фосфорной кислоты и одно из азотистых оснований)

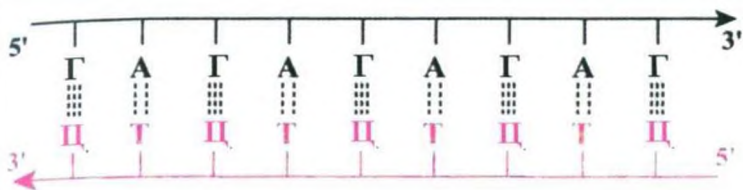


Рис. 106. Двухцепочечная ДНК антипараллельна

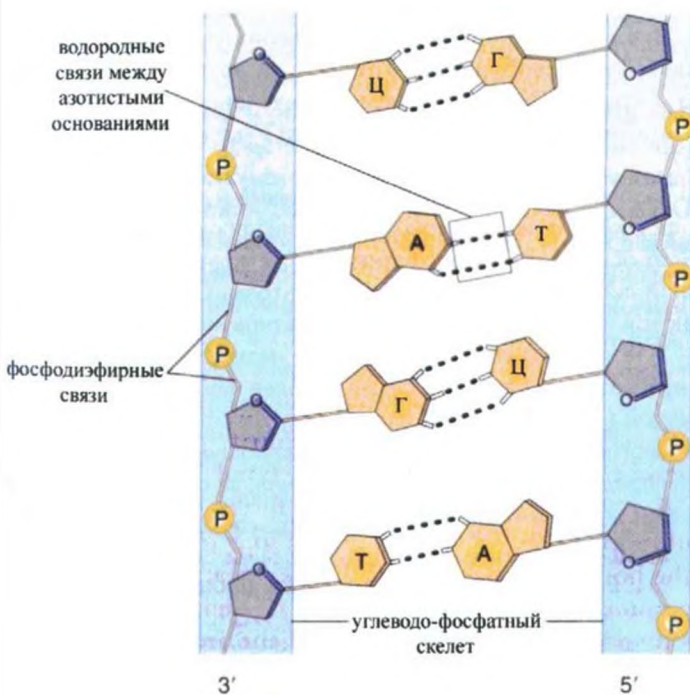


Рис. 107. Двухцепочечная ДНК строится по принципу комплементарности

ДНК содержит пуриновые основания — аденин (А) и гуанин (Г) — и пиримидиновые основания — цитозин (Ц) и тимин (Т); соответствующие нуклеозиды называются дезоксиаденозин, дезоксигуанозин, дезоксицитидин и дезокситимидин. РНК содержит те же пуриновые основания, что и ДНК, а также пиримидин, цитозин, но вместо тимина в ее состав входит урацил (У); соответствующие нуклеозиды называются аденозин, гуанозин, цитидин и уридин. Тимин отличается от урацила только наличием метильной группы в пятом положении пиримидинового кольца (рис. 105).

Нуклеотиды соединены в полинуклеотидную цепь, остов которой состоит из перемежающихся остатков сахара и фосфата. Через фосфатную группу атом в 5'-положении одного пентозного кольца соединен с атомом в 3'-положении следующего пентозного кольца. В полинуклеотидной цепи концевой нуклеотид на одном конце цепи имеет свободную 5'-группу, а на другом конце — свободную 3'-группу. Последовательности нуклеиновых кислот принято писать именно в таком направлении: от 5'-конца к 3'-концу (рис. 106, 107).

Если разорвать ДНК или РНК на отдельные нуклеотиды, разрыв может произойти с любого конца фосфодиэфирной связи. В зависимости от обстоятельств фосфатная группа может остаться присоединенной либо с 5'-, либо с 3'-конца пентозы. Следовательно, от нуклеиновой кислоты можно отделить два типа нуклеотидов: нуклеозид — 3'-монофосфат и нуклеозид — 5'-монофосфат. В 5'-положении нуклеозиды могут быть связаны более чем с одной фосфатной группой (двумя, тремя). Связи между фосфатными группами богаты энергией, поэтому, например, образующиеся нуклеозидтрифосфаты представляют собой те соединения, за счет которых и наращивается цепочка нуклеиновой кислоты.

Модель ДНК. Предпосылки издания

В основу модели ДНК, построенной Джеймсом Уотсоном и Френсисом Криком в 1953 г., легли следующие важные факты.

1. Исследования химической структуры показали, что ДНК представляет собой полимер, состоящий из нуклеотидов, соединенных 3'-, 5'-фосфодиэфирными связями. Таким образом, полинуклеотид обладает полярностью. Это означает, например, что тетра nuk-

леотиды ТЦГА и АГЦТ являются разными химическими соединениями с определенными свойствами. Поэтому говорят, что одни полинуклеотидные последовательности формируются на 5'-конце, а другие — на 3'-конце.

2. В 1940-х гг. Эрвин Чаргафф (рис. 108) и его сотрудники выяснили, что состав оснований в ДНК у различных видов организмов различен. Они предположили, что различия в соотношении азотистых оснований, возможно, связаны с каким-то биологическим кодом. Это наблюдение исключило возможность того, что все молекулы ДНК состоят из одинаковых тетра-нуклеотидов. Э. Чаргафф выявил также одну замечательную особенность, присущую всем молекулам ДНК: молярное содержание аденина равно содержанию тимина, а молярное содержание гуанина — содержанию цитозина. Эти равенства называются правилами Чаргаффа: $C \equiv G (A = T)$, $(C \equiv G)$; количество пуринов равно количеству пиримидинов. В зависимости от видовой принадлежности меняется лишь отношение $(A + T)/(C + G)$. На основании этих наблюдений была выдвинута концепция, согласно которой генетическая информация заложена в последовательности оснований ДНК, и эта последовательность каким-то образом определяет, или кодирует, последовательность аминокислот в полипептиде. К 1950-м гг. эта концепция генетической информации получила всеобщее признание. Основная задача теперь заключалась в том, чтобы построить модель ДНК, объяснить, каким образом в последовательности ДНК может быть записана последовательность полипептида.

3. Наиболее ценные сведения о строении молекулы ДНК дали результаты рентгеноструктурного анализа, полученные Морисом Уилкинсом и Розалиндой Франклин (рис. 109). Анализ рентгенограмм (рис. 110) нитей ДНК указывал на то, что молекулы обладают спиральной структурой и содержат более одной полинуклеотидной цепи. Однако требовались объяснения выявленных в структуре кристаллической ДНК трех главных периодов: 0,34; 2 и 3,4 нм.

4. Кислотно-щелочное титрование нативной ДНК показывает, что ее структура

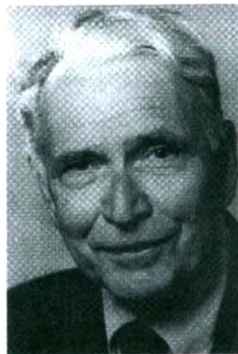


Рис. 108. Эрвин Чаргафф (1905—2002)



Рис. 109. Розалинда Франклин (1920—1958)

стабилизируется водородными связями. Титрование и нагревание нативной ДНК вызывают заметные изменения ее физических свойств, в частности вязкости, переводя ДНК в «денатурированную» форму, причем ковалентные связи в молекуле ДНК не разрушаются.

Модель ДНК по Уотсону и Крику

Чтобы объяснить вышеперечисленные факты, Уотсон и Крик предложили модель ДНК в виде двойной спирали, позволявшей дать химическое объяснение многим биологическим свойствам этого вещества.

Используя многочисленные сведения о точных расстояниях между атомами в молекуле, об углах между связями данного атома и о величине атома, Уотсон и Крик установили, что период 0,34 нм соответствует расстоянию между последовательными нуклеотидами в цепи ДНК (рис. 111).

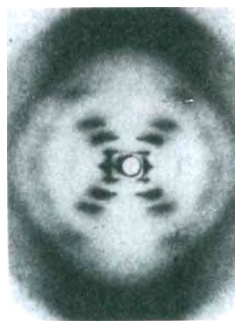


Рис. 110. Рентгенограмма, полученная при прохождении рентгеновских лучей через кристаллическую ДНК

Далее, они предположили, что период 2 нм соответствует толщине цепи. А для того чтобы объяснить, какой реальной структуре соответствует период 3,4 нм, Уотсон и Крик предположили, что цепь закручена в виде спирали (или, точнее, образует структуру, похожую на винтовую лестницу, так как спираль в строгом смысле этого слова получается тогда, когда витки образуют в пространстве коническую, а не цилиндрическую поверхность). Тогда период 3,4 нм будет соответствовать расстоянию между последовательными витками этой спирали. Поскольку период 3,4 нм в 10 раз больше расстояния между последовательными нуклеотидами (0,34 нм), ясно, что каждый полный виток спирали содержит 10 нуклеотидов. По этим данным Уотсон и Крик смогли вычислить плотность полинуклеотидной цепи, закру-

ченной в спираль диаметром 2 нм, с расстоянием между витками, равным 3,4 нм. Оказалось, что у такой цепи плотность вдвое меньше фактической плотности ДНК. Следовательно, молекула ДНК должна состоять из двух цепей, т.е. это двойная спираль из нуклеотидов.

Далее Уотсон и Крик пришли к выводу, что по всем имеющимся данным лучше всего соответствует такой вариант, при котором две полинуклеотидные спирали идут в противоположных направлениях; при этом цепи, состоящие из остатков сахара и фосфата, образуют поверхность двойной спирали, а пурины и пиримидины располагаются внутри. Азотистые основания, расположенные друг против друга, принадлежащие двум цепям, попарно соединены водородными связями. Именно эти водородные связи и удерживают цепи вместе, фиксируя таким образом общую конфигурацию молекулы. Сцепление между полинуклеотидными цепями обеспечивается за счет «перекладины», состоящей из одного пиримидина. При периоде 2 нм (что соответствует диаметру двойной спирали) для двух пуринов не хватало бы места, а два пиримидина не могли бы при этом располагаться достаточно близко друг к другу, чтобы образовать надлежащие водородные связи. Причем природа водородных связей такова, что аденин образует пару с тимином, а гуанин — с цитозином. Это представление о специфическом соединении азотистых оснований позволяло объяснить правило Чаргаффа. Между аденином и тимином образуются две водородные связи, а между гуанином и цитозином — три. Благодаря этой специфичности в образовании водородных связей против каждого аденина в одной цепи оказывается тимин в другой цепи; точно так же против каждого гуанина может находиться только цитозин. Таким образом, цепи комплементарны друг другу, т.е. последовательность

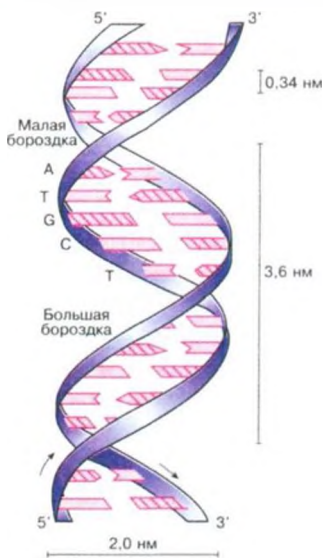


Рис. 111. Модель ДНК по Уотсону и Крику

нуклеотидов в одной цепи однозначно определяет их последовательность в другой. Согласно модели двойной спирали, две полинуклеотидные цепи антипараллельны (т.е. идут в противоположных направлениях). Поэтому, рассматривая спираль вдоль оси, можно увидеть, что одна цепь идет в направлении $5' \rightarrow 3'$, а другая — в направлении $3' \rightarrow 5'$.

Основания имеют плоскую форму и располагаются парами перпендикулярно оси спирали. Свободная энергия водородных связей между спаренными основаниями вносит свой вклад в термодинамическую стабильность двойной спирали. Вдоль спирали азотистые основания уложены стопкой друг на друга. Энергия, которая необходима для поддержания спиральной структуры, частично обеспечивается гидрофобными межплоскостными взаимодействиями оснований, называемыми также «стэкинг»-взаимодействиями.

Каждая пара азотистых оснований повернута на 36° вокруг оси спирали относительно следующей пары оснований. Таким образом, 10 пар азотистых оснований составляют полный оборот в 360° . Две цепи, закручиваясь друг относительно друга, образуют двойную спираль, в которой имеются две бороздки — малая бороздка (около 1,62 нм шириной) и большая бороздка (около 2,2 нм шириной) (рис. 112). Двойная спираль — правосторонняя: если смотреть вдоль оси спирали, повороты следуют по часовой стрелке. Такая модель ДНК известна как В-форма.

Модель Уотсона — Крика позволяет представить себе, как может удваиваться нативная молекула ДНК, образуя две одинаковые дочерние молекулы. Поскольку две цепи ДНК комплементарны, каждая из них при раскручивании двойной спирали может служить матрицей для синтеза новой комплементарной цепи. Последовательность оснований во вновь синтезируемой цепи будет определяться спецификой водородных связей между основаниями цепи-шаблона и вновь образуемой цепи. Таким образом, генетическая информация, содержащаяся в последовательности пар азотистых оснований родительской молекулы, будет полностью воспроизведена в двух дочерних молекулах. Более того, если в процессе удвоения ДНК произошла ошибка и какой-то нуклеотид во вновь образуемой цепи выпал или оказался некомплементарным исходному, то это может изменить информационное со-

держание молекулы, причем можно ожидать, что эта ошибка будет передана дочерним молекулам ДНК в следующих поколениях (конвариантная редупликация). Итак, модель структуры ДНК Уотсона и Крика объясняет как способность генов к самоудвоению (репликации), так и их информационные свойства.

Кратко модель ДНК Уотсона и Крика можно свести к следующим основным положениям:

1) каждая молекула ДНК состоит из двух длинных антипараллельных полинуклеотидных цепей, образующих двойную спираль, закрученную вокруг центральной оси;

2) каждый нуклеотид расположен в плоскости, перпендикулярной оси спирали;

3) две полинуклеотидные цепи скреплены водородными связями, образующимися между основаниями, принадлежащими разным цепям;

4) комплементарное взаимодействие азотистых оснований высокоспецифично. Так как расстояние между углеводными компонентами двух комплементарных нуклеидов строго фиксировано (1,1 нм), пуриновое основание может соединяться лишь с пиримидиновым. Причем единственно возможными парами являются пара АТ и ГЦ. Между А и Т образуются две водородные связи, а между Г

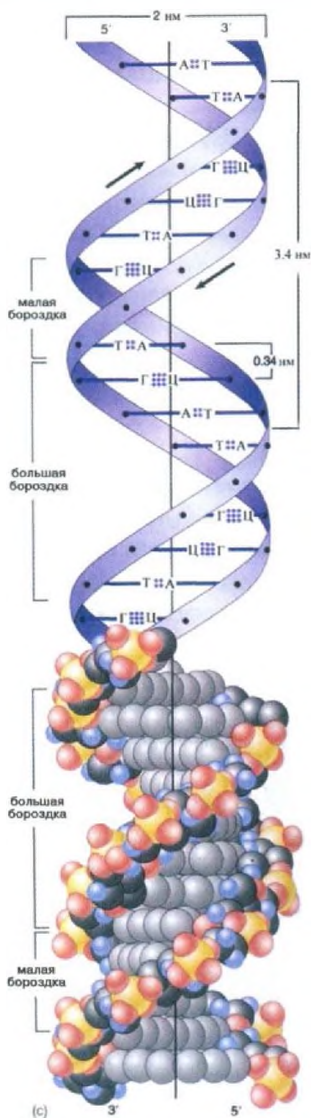


Рис. 112. Пространственная модель ДНК

и Ц — три. Образование этих водородных связей препятствует образованию пар АЦ и ГТ.

5. Последовательность оснований в одной цепи определяет строго комплементарную ей последовательность в другой полинуклеотидной цепи.

Форма организации двухцепочечной ДНК

Работа Уилкинса и Франклин показала, что молекулы ДНК могут давать различную дифракционную картину в рентгеновских лучах, в зависимости от содержания воды и солей. Модель, предложенная Уотсоном и Криком, соответствовала значениям параметров структуры, полученным на основе рентгенограммы одной из форм ДНК, а именно В-формы (рис. 113).

В последнее время было предложено еще несколько моделей ДНК, хорошо согласующиеся с данными дифракции рентгеновских лучей и данными экспериментов. Таким образом, идея существования структуры двуспиральной ДНК сменилась представлением, допускающим наличие семейства структур, каждая из которых имеет характерный тип, но проявляет различия по числу нуклеоти-

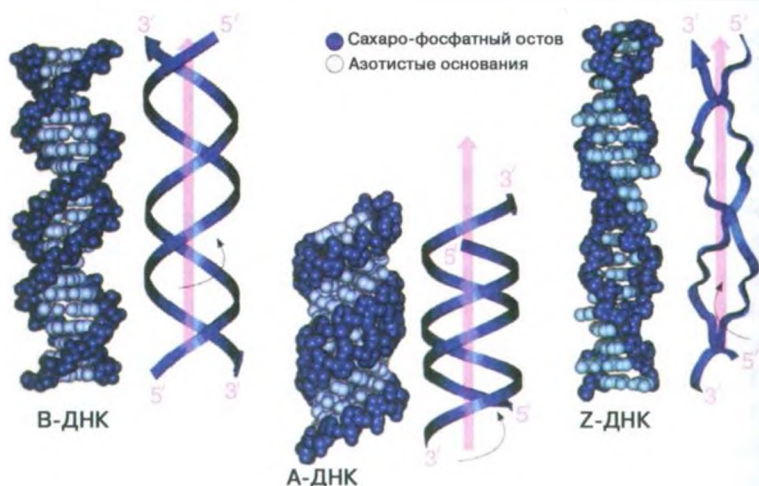


Рис. 113. Три формы ДНК

дов на виток и расстоянию между соседними повторяющимися элементами. В пределах каждого семейства структур параметры могут слабо варьироваться.

Различают три основные формы ДНК (рис. 113).

1. В-форма. Основной структурной характеристикой В-ДНК является образование двух бороздок: одной большой (основная бороздка) и одной малой. В-ДНК образует правозакрученную спираль. Диаметр спирали почти в точности равен 2 нм, а соседние пары нуклеотидных оснований повернуты друг относительно друга на 36° . В результате на один виток спирали приходится 10 пар азотистых оснований. В-форма спирали характерна для нитей ДНК, находящихся при очень высокой относительной влажности (92%) и в растворах низкой силы. Считают, что именно в такой форме ДНК обычно находится в живой клетке.

2. А-форма обнаружена в более обезвоженных средах, находящихся при 75% влажности и в большем присутствии ионов натрия, калия или цезия. Основания в А-форме наклонены по отношению к оси спирали, и их число — на виток больше. А-форма интересна с биологической точки зрения, так как ее конформация близка к структуре гибридов ДНК — РНК и двуспиральных участков РНК (в вирусах).

3. Z-форма отлична по структуре от других форм ДНК. Эта форма левосторонняя т.е. закручена в левую сторону. Она имеет наибольшее число пар азотистых оснований на виток, т.е. менее скрученная и более тонкая. Свое название форма получила из-за зигзагообразной (Zig Zag) линии, которую образует сахарофосфатный остов вдоль спирали. Z-форма существует только при очень высоких концентрациях соли и при наличии определенных последовательностей нуклеотидов. Одним из условий, необходимых для образования Z-ДНК в клетке, является присутствие особых белков, стабилизирующих ее структуру.

При построении моделей каждую форму ДНК рассматривают независимо как конструкцию, в которой находится вся молекула в определенных условиях. Но вряд ли это действительно имеет место в живой клетке. Большинство клеточной ДНК находится, по-видимому, в В-форме, и только при определенных условиях отдельные короткие участки спирали переходят в другие формы.

Рибонуклеиновые кислоты

Общая характеристика РНК

У прокариотических и эукариотических организмов генетическая информация закодирована в молекуле ДНК. Однако ДНК не принимает непосредственного участия в синтезе белка. Роль посредников в передаче информации от ДНК в цитоплазму выполняют рибонуклеиновые кислоты. Передачу генетической информации, хранящейся в ДНК, через синтез РНК в полипептидные цепи белков можно представить в виде схемы: ДНК → РНК → белок. Одна из цепей ДНК служит матрицей для синтеза молекул РНК, которые в свою очередь, являются матрицами синтеза белков, либо входят в состав рибосом, состав сплайсосом, либо переносят аминокислоты.

РНК синтезируется в виде длинных неразветвленных полимерных молекул, состоящих из одной цепи. Молекулы РНК способны образовывать двойные спирали, если различные части цепи имеют антипараллельные комплементарные сегменты, которые связываются друг с другом. РНК некоторых вирусов является носителем наследственной информации вместо ДНК.

Структура и функции РНК

Содержание РНК в любых клетках в 5—10 раз превышает содержание ДНК. Основная роль РНК состоит в трансляции генетической информации с образованием белков, а также в осуществлении некоторых специализированных эндонуклеазных функций, возможно, регулирующих различные этапы экспрессии генов. Геномы некоторых вирусов (ретровирусов и множества вирусов животных, растений и насекомых) представлены одно- и двуцепочечной молекулой РНК.

Виды РНК. В клетках прокариот и эукариот присутствуют следующие виды РНК: рибосомная (рРНК), транспортная (тРНК) и информационная (иРНК), которая при созревании превращается в матричную (мРНК). В клетках содержится много малых цитоплазматических РНК (мцРНК). В эукариотических клетках присутствуют малые ядерные РНК (мяРНК) (табл. 7).

Основную массу клеточных РНК составляют три (прокариоты) или четыре (эукариоты) вида РНК, около 80—90% — почти 100 видов

tРНК. На долю матричных РНК приходится менее 5% клеточной РНК, а на долю малой ядерной и цитоплазматической РНК, число видов которых пока неизвестно, — менее 2% от общего количества РНК.

Таблица 7

Основные виды РНК

Вид РНК	Приближенное число разных видов в клетках	Приближительная длина (число нуклеотидов)	Распространенность*
Транспортная РНК (тРНК)	80—100	75—90	П, Э
Рибосомная 5S РНК (рРНК)	1—2	120	П, Э
Рибосомная 5,8S РНК (рРНК)	1	158	Э
Рибосомная 16S РНК (рРНК)	1	1600	П
Рибосомная 18S РНК (рРНК)	1	1900	Э
Рибосомная 23S РНК (рРНК)	1	3200	П
Рибосомная 28S РНК (рРНК)	1	5000	Э
Матричная РНК (мРНК)	Тысячи	Варьируется	П, Э
Гетерогенная ядерная РНК (гяРНК)	Тысячи	Варьируется	Э
Малая цитоплазматическая РНК (мцРНК)	Десятки	90—330	П, Э
Малая ядерная РНК (мяРНК)	Десятки	58—220	Э

* П — прокариоты, Э — эукариоты.

Строение транспортной РНК (тРНК)

Транспортные РНК — короткие, состоящие из 70—90 нуклеотидов, однонитевые формы, находятся во всех клетках (рис. 114—116). Образуются на особых генах ДНК, составляют 10% от общей

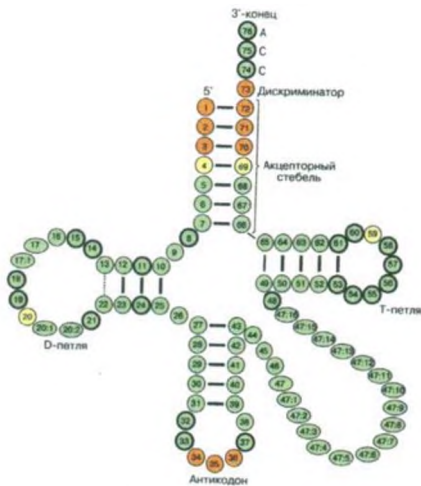


Рис. 114. Строение молекулы тРНК

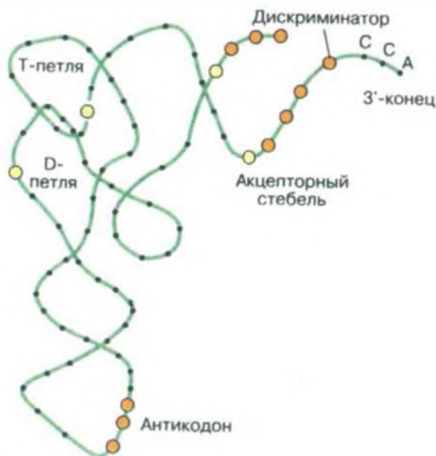
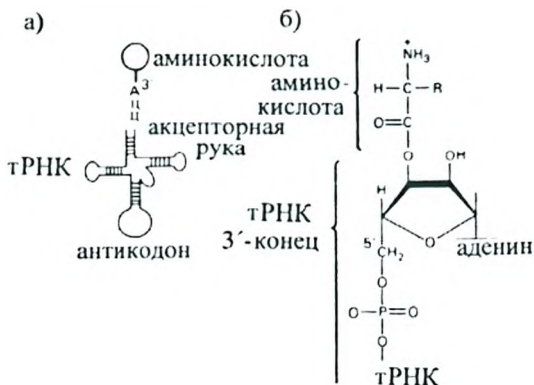


Рис. 115. Пространственная модель молекулы тРНК



- а) Аминокислота присоединяется к 3'-концу акцепторной руки тРНК.
 б) Образование связей между аминокислотой и 3'-терминальным нуклеотидом тРНК

Рис. 116. Присоединение аминокислоты к 3'-концу молекулы тРНК

массы РНК клетки. Главной функцией транспортных РНК (тРНК) является акцептирование, или «присоединение», аминокислот и перенос их к рибосомам для участия в синтезе белка. тРНК образует вторичную структуру, известную под названием «клеверный лист». В структуре тРНК содержатся несколько функционально важных участков, 4 или 5 двуцепочечных спиральных стеблей и трех петель, главными из которых являются антикодон и акцептирующий конец. Антикодон служит для взаимодействия с соответствующим комплементарным кодоном мРНК, а акцептирующий конец — для присоединения аминокислоты. Наличие антикодона и акцептирующие свойства тРНК позволяют им выполнять адаптерную функцию, связывая и перенося аминокислотный остаток и присоединяясь за счет антикодона к соответствующему кодону мРНК. Они позволяют аминокислотным остаткам выстраиваться в соответствующий полипептид-белок. 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 син-

тетаз. После образования аминоацил-тРНК эти молекулы направляются к рибосомам, где и происходит биосинтез белка.

Реакция аминоацилирования тРНК осуществляется в два этапа. Первый этап — активация аминокислоты и образование аминоацил-тРНК. Во всех случаях первой аминокислотой, входящей в синтезируемый белок, является метионин — стартовая аминокислота, а первой тРНК, попадающей в рибосому, — инициаторная метионин-тРНК.

Рибосомные РНК (рРНК)

Высокомолекулярные рибосомные РНК (рРНК) состоят из 3—5 тыс. нуклеотидов. Синтезируются на специальных генах в ядрышке (ядрышковый организатор). На долю рРНК приходится более 80% матричной РНК клетки. Являются структурной основой для формирования рибонуклеопротеинового тяжа, который, складываясь в пространстве, дает начало 30—40S у прокариот и 50—60S у эукариот малым и большим субчастицам рибосомы (рис. 117—119). Рибосомальная РНК, входящий в состав рибосом, взаимодействует с мРНК и аминоацил-тРНК в процессе трансляции с помощью определенной последовательности нуклеотидов. Рибосомальная РНК, входящая в состав рибосом, играет важную роль в процессе синтеза белка — обеспечивает инициацию, элонгацию и терминацию.

Матричные РНК (мРНК)

Матричная РНК синтезируется на специфических нуклеотидных участках ДНК, называемых структурными генами, и содержит информацию о первичной структуре белка. Молекулы мРНК состоят из 300—3000 нуклеотидов. От общей массы РНК клетки она составляет от 0,5 до 5%. Образуется в ядре в виде информационной или про-мРНК. В результате процессинга она созревает и превращается в мРНК. Матричная РНК через ядерные поры поступает в цитоплазму. В цитоплазме она соединяется вначале с малой субъединицей рибосомы, а затем и большой субъединицей и становится матрицей, на которой синтезируется полипептидная цепочка белка.

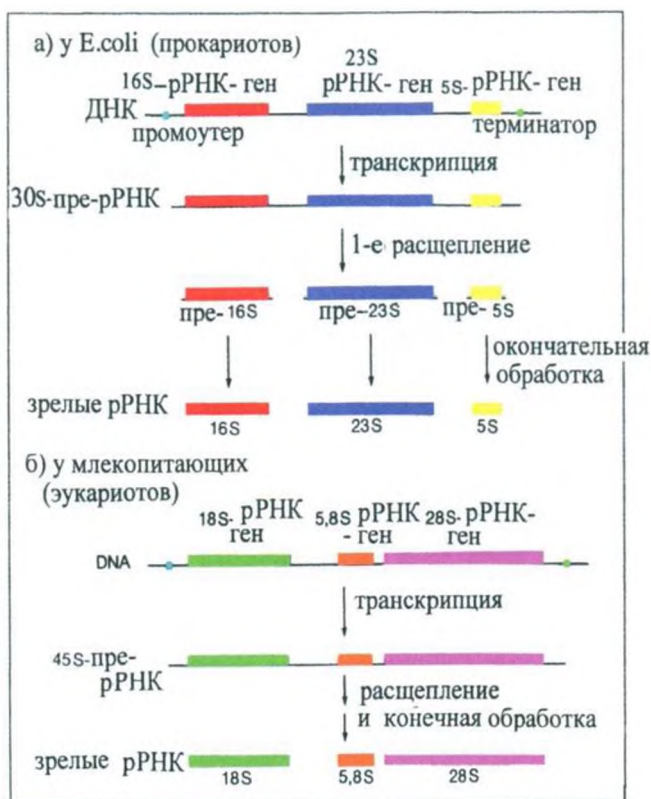
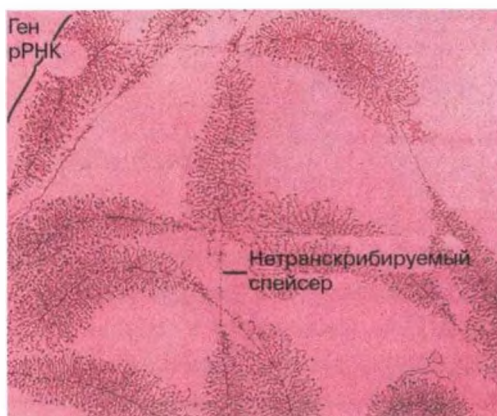
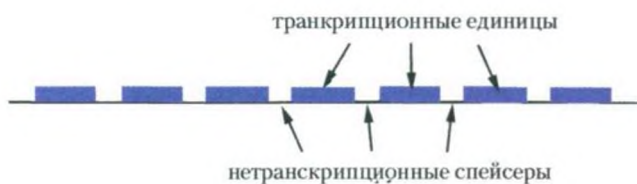


Рис. 117. Транскрипция и процессинг рРНК у прокариотов (а) и эукариотов (б)

Рис. 118. Электронная микрофотография, показывающая транскрипцию тандемно повторяющихся генов рРНК в ядрышке тритона *Triturus viridescens*. Степень увеличения длины наблюдается для каждого гена рРНК. И нетранскрибируемые спейсерные участки разделяют эти гены



а) многочисленные копии р-РНК генов



б) Амплификация генов рРНК в ооцитах амфибий

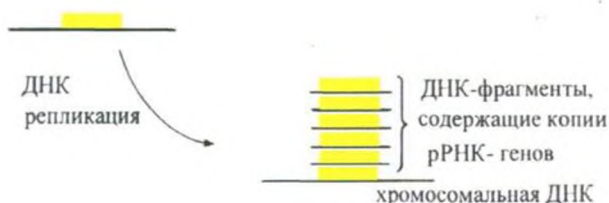


Рис. 119. Стратегии, с помощью которых клетки повышают свою способность к синтезу рРНК

Гетерогенная ядерная РНК

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 сплайсингу и утратили ряд интронов, превратившись в зрелые мРНК.

Малые ядерные РНК

Все эукариотические клетки содержат множество малых ядерных РНК (мяРНК) — коротких стабильных молекул РНК, 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 модифици-

рованных форм (табл. 8). Нуклеотидные последовательности всех U-РНК позвоночных совпадают на 95%.

Таблица 8

U-РНК млекопитающих

U-РНК	Длина РНК (число нуклеотидов)	Функция
U1	164	Сплайсинг про-мРНК
U2	187	Сплайсинг про-мРНК
U3	217	Сплайсинг про-мРНК в ядрышке
U4	145	Сплайсинг про-мРНК
U5	116	Сплайсинг про-мРНК
U6	106	Сплайсинг про-мРНК
U7	65	Образование 3'-концов гистоновых мРНК
U11	131	Полиаденилирование про-мРНК

Малые цитоплазматические РНК

Известно, что большинство этих РНК ассоциированы с крупными семействами последовательностей, содержащими как гены, так и псевдогены.

Таблица 9

Размер РНК у разных организмов

РНК	Организм	Длина РНК (число нуклеотидов)
7SL	Позвоночные	300
7S	Беспозвоночные	254
7SK	Беспозвоночные	330
4,5S	Грызуны	90—94

Репликация ДНК

Процесс удвоения молекулы ДНК, или самовоспроизведения, называется репликацией.

Созданная Уотсоном — Криком модель двойной спирали ДНК заложила основу в понимание возможности копирования генети-

ческого материала. Во-первых, следует подчеркнуть, что соединение двух полинуклеотидных цепей только водородными связями позволяет им разделиться. Во-вторых, из специфичности спаривания азотистых оснований вытекает, что каждая цепь может служить матрицей для синтеза комплементарной цепи. В 1958 г. Мэтью Мезелсоном и Франклином Сталем были получены убедительные экспериментальные подтверждения модели Уотсона — Крика. В этих экспериментах было показано, что в точном соответствии с предсказаниями репликация ДНК происходит полуконсервативно: каждая дочерняя молекула ДНК состоит из одной интактной (консервативной) цепи, полученной от родительской двойной спирали, и одной синтезированной цепи (рис. 120). Процесс репликации начинается с того, что иницирующие белки связываются с молекулой ДНК. «Расплетаются» ее комплементарные цепи, разрывая водородные связи между основаниями нуклеотидов цепей ДНК. Единство всех водородных мостов (водородных связей между основаниями нуклеотидов цепей ДНК) делает двойную спираль ДНК очень стабильной, но каждый отдельный «водородный мост» сам по себе слаб.

Пары А = Т образуют две водородные связи, тогда как пара Г ≡ Ц — три. Поэтому на участках ДНК, богатых парами А = Т, цепи ДНК относительно легко отделяются друг от друга, именно такие участки наиболее часто обнаруживаются в местах «начала репликации».

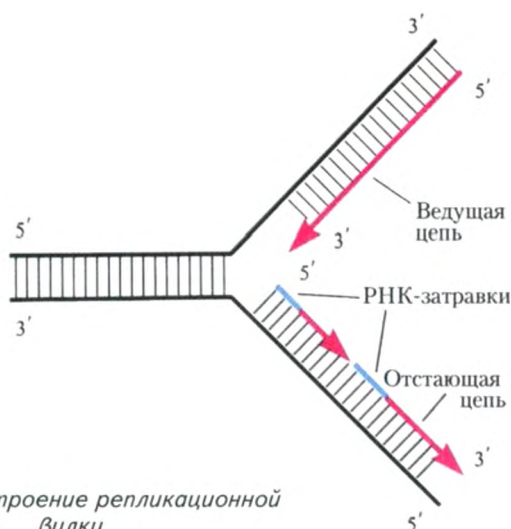


Рис. 120. Строение репликационной вилки

Процесс репликации ДНК играет важную роль в передаче наследственной информации, записанной в последовательности пар нуклеотидов: от родительской молекулы ДНК — дочерним молекулам ДНК, от родительских соматических клеток — дочерним соматическим клеткам и, наконец, от родительского организма — потомкам. Таким образом, благодаря репликации потомство имеет стабильную генетическую информацию о развитии, функционировании и поведении.

Процесс репликации ДНК идет с участием большого количества белков.

Репликация у прокариот

Точка начала репликации у прокариот называется «*ori*» (от англ. — *origin*). Известно, что в этих участках находятся высококонсервативные последовательности, расположенные тандемно. Эти последовательности узнаются ферментами репликации. Новая ДНК образуется с одинаковой скоростью в обоих направлениях до тех пор, пока ДНК не станет полностью удвоенной и не образуются две хромосомы (рис. 121).

Ведущим ферментом репликации является ДНК-полимераза. У прокариот *E. coli* в настоящее время известны пять типов ДНК-полимеразы (ДНК-полимеразы I, II, III, IV, V). В разных комбинациях они отвечают за репликацию и репарацию.



Рис. 121. Репликация хромосомной ДНК у бактерий. Монорепликонный механизм — репликация начинается в одной точке

ДНК-полимераза способна наращивать полинуклеотидные цепи только в направлении $5' \rightarrow 3'$, таким образом, из двух растущих цепей ДНК лишь одна может синтезироваться непрерывно (ведущая цепь). Синтез другой (отстающей) цепи ДНК, идущей также в направлении $5' \rightarrow 3'$, осуществляется короткими одноцепочечными фрагментами длиной около 1000—2000 п. н. у прокариот и 100—200 п. н. — у эукариот. Они получили название «фрагменты Оказаки». Синтез каждого из этих фрагментов, так же как ведущей цепи ДНК, начинается с РНК-затравки, или праймера. Ведущая цепь нуждается только в одном акте инициации, а для синтеза отстающей цепи должно произойти несколько актов инициации. На стадии инициации репликации фермент РНК-праймаза синтезирует короткую РНК-затравку. Синтез затравки необходим, так как фермент ДНК-полимераза может работать только при наличии свободного $3'$ -ОН конца, присоединяя к нему нуклеотиды, тогда как РНК-полимераза работает в отсутствие $3'$ -ОН группы на одноцепочечной молекуле ДНК. Фермент праймаза отличается от РНК-полимераз, синтезирующих разнообразные РНК клетки. После того как будет синтезирован РНК-праймер, подключается ДНК-полимераза и продолжает наращивать цепь.

После расплетания и разделения родительских цепей синтез дочерних цепей осуществляется ДНК-полимеразой, использующей в качестве субстратов дезоксирибонуклеозидтрифосфаты (дАТФ, дГТФ, дТТФ и дЦТФ). Цепи ДНК антипараллельны, т.е. в области репликативной вилки присутствуют $3'$ и $5'$ -концы синтезируемых цепей.

РНК-затравочные участки не сохраняются в структуре зрелой ДНК. После реализации своей функции для инициации репликации ДНК они удаляются за счет проявления $5'$ - $3'$ -эндонуклеазной активности ДНК-полимеразы. После удаления РНК-затравки и ее замещения на фрагмент ДНК, инициация синтеза которого происходит на следующей РНК-затравке, расположенной ближе к области репликативной вилки, между двумя соседними синтезированными фрагментами ДНК остается разрыв. Этот разрыв (отсутствие ковалентной связи между $3'$ -ОН и $5'$ - PO_4 -концами фрагментов цепи) устраняется при участии фермента ДНК-лигазы.

Синтез ведущей и отстающей цепей происходит по мере продвижения репликативной вилки вдоль двойной спирали, образование двух матричных цепей ДНК при участии ферментов и сопровождается значительными энергетическими затратами.

Для того чтобы двойная спираль ДНК раскрылась, необходимы особые белки — ДНК-геликазы.

ДНК-геликазы «сажаются» на ДНК с помощью специальных инициаторных белков, связывающихся с точками начала репликации, и раскручивают двойную спираль, разрывая водородные связи между основаниями, используя энергию гидролиза АТФ. Белок первого типа, геликаза, осуществляет собственно расплетание спирали, а энергия, необходимая для этого, поставляется за счет гидролиза АТФ.

Белок второго типа (SSB) — дестабилизирующий спираль белок — специфически связывается с одноцепочечной ДНК, не позволяя им сомкнуться. При этом они не закрывают оснований ДНК и основания остаются доступными для спаривания. Расплетание двойной спирали родительской ДНК без вращения приводит к образованию дополнительных витков или узлов на участках ДНК впереди репликативной вилки.

Белок третьего типа, топоизомераза, способствует ослаблению связей на сверхскрученных участках ДНК, внося одноцепочечные разрывы фосфодизфирных связей и раскручивая узлы в области родительской двойной спирали перед репликативной вилкой. После такого раскручивания и снятия напряжения, связанного с образованием дополнительных витков спирали, топоизомераза вновь замыкает разорванные фосфодизфирные связи и восстанавливает структурную целостность родительской ДНК. Таким образом, синтез ДНК является полунепрерывным процессом, так как одна цепь синтезируется непрерывно, а другая фрагментами Оказаки — прерывисто.

Репликация у эукариот

Репликация у эукариот начинается в нескольких точках. Эти точки называются ARS (Autonomously Replicating Sequence — автономно реплицирующаяся последовательность). В хромосомах эукариот существует большое количество ARS. Структура, в которой происходит репликация, получила название репликационной вилки. Репликационная вилка движется последовательно вдоль ДНК от ее стартовой точки. По ходу процесса соседние репликоны соединяются. Иногда насчитывают сотни репликонов, репликация идет в обоих направлениях от каждого репликона до слияния с

соседним репликоном и полного удвоения ДНК. Синтез ДНК происходит в S-периоде интерфазы клеточного цикла.

Репликоны формируют структуры, называемые «репликационный глазок» (рис. 122, 123).

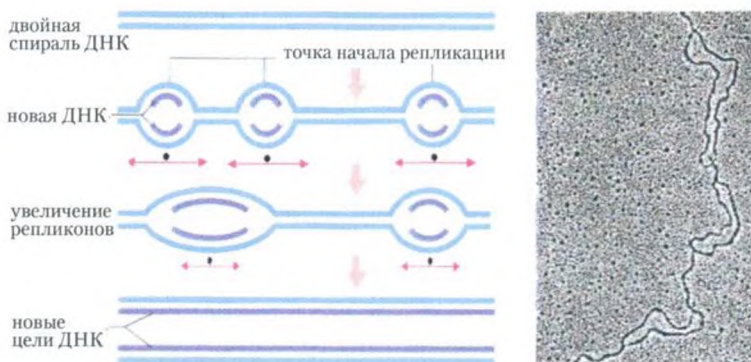


Рис. 122. Репликация у эукариот начинается в нескольких точках — полирепликонный механизм

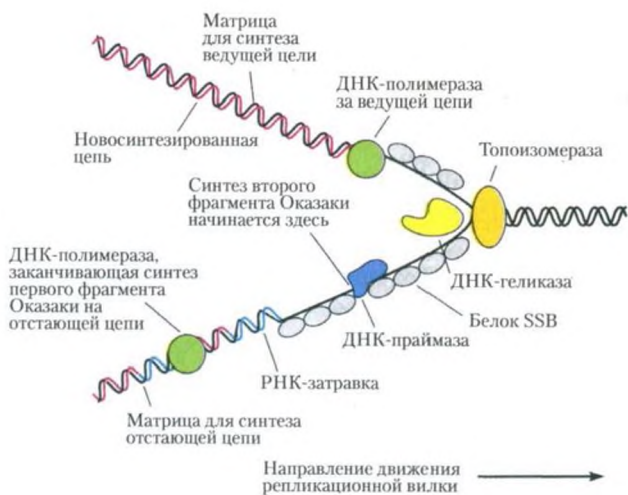


Рис. 123. Расположение основных белков в репликационной вилке

По ходу процесса соседние репликоны сливаются, образуя характерную промежуточную Y-образную конфигурацию. Когда репликация заканчивается, из одной линейной родительской молекулы образуются две линейные дочерние, каждая из которых, так же как и родительская, представляет собой двойную спираль.

Удивительная простота полуконсервативной модели репликации ДНК скрывает сложнейшие биохимические процессы, обеспечивающие эту репликацию. Эволюционно сформировавшийся репликационный аппарат обеспечивает максимальную точность передачи информации от родительских к дочерним молекулам ДНК. Ферменты и другие различные белковые молекулы, вовлеченные в процесс как полуконсервативной репликации, так и репарации и рекомбинации, представлены в табл. 10.

Таблица 10

ДНК-полимеразы у эукариот

Белок	Молекулярная масса субъединиц, кДа	Энзиматическая активность	Биологическая функция
ДНК-полимераза α (альфа)	160—185	ДНК-полимераза	Синтез праймеров на обеих цепях ДНК Транспорт ДНК-полимеразы в клеточное ядро Связывание пуринового нуклеотида, присоединение праймы к ДНК-полимеразе
	67—70		
	54—58		
β (бета)	46—50	Праймаза	Заполнение брешей при эксцизионной репарации ДНК, участие в рекомбинации, процессинг фрагментов Оказаки Репарация и репликация митохондриальной ДНК
	39—40	ДНК-полимераза	
γ (гамма)	125—140	ДНК-полимераза	
	35—40	3—5'-эксонуклеаза	
δ (дельта)	125—130	ДНК-полимераза	Синтез лидирующей цепи геномной ДНК в репликативной вилке Связь с фактором процессивности PCNA
	48—55	3—5'-эксонуклеаза	
ϵ (эпсилон)	230—261	ДНК-полимераза	Синтез отстающей цепи геномной ДНК в репликативной вилке
	55	3—5'-эксонуклеаза	
ζ (зета)	173	ДНК-полимераза	Синтез ДНК на поврежденной матрице при SOS-ответе
	29	3—5'-эксонуклеаза	
η (эта)		ДНК-полимераза	Фермент репарации

У эукариот известны семь типов ДНК-полимераз (ДНК-полимераза α , β , γ , δ , ϵ , ξ , η) (табл. 10).

В разных комбинациях эти семь ДНК-полимеразы отвечают за репликацию и репарацию в ядре, митохондриях, пластидах.

Таблица 11

Различные ферменты и типы ферментативной активности, вовлеченные в биосинтез ДНК

Название фермента (белка)	Функция
Геликаза	Функция раскручивания двойной спирали за счет разрыва водородных связей
SSB-белок	Белок, связывающийся с одноцепочечной ДНК
Топоизомераза	Удаление супервитков спирали
ДНК-полимераза	Рост цепи ДНК за счет поликонденсации дезоксирибонуклеозид трифосфатов
Праймаза	Синтез РНК-затравки (праймера)
5'—3' эндонуклеаза	Удаление РНК-затравки, репарация
3'—5' эндонуклеаза	Исправление ошибок репликации
ДНК-лигаза	Соединение 3'-ОН и 5'-PO ₄ концов одноцепочечного разрыва
Эндонуклеаза	Репарация
Гликозилаза	Репарация

Репарация при повреждении ДНК

Свойство восстанавливать повреждения, возникающие в ДНК, называется репарацией (рис. 124, 125).

Большинство спонтанных и индуцированных мутагенами повреждений ДНК можно устранять с помощью особых ферментативных систем — нуклеаз, находящихся в клетках различных организмов. Механизм репарации основан на принципе комплементарности в построении ДНК. Повреждение в одной из цепочек ДНК узнается ферментами, а затем поврежденный участок удаляется и по типу комплементарности восстанавливается поврежденная цепочка.



Рис. 124. Основные принципы репарации ДНК

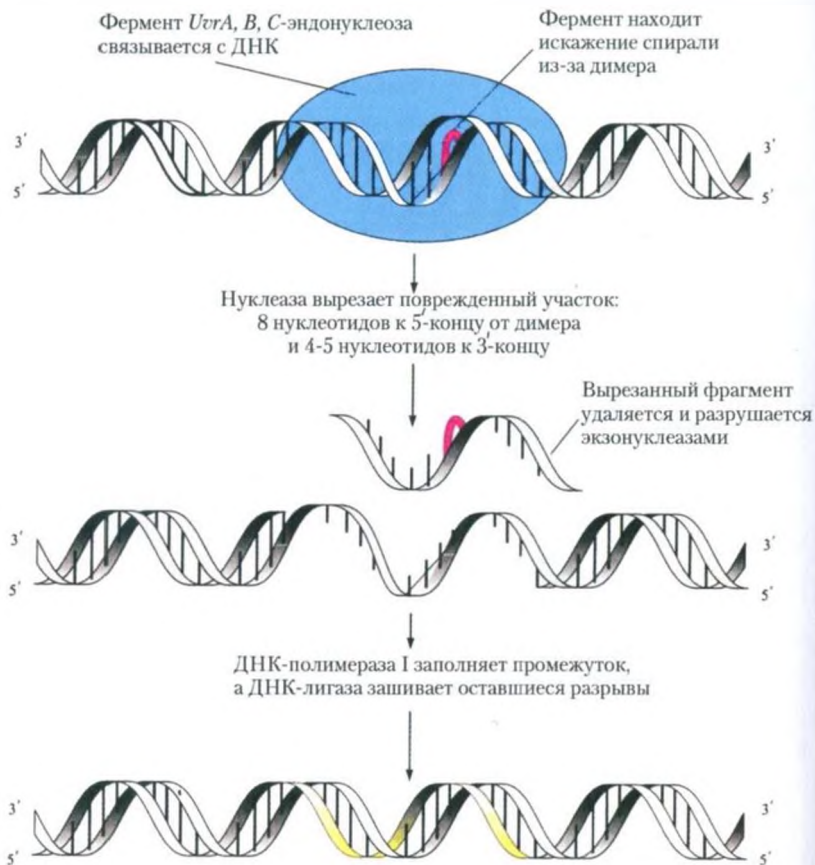


Рис. 125. Эксиционная репарация, инициированная ферментом *UvrA, B, C*-эндонуклеазы

Ошибки в нуклеотидной последовательности часто возникают при репликации.

По отношению к процессу репликации различают три типа репарации ДНК:

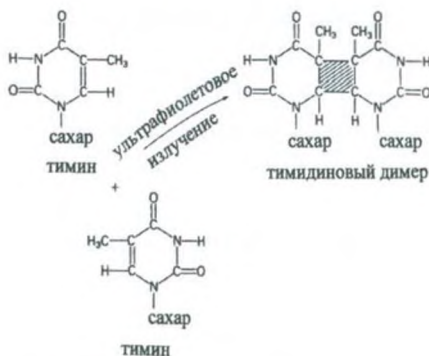
- 1) дорепликативную;
- 2) репликативную;
- 3) пострепликативную.

Различные реакции репарации

Фотореактивация, или световая репарация

В 1949 г. немецкий генетик А. Кельнер отметил, что в бактериях и грибах, облученных ультрафиолетовым светом (УФ), частота мутаций падает, если их перенести на видимый свет. После этого их выживаемость резко возрастает по сравнению с необлученными клетками, оставленными в темноте. Это явление было названо фотореактивацией. Далее данный процесс был отмечен у бактериальных вирусов и высших эукариот. В 1958 г. был выделен фермент — фотолиаза, который осуществляет фотореактивацию. Механизм фотореактивации связан с тем, что под влиянием УФ-облучения образуются димеры пиримидиновых оснований (рис. 126). Это могут быть димеры тимина, димеры цитозина или тимино-цитозиновые димеры. Фермент фотолиаза расщепляет вновь образующиеся свя-

а) Образование тимидинового димера



б) Тимидиновый димер в молекуле ДНК



Рис. 126. Образование тимидиновых димеров под действием УФ-излучения

ной нитью ДНК. Таким образом структура ДНК полностью восстанавливается.

По времени осуществления эксцизионная репарация может быть:

1) дорепликативная — когда восстановление поврежденной нити ДНК происходит в G_1 -периоде клеточного цикла до ее удвоения;

2) репликативная репарация — когда восстановление ДНК происходит в ходе репликации. Довольно часто у прокариот и эукариот во время репликации ДНК происходят ошибки спаривания нуклеотидов. Вместо комплементарной пары $A = T$ или $G = C$ в дочернюю цепь оказываются включены нуклеотиды, некомплементарные нуклеотидам в материнской цепи (их называют мисмэтчами — от англ. mismatch — плохое сочетание). Для восстановления нормальной молекулы ДНК происходят сложные процессы с участием эндонуклеаз, приводящие к устранению участка мисмэтча, далее этот участок будет достроен ДНК-полимеразой, а концы соединяются с помощью лигазы;

3) пострепликативная репарация — когда восстановление ДНК идет в G_2 -периоде, т.е. после репликации. Происходит «узнавание», затем «вырезание» дефекта и сшивание ДНК.

SOS-репарация

В случае необходимости репликации ДНК, но при наличии в ней повреждений, которые не смогла устранить ни одна из выше описанных систем, активизируется механизм репарации, открытый в 1974 г. М. Радманом, названный SOS-репарацией (рис. 128, 129).

При SOS-репарации индуцируется синтез белка, который присоединяется к ДНК-полимеразному комплексу и делает возможным строить дочернюю ДНК напротив дефектных звеньев матричной цепи.

В результате ДНК оказывается удвоенной, хотя и с ошибкой, но это дает возможность провести клеточное деление.

С дефектом системы репарации связаны некоторые наследственные болезни. В 1968 г. Дж. Кливер доказал, что неизлечимая болезнь, пигментная ксеродермия, является дефектом разных репарирующих систем. У больных на коже возникают красные пятна, которые переходят в нарастающую коросту и далее — в раковую опухоль (рис. 128). Причины предположительно связаны со снижением или потерей активности УФ-эндонуклеазы.

Рис. 128. Фенотипические эффекты наследственного заболевания. Ребенок с интенсивно развивающимися злокачественными опухолями кожи после воздействия солнечных лучей

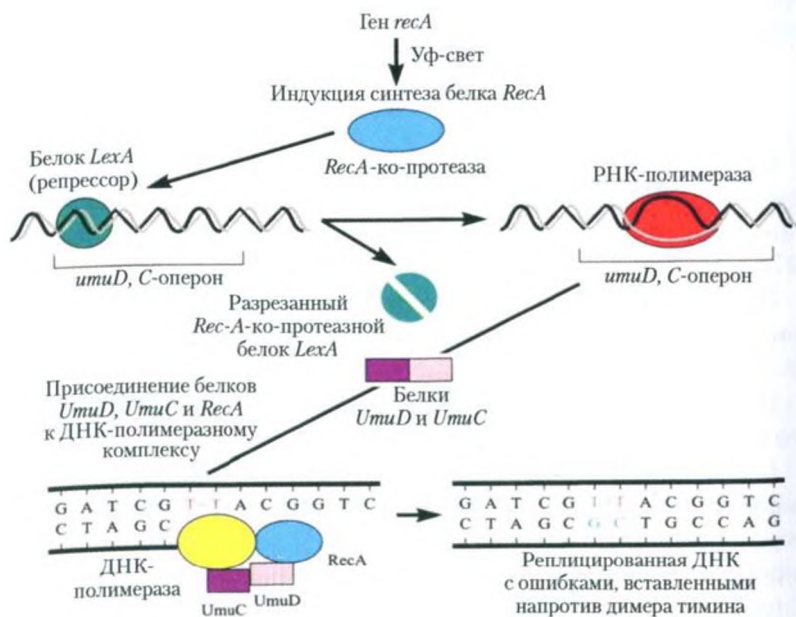


Рис. 129. Индуцируемая светом SOS-репарация

Реализация генетической информации

В сложном процессе реализации генетической информации можно выделить четыре основных этапа:

- 1) транскрипция;
- 2) процессинг;
- 3) трансляция;
- 4) посттрансляционные изменения белка.

Транскрипция

Процесс, в ходе которого нуклеотидная последовательность ДНК копируется в виде последовательности РНК, комплементарной ей, называется транскрипцией (рис. 130, 131). Фермент, катализирующий РНК на ДНК-матрице, был открыт в 1958 г. и назван РНК-полимераза.

У прокариот одна РНК-полимераза — сложный фермент, состоящий из пяти белковых единиц. Часть ферментов РНК-полимеразы называется сигма-фактором. У прокариот РНК-полимеразы синтезируют все виды РНК: мРНК, тРНК, рРНК.

У эукариот имеется три разные полимеразы — РНК-полимеразы I, II и III, каждая из которых транскрибирует разные категории генов.

РНК-полимераза I транскрибирует гены для рибосомальных РНК.

РНК-полимераза II — гены для синтеза белков (мРНК) и гены для малых РНК ядра (мяРНК).

РНК-полимераза III транскрибирует гены для транспортных РНК, рибосомальных 5S РНК, малых РНК и других.

РНК-полимеразы эукариот имеют большую молекулярную массу, чем РНК-полимеразы кишечной палочки *E. coli*, и состоят из 8—12 субъединиц.

Сигма-фактор необходим для указания *промотора* — особого участка в начале гена, который указывает место связывания РНК-полимеразы с ДНК. Различные сигма-факторы узнают различные промоторы и, таким образом, доступность сигма-фактора может регулировать транскрипцию генов, связанных с этим промотором. Так, наличие сигма-факторов используется для регуляции наборов генов.

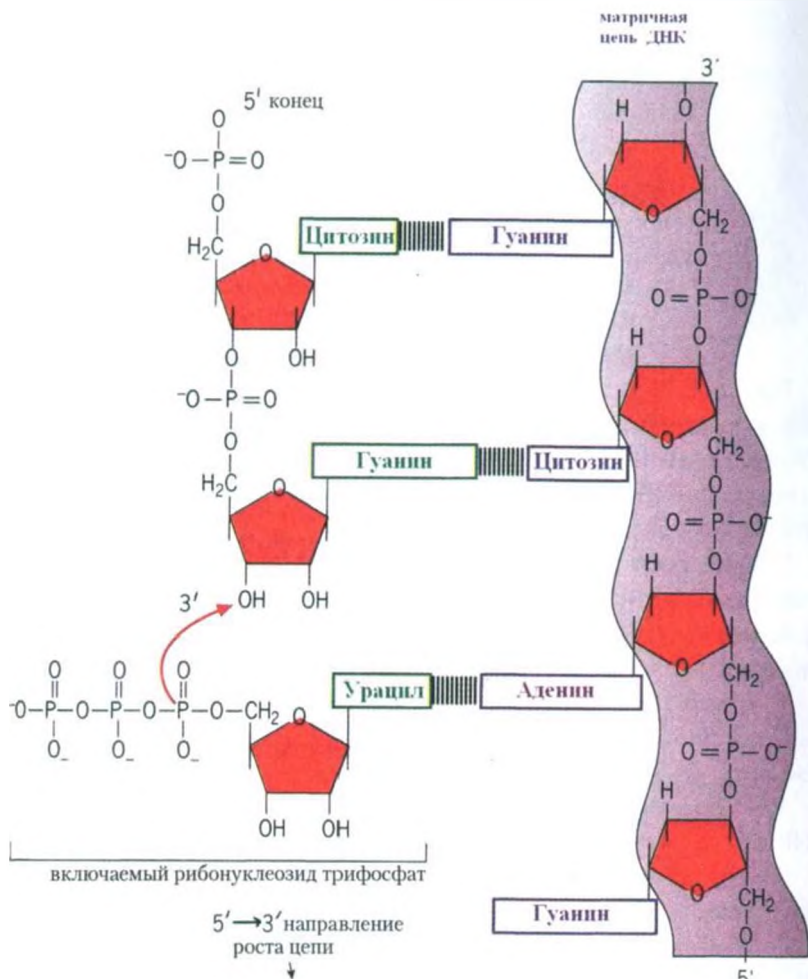


Рис. 130. Удлинение цепи РНК, катализируемое РНК-полимеразой

Каждый ген состоит из *регуляторной части* (сюда входит *промотор* и *терминатор*), *кодирующей части*, где записана информация о структуре иРНК, и *терминирующей части*, где завершается транскрипция. Регуляторная часть не транскрибируется, а со структурной части гена считывается информация на иРНК. После достижения молекулой РНК-полимеразы участка терминации фер-

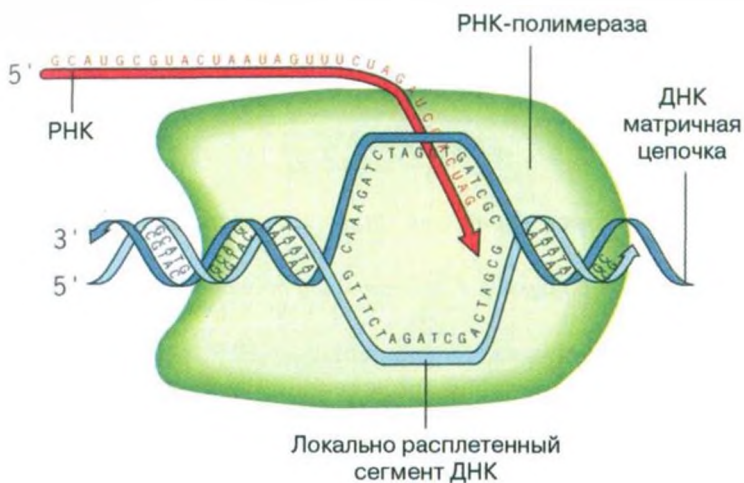


Рис. 131. Синтез РНК происходит внутри частично расплетенного участка ДНК. Раскручивание и обратное скручивание молекул ДНК катализируются РНК-полимеразой

мент РНК-полимераза покидает матрицу ДНК. После этого образование первичного транскрипта завершено. Поскольку он нестабилен, то немедленно транслируется у прокариот и модифицируется у эукариот.

Транскрипция у прокариот

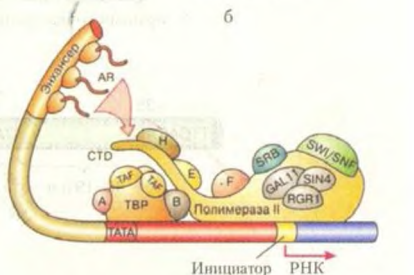
Промотор у прокариот содержит две группы нуклеотидных последовательностей (рис. 134, 135). Эти последовательности расположены на расстоянии 10 н.п. и 35 н.п. выше точки начала транскрипции.

Вначале сигма-фактор слабо связывается с участком промотора в положении — 35 н.п., контролируя присоединение РНК-полимераза на промотор. Затем РНК-полимераза связывается с доменом Прибнова — район 10 н.п.

Далее начинает расплетаться ДНК длиной в 17 н.п. вокруг нуклеотида в положении 10 н.п. Здесь присутствуют в азотистом основании $A = T$, имеющие по две водородные связи, что облегчает



Рис. 133. Регуляция транскрипции: а — распределение белков в типичном промоторе эукариот. Активаторы *ar* (изображены оранжевым цветом), связанные с энхансерами — элементами в молекуле ДНК, стимулируют транскрипцию за счет белковых взаимодействий между активирующими доминантами (изогнутые концы активатора) компонентами TFIID и РНК-полимеразой II; б — схема организации контролирующего района типичного гена эукариот, состоящего из регуляторных последовательностей и промотора.



Энхансеры и сайленсеры могут входить в структуру генов, но чаще всего располагаются на расстоянии. Энхансеры и сайленсеры служат местами для узнавания и связывания с регуляторными белками, активирующими РНК-полимеразу.

У эукариот процесс транскрипции и последующее созревание иРНК в мРНК-процессинг протекает в клеточном ядре, он значительно усложнен. Это связано с несколькими обстоятельствами.

Во-первых, у эукариот функционируют три разные полимеразы — I, II, III.

Во-вторых, РНК-полимераза эукариот не может сама инициировать транскрипцию. Для ее активации необходимо большое количество белков, они называются факторами транскрипции. Общие факторы транскрипции объединяются в комплексы.

В-третьих, регуляторные элементы у эукариот могут влиять на скорость транскрипции, даже если они расположены за тысячи пар нуклеотидов от промотора. Это энхансеры (Enhancer — усилитель). Под энхансерами понимают любой дискретный элемент последовательности ДНК, который связывает общие транскрипци-

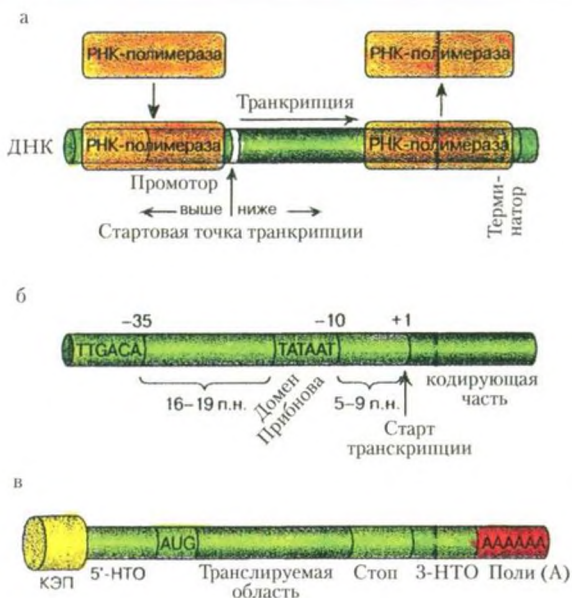
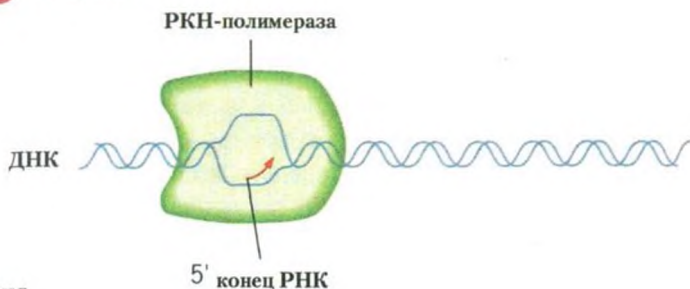


Рис. 134. Элементы организации транскрипции у прокариот (а, б) и эукариот (в): а — единица транскрипции, содержащая различные элементы гена; б — схема наиболее типичного промотора прокариот, имеющего три основных компонента: консервативные последовательности нуклеотидов в положениях -10 и -35, то есть на 10 и 35 нуклеотидов выше точки старта транскрипции, и точку старта транскрипции; в — схема расположения некоторых функциональных участков в молекуле мРНК эукариот. КЭП — структура, присоединенная с 5'-конца мРНК после транскрипции гена; 5' - и 3' -НТО — нетранслируемые области соответственно на 5' - и 3' -концах мРНК; поли (А) — полиаденилированный 3' -конец мРНК

онные факторы и действует на транскрипцию. Энхансеры взаимодействуют с регуляторными белками (транскрипционными факторами), изменяя уровень транскрипции гена. Эти регуляторные белки могут связываться с гормонами. Энхансер может обладать ткане- и видоспецифичностью. Долгое время энхансеры считались принадлежностью только эукариот. Сейчас они найдены и у прокариот. В большинстве случаев энхансеры расположены перед промотором, иногда на большом расстоянии от промотора. Энхансеры

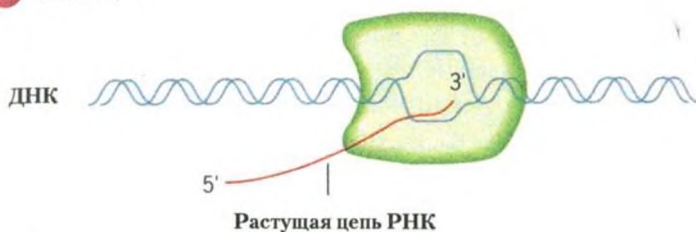
шаг

1 Инициация



шаг

2 Элонгация



шаг

3 Терминация

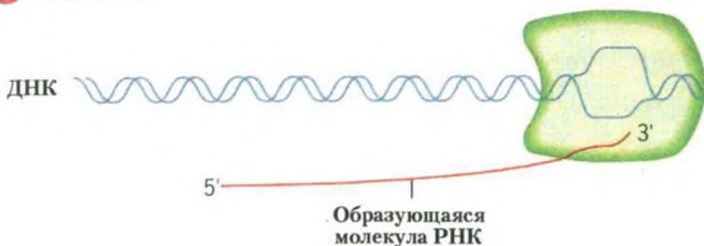


Рис. 135. Стадии транскрипции: инициация, элонгация, терминация у *E. coli*

образуют петлю, взаимодействуя с промотором, который непосредственно взаимодействуют с общими факторами транскрипции и с молекулой РНК-полимеразой.

Сайленсеры — ослабители транскрипции, являются негативными элементами по отношению к транскрипции. Они так же, как *энхансеры*, оказывают свое действие на большом расстоянии от гена.

В-четвертых, у эукариот сначала происходит транскрипция в ядре, а затем трансляция в цитоплазме. То есть эти процессы разделены в пространстве и во времени. Фактором транскрипции называют белок, который необходим для инициации транскрипции, но не является собственно РНК-полимеразой. Промотор у эукариот состоит из двух нуклеотидных последовательностей, расположенных на расстоянии 25 и 75 н.п. выше точки начала транскрипции. В точке -25, т.е. самой близкой точке к началу транскрипции, является ТАТА-бокс — такая последовательность (5'-ТАТААА-3'), называемая доменом Хогнесса, далее следует домен ЦЦААТ. Домен ЦЦААТ играет существенную роль в инициации транскрипции, ТАТА-бокс, по-видимому, выполняет вспомогательную транскрипционную роль.



В процессе транскрипции выделяются этапы:

инициация;

элонгация;

терминация

Факторы транскрипции

Выделяют два типа фактора транскрипции: I — общие факторы транскрипции; II — специфические факторы транскрипции.

I. Общие факторы транскрипции

Для работы РНК-полимеразы необходимы общие факторы транскрипции. Для РНК-полимеразы известны семь общих факторов транскрипции: TF (transcription factor) IIA, TFIIБ, TFIIД, TFIIЕ, TFIIГ и TFIIИ и TFIIJ. Римская цифра в обозначении этих факторов показывает, к какой РНК-полимеразе относится этот фактор — I, II или III. Вместе с РНК-полимеразой II они могут осуществлять транскрипцию *in vitro*. Таким образом, активновность РНК-полимеразы II поддерживается несколькими белками TF II, обозначенными буквами В, F, Е и А. В начале процесса транскрипции РНК-полимераза II должна быть освобождена от комплексов факторов

транскрипции. Две другие РНК-полимеразы, I и III, найденные у эукариот, также требуют активирования набора общих факторов транскрипции.

Элонгация транскрипции проходит в направлении $5' \rightarrow 3'$. РНК-полимераза осуществляет элонгацию цепи РНК.

Терминация транскрипции ведет к уходу фермента РНК-полимеразы с цепи ДНК и освобождению РНК-транскрипта. РНК-полимераза вновь в состоянии соединиться с сигма-фактором и начать новый раунд транскрипции. РНК-транскрипт готов начать свою деятельность или как конечный продукт экспрессии гена, или как посредник для синтеза в процессе трансляции.

II. Специфические факторы транскрипции

Специфические транскрипционные факторы регулируют транскрипцию через энхансеры. Поскольку энхансеры могут располагаться на большом удалении от промоторов, то соединение соответствующих транскрипционных белков, сающихся на энхансер, с РНК-полимеразой II осуществляется за счет образования петли участка ДНК между промотором и энхансером. Различные группы организмов различаются по специфическим транскрипционным факторам. У эукариот кодирующие участки гена (экзоны) перемежаются с некодирующими последовательностями ДНК (интроны). В силу этого транскрипция у эукариот дополняется еще одной операцией — процессингом.

Процессинг РНК

Совокупность биохимических реакций у эукариот, приводящих к преобразованию первичного транскрипта информационной РНК (иРНК) в зрелую мРНК, называется созреванием, или процессингом. Образовавшиеся в результате транскрипции первичные РНК-транскрипты поначалу далеко не всегда представляют собой функционально активные молекулы РНК. Прежде чем стать активными мРНК, они должны перетерпеть ряд модификаций, которые и превращают их в зрелые РНК.

Процессинг включает следующие преобразования иРНК в мРНК:

- 1) кэпирование;
- 2) полиаденилирование;
- 3) сплайсинг.

На концах иРНК у эукариот происходит химическая модификация. Как правило, на 5'-конец навешивается специальная нуклеотидная структура — «шапочка», или кэп (рис. 136). Кэп — модифицированный в 7-м положении метилированный остаток гуанозин-5'-фосфата, соединенный с концевым нуклеозидом 5'—5' способом. Кэпирование происходит вскоре после начала синтеза иРНК с участием ГТФ (гуанозинтрифосфата), из состава которого ГМФ (гуанозинмонофосфат) переносится на 5'-дифосфат первого нуклеотида иРНК. Считают, что кэп регулирует трансляцию, а также предохраняет мРНК от действия 5'-эндонуклеазы, когда она переходит в цитоплазму.

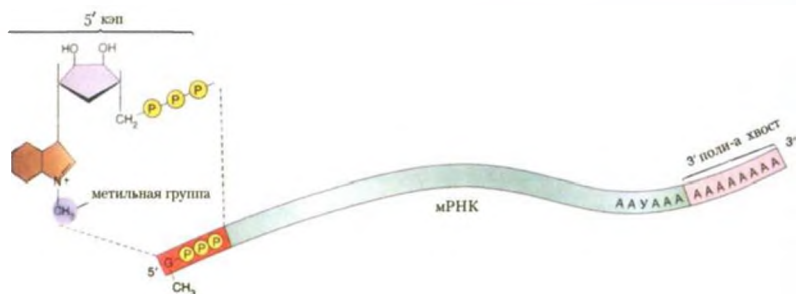


Рис. 136. Кэпирование и полиаденилирование мРНК

Полиаденилирование

Полиаденилирование осуществляется путем присоединения поли (А)-последовательности нуклеотидов, содержащим 100—200 остатков адениловой кислоты подряд и называемого также поли (А)-хвостом. Поли (А)-хвост определяет стабильность мРНК и время ее жизни в клетке. Кроме того, у эукариот поли (А)-хвост, возможно, способствует выходу мРНК из ядра в цитоплазму, а также необходим для регуляции транскрипции мРНК.

Процессинг у прокариот имеет весьма ограниченный характер и в основном затрагивает предшественников рРНК и тРНК, тогда как мРНК используется для трансляции сразу после их синтеза, еще до окончания их транскрипции.

Посттранскрипционные модификации иРНК у эукариот связаны с экзипированием, полиаденированием и с экзон-интронным строением генов, а также прерывистым строением их гена, содержащего экзоны и интроны, что требует четкой системы сплайсинга первичных транскриптов.

Сплайсинг

В 1977 г. Р. Робертсом и П. Шарпом была установлена прерывистость генов у эукариот. Оказалось, что последовательности, кодирующие белок, прерываются вставками, которые не кодируют белки и удаляются из созревшей иРНК. Эти участки были названы интронами. Участки, сохраняющиеся в составе мРНК и кодирующие белок, называются экзонами. Во время транскрипции считывается вся протяженность гена, содержащая как экзоны, так и интроны, затем в ходе созревания иРНК в молекулы мРНК вырезаются и удаляются участки, считанные с интронов. Участки, считанные с экзонов, соединяются в одну общую последовательность, а именно в матричную РНК. Таким образом, когда мы говорим «удаляются интроны», то на самом деле удаляются последовательности, кодируемые интронами из иРНК, но интроны присутствуют в ДНК постоянно. Процесс удаления интронов и сшивания концов экзонов получил название сплайсинга РНК (от англ. splice — соединение концов).

Информационная РНК может содержать от одного до десятков интронов, размеры которых сильно варьируются. В результате удаления интронов мРНК укорачивается. Сплайсинг РНК происходит в ядре по мере образования РНК на ДНК-матрице. Сплайсинг должен осуществляться точно, поскольку ошибки при вырезании интронов и сшивании экзонов могут привести к нарушению кодирующей способности сшитых экзонов. В число компонентов, катализирующих процесс сплайсинга, входят малые ядерные РНК (мяРНК) и десятки белков, обладающих ферментативной активностью, необходимой для эффективного сплайсинга. Эти белки, связанные с мяРНК, образуют рибонуклеопротеидные частицы (мяРНП) (рис. 137). Место соединения интрон/экзон узнается мяРНП. Эти структуры (мяРНП) затем собираются вместе, образуя более крупный комплекс, называемый сплайсосомой, которая отвечает за сплайсинг и удаление интронов. Механизм сплайсинга

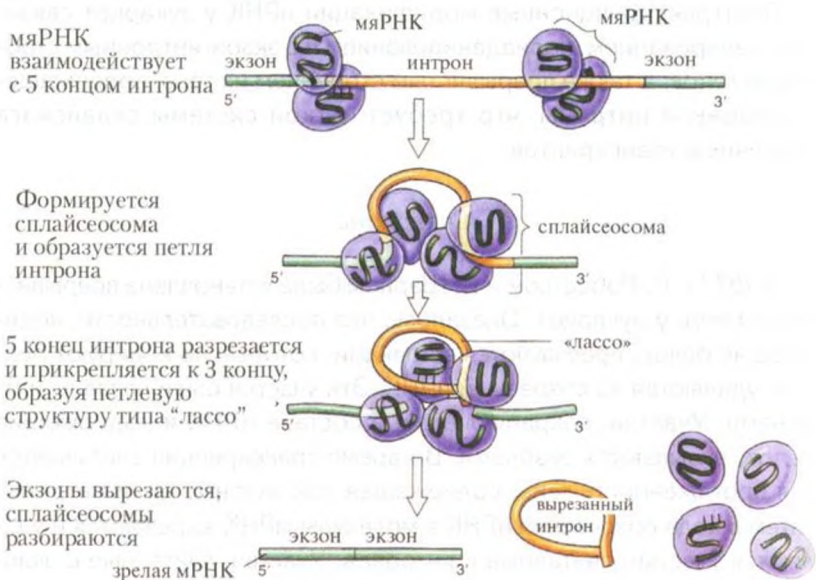


Рис. 137. Механизм сплайсинга

включает расщепление 5'-конца интрона так, что его 5'-конец становится прикрепленным к 3'-ОН внутреннего аденинового нуклеотида, образуя петлевою структуру, называемую лассо. 3'-конец первого экзона затем обычно замещает 3'-конец интрона, соединяя два экзона вместе, освобождая интрон. Экзоны «сшиваются», образуя в итоге зрелую молекулу мРНК. Таким образом, у первичного транскрипта РНК в дополнение к кэпированию и полиаденилированию в сплайсосомах вырезаются интроны, а затем соединяются экзоны.

Альтернативный сплайсинг

Несколько экзонов, содержащихся в мРНК, могут сшиваться в разных комбинациях с образованием различных матричных последовательностей (рис. 138). Альтернативный сплайсинг позволяет организму синтезировать разные по структуре и свойствам белки на базе одного гена. В формировании альтернативных мРНК задействованы разные механизмы. Первый из них состоит в том, что

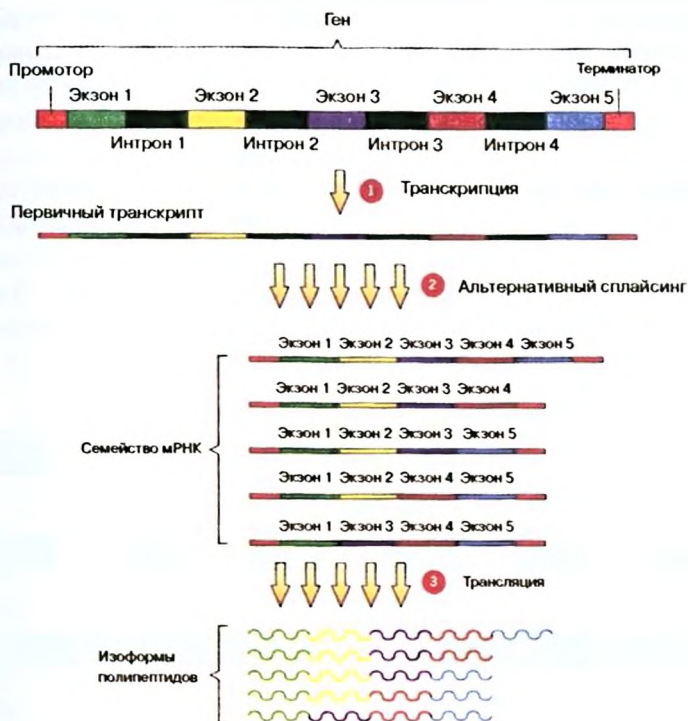


Рис. 138. Один ген может кодировать семейство близкородственных полипептидов при использовании альтернативного сплайсинга экзонов

для образования различных мРНК могут использоваться разные промоторы. В этом случае образуются транскрипты, имеющие разные по длине 5'-концы и разное количество экзонов. Такой механизм сплайсинга выявлен для иРНК легкой цепи миозина позвоночных животных.

Второй тип альтернативного сплайсинга имеет место при изменении сайта полиаденилирования первичного транскрипта. В этом случае изменяются размеры и структура 3'-участка иРНК. Таким способом образуются два вида мРНК тяжелой цепи иммуноглобулинов.

Третий тип альтернативного сплайсинга включает выбор различных экзонов из одинаковых иРНК. При этом для формирования зрелых РНК могут использоваться различные экзоны, а часть из них

не включается в сплайсинг. Таким образом, происходит сплайсинг иРНК тропонина Т скелетных мышц млекопитающих, содержащих 18 экзонов. При этом выбор экзонов зависит от стадии развития организма: экзон 16 присутствует в мРНК тропонина Т у взрослых, а экзон 17 — в мРНК этого белка у эмбрионов.

Альтернативный сплайсинг РНК гена кальцитонина состоит из шести экзонов (рис. 139). В щитовидной железе с гена кальцитонина в результате вырезания интронов и части экзонов (5 и 6) в мРНК образуется соответствующий полипептид — кальцитонин. В гипоталамусе с этого же гена продуцируется белок CGRP пептид в результате удаления интронов и экзонов (4 и 6).

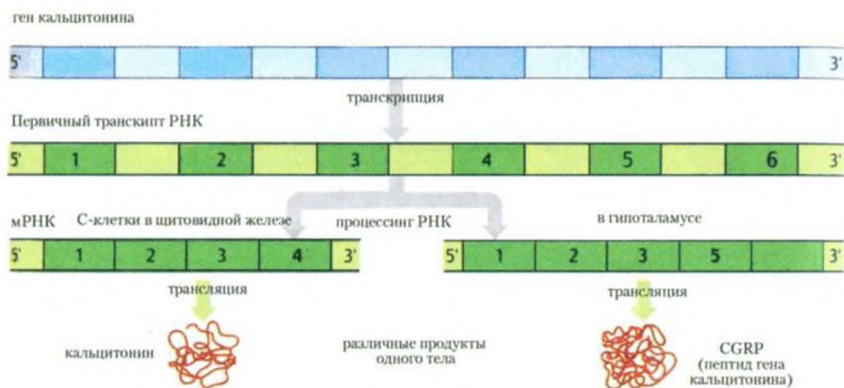


Рис. 139. Альтернативный сплайсинг РНК

Трансляция. Биосинтез белка

Биосинтез белка — важнейший этап реализации генетической программы клеток, в процессе которого информация, закодированная в первичной структуре нуклеиновых кислот, переводится в аминокислотную последовательность синтезируемых белков (рис. 140).

Генетический код

В 1950-е гг. американский физик Г. Гамов пришел к выводу, что минимум три нуклеотида ДНК должны кодировать одну аминокислоту. В 1960-х гг. Ф. Крик, С. Бреннер, Г. Витман и другие выясни-

ли, что код является не только триплетным, но и непрерывным, т.е. мРНК считывает последовательно по три нуклеотида. Окончательная расшифровка генетического кода была закончена в 1966 г. М. Ниренбергом, С. Очоа и Н.Г. Корана. Они установили, что триплетный код, благодаря сочетанию трех нуклеотидов дает возможность кодировать 20 разных аминокислот, входящих в белок. Из 64 возможных сочетаний трех нуклеотидов 61 кодон кодируют 20 аминокислот. Остальные три кодона (УАА, УГА и УАГ) не кодируют аминокислоты, а являются стоп-кодонами, или терминирующими кодонами. Помимо стоп-кодонов имеется стартовый, или иницирующий, кодон-АУГ, кодирующий аминокислоту метионин.

АУГ-триплеты обнаруживаются в пределах гена и в других местах. В этом случае они не являются стартовыми кодонами. Также было установлено, что генетический код является

вырожденным, так как многие аминокислоты кодируются двумя и более кодонами, а аминокислота глицин кодируется 4 кодонами-триплетами — ГГА, ГГУ, ГГГ и ГГЦ, а серин — 6 кодонами (табл. 12).

В трехнуклеотидном генетическом коде наиболее важны два первых нуклеотида, тогда как третий нуклеотид не всегда влияет на кодируемую аминокислоту. Генетический код почти всегда универсален, т.е. един для всех живых организмов на нашей планете.

Свойства генетического кода:

1) универсальность — код един для всех организмов (за некоторыми исключениями, например ДНК митохондрий);

2) вырожденность — каждая аминокислота (кроме метионина) кодируется несколькими триплетами ДНК (кодонами РНК);



Рис. 140. Уровни контроля экспрессии гена у эукариот

3) неперекрываемость — кодоны в мРНК считаются как отдельные самостоятельные единицы ;

4) специфичность — каждый триплет кодирует только одну аминокислоту;

5) наличие стартового кодона АУГ и терминирующих кодонов (стоп-кодонов), регулирующих трансляцию.

Во время трансляции последовательность кодонов, состоящих из нуклеотидных оснований в мРНК, превращается в соответствующую последовательность аминокислот. Трансляция происходит в рамке считывания, которая определяется в начале трансляции (старт-кодон). Аминокислоты присоединяются в последовательность, определяемую нуклеотидными основаниями мРНК, с использованием другого класса РНК, транспортной РНК (тРНК). Каждая аминокислота имеет свою собственную тРНК, у которой есть область (антикодон), комплементарная кодону на мРНК. Кодоны 1,

Таблица 12

Аминокислота	Кодоны и-РНК
Фенилаланин	УУУ, УУЦ
Лейцин	УУА, УУГ, ЦУУ, ЦУЦ, ЦУА, ЦУГ
Изолейцин	АУУ, АУЦ, АУА
Метионин	АУГ
Валин	ГУУ, ГУЦ, ГУА, ГУГ
Серин	УЦУ, УЦЦ, УЦА, УЦГ, АГУ, АГЦ
Пролин	ЦЦУ, ЦЦЦ, ЦЦА, ЦЦГ
Треонин	АЦУ, АЦЦ, АЦА, АЦГ
Аланин	ГЦУ, ГЦЦ, ГЦА, ГЦГ
Тирозин	УАУ, УАЦ
Гистидин	ЦАУ, ЦАЦ
Глутамин	ЦАА, ЦАГ
Гаспарагин	ААУ, ААЦ
Лизин	ААА, ААГ
Аспарагиновая кислота	ГАУ, ГАЦ
Глутаминовая кислота	ГАА, ГАГ
Цистеин	УГУ, УГЦ
Триптофан	УГГ
Аргинин	ЦГУ, ЦГЦ, ЦГА, ЦГГ, АГА, АГГ
Глиттин	ГГУ, ГП1 ГГА, ГГГ

2, 3 и 4 мРНК транслируются в аминокислотную последовательность: метионин (Мет), глицин (Гли), серин (Сер) и изолейцин (ИЛей) и т.д. Первым кодоном всегда служит АУГ (старт-кодон).

Так же как и в любом сложном молекулярно-биологическом процессе, можно выделить три стадии:

- 1) инициация;
- 2) элонгация;
- 3) терминация.

Трансляция (синтез белка) у эукариот происходит вне клеточного ядра в рибосомах в цитоплазме.

Рибосомы

Рибосомы — это молекулярные фабрики, способные создавать новые молекулы белка. Рибосомы представляют собой рибонуклеотидный комплекс, построенный из рРНК и белков. Цитоплазматические рибосомы прокариот и рибосомы эукариот очень сходны по структуре. Каждая рибосома состоит из двух рибонуклеотидных субчастиц: малой и большой (рис. 141—143).

Субчастицы рибосомы характеризуются коэффициентами седиментации, выраженными в единицах Сведберга S — это скорость осаждения субчастиц или макромолекулярного комплекса в ультрацентрифуге и зависит от молекулярной массы и формы объекта. У прокариот комплекс рибосомы равняется 70S и состоит из малой субчастицы 30S и большой субчастицы 50S. У эукариот — 80S — малая (40S) и большая (60S). Субчастицы синтезируются самостоятельно в ядрышке, а затем транспортируются из ядра в цитоплазму (рис. 144). Объединение малой и большой субчастиц (70 и 80S) происходит в присутствии мРНК, здесь значение S не суммируется.

В клетках эукариот рибосомы содержатся также в матриксе митохондрий и хлоропластов.

Основу каждой субчастицы составляют молекулы рРНК, вокруг которых группируются белки. Имеющиеся в рибосоме углубления (канал, туннель и др.) служат для взаимодействия с мРНК и аминокил-тРНК. Под электронным микроскопом видно, что 30S-субчастица подразделяется на «головку» и «тело», а 50S-субчастица имеет три характерных выступа.

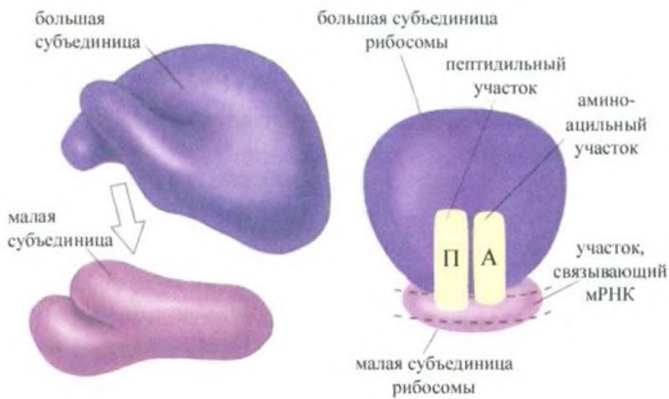


Рис. 141. Рибосома и ее функциональные участки

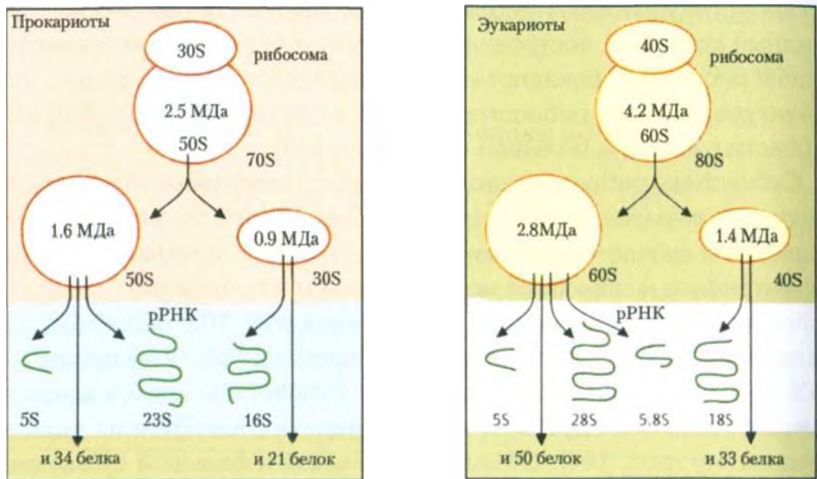


Рис. 142. Структуры и компоненты рибосом

В клетках бактерий рибосомы располагаются по всей цитоплазме, их число достигает 10^4 на одну клетку. В эукариотических клетках рибосомы в основном располагаются в эндоплазматической сети, образуя шероховатую эндоплазматическую сеть.

Синтез белка на рибосоме получил название *трансляция* (от англ. translation — перевод). Рибосома в процессе трансляции выполняет ряд функций:

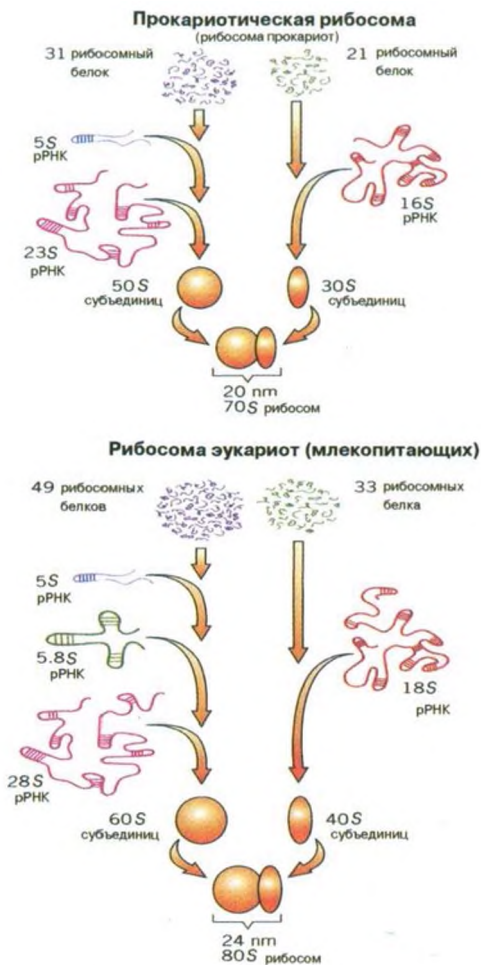


Рис. 143. Макромолекулярный состав рибосом про- и эукариот

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

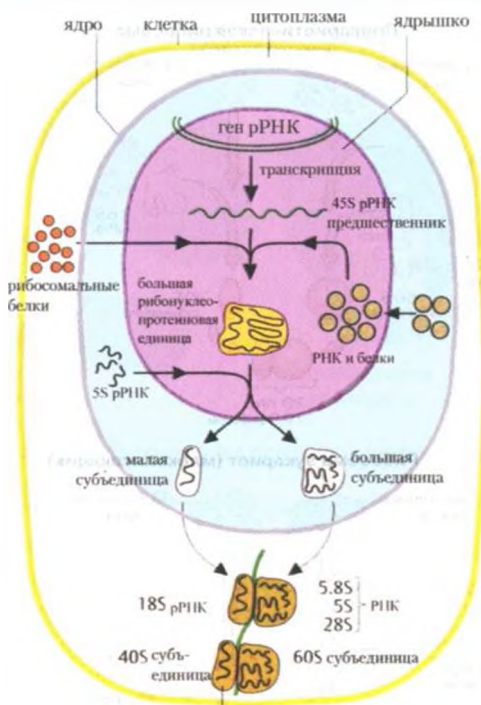


Рис. 144. Ядро и синтез рибосом

Связывание мРНК с малой субчастицей 30S у прокариот происходит в районе желобка. Главную роль здесь играет комплементарное взаимодействие пурин-богатого участка мРНК, так называемая последовательность Шайна—Дальгарно, с локализованной в 30S субчастице короткими, пиримидином богатыми участками 3'-конца молекулы 16S рНК (рис. 145).

Взаимодействие аминоксил-тРНК с рибосомой происходит в двух специальных центрах, которые формируются в период объединения большой и малой субчастиц. Это П — пептидный центр и А — аминокислотный центр. В аминокислотном А-участке располагается аминоксил-тРНК, несущая определенную аминокислоту. В пептидном П-участке располагается тРНК, которая нагружена цепочкой аминокислот, соединенных пептидными связями. Пептидный участок находится на большой субъединице (рис. 146—151).

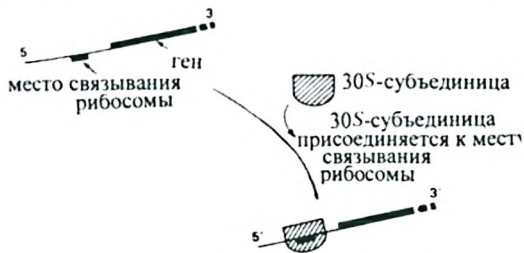


Рис. 145. Спаривание оснований между последовательностью Шайна—Дальгарно в прокариотической мРНК и комплементарной последовательностью вблизи 3'-конца 16S рРНК необходимо для образования комплекса мРНК и 30S малой субъединицы рибосомы

У эукариот мРНК имеет только один участок начала трансляции. Первый от 5'-конца АУГ-кодон оказывается иницирующим. Никаких Шайна—Дальгарно последовательностей мРНК эукариот не содержат. Единственным общепринятым и универсальным сигналом инициации является кэп-структура. Основную роль в поиске и закреплении малой (40S) субъединицы на иницирующем кодоне играют эукариотические иницирующие факторы, обозначенные «eif». Это большой белковый комплекс, который прочно связывается с 40S-субъединицей. Один из факторов связывает кэп-структуру на конце мРНК и тем самым осуществляет первоначальную привязку матрицы к 40S-субъединице рибосомы.

Трансляция начинается с инициации: образуется иницирующий комплекс, представляющий собой мРНК, рибосому и стартовую тРНК, несущую метионин; для этого необходимо присутствие ионов магния и рядов факторов инициации (ИФ1, ИФ2, ИФ3 и т.д.). Затем следует элонгация: присоединяется следующая аминокислота, определяемая последующим кодоном. Образуется трехфазный цикл элонгации с распознаванием кодонов, связыванием пептида со следующей аминокислотой и передвижением (транслокацией) рибосомы на три нуклеотида дальше в 3'-направлении мРНК.

а) 30S-субъединица рибосомы находит стартовый кодон



30S-субъединица перемещается вниз по течению к 1-му стартовому АУГ-кодону

б) Образование инициационного комплекса



место связывания рибосомы

5' ————— ген ————— 3' иРНК

...Н-Н-А-Г-Г-А-Г-Г-У-Н-Н-Н-Н.....Н-Н-А-У-Г....

место связывания рибосомы

Н-любой нуклеотид

стартовый кодон

Рис. 146. Инициация трансляции

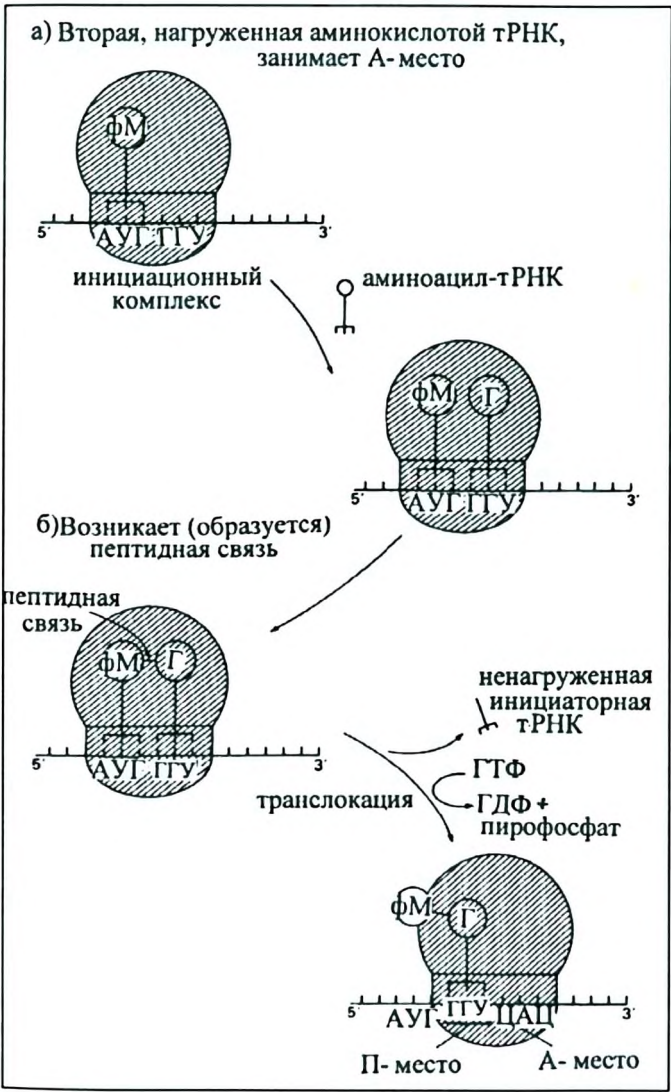


Рис. 147. Элонгация трансляции

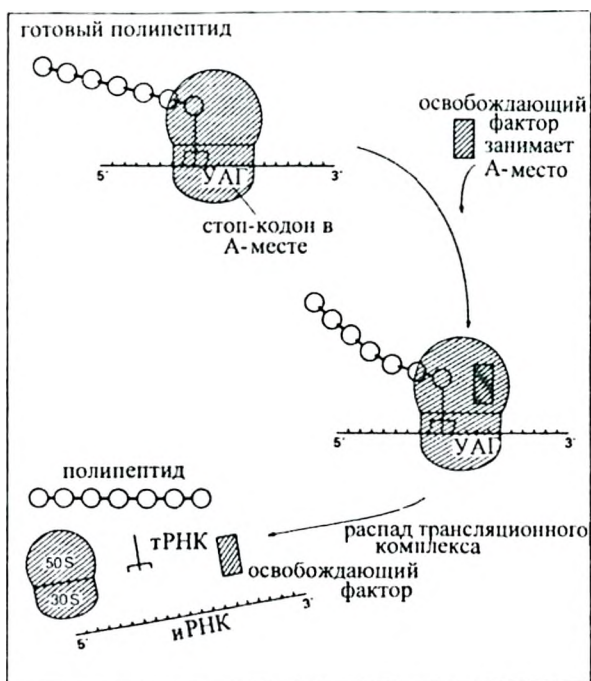


Рис. 148. Терминация трансляции

Основной фермент в рибосоме, участвующий в образовании пептидной связи, — пептидилтрансфераза. Трансляция заканчивается терминацией, когда достигается один из трех стоп-кодонов мРНК (УАА, УАГ или УГА). Полипептидная цепь покидает рибосому, которая распадается на 2 субъединицы.

Посттрансляционные изменения белков

Некоторые синтезированные белки неактивны без последующего «созревания» — модификации. В процессе «созревания» белковые молекулы могут терять концевые аминокислоты, при участии фермента, экзопептидазы, преобразовываться во вторичную и третичную белковые структуры. Если полипептидные цепочки объединяются, могут образовываться четвертичные структуры. Синтезированные макромолекулы могут объединяться с углевода-

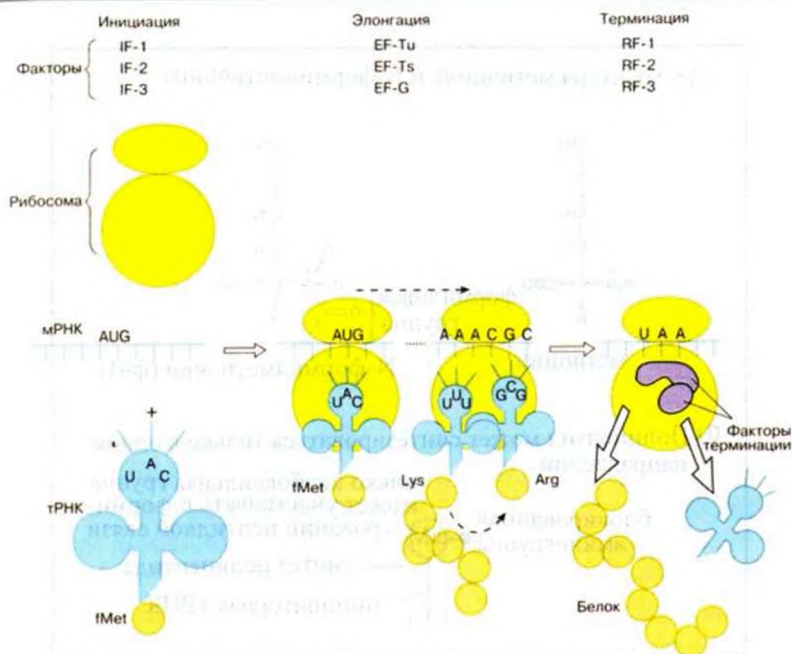


Рис. 149. Схема процесса трансляции

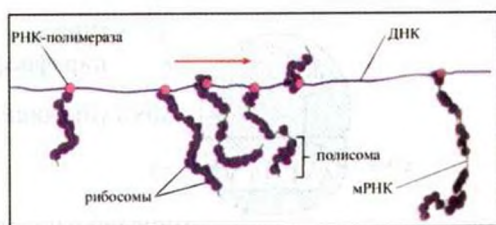
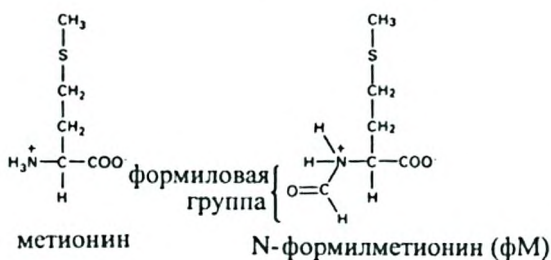


Рис. 150. Трансляция у прокариот происходит одновременно с процессом транскрипции мРНК. РНК-полимераза синтезирует мРНК, на которой сразу же формируется комплекс из полирибосом и происходит синтез белка

а) Структура метионина и N-формилметионина



б) Полипептид может синтезироваться только в одном направлении

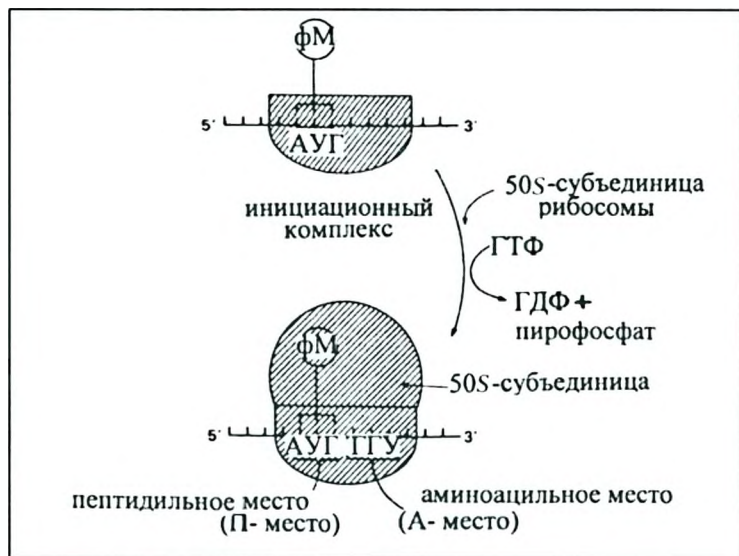


Рис.151. Сборка рибосомы на мРНК у прокариот

ми и липидами, встраиваясь в биомембраны. Пример посттрансляционной модификации белка — синтез-инсулина.

Инсулин исходно синтезируется в клетках поджелудочной железы в виде длинного полипептида пре-про-инсулина. После отщепления N-концевой, затем — средней части пептида он превращается в инсулин.

Таким образом, в результате посттрансляционной модификации белки приобретают специфические свойства и функциональную активность.

Особенности трансляции у про- и эукариот

А. Прокариотические гены транскрибируются на мРНК, с которой одновременно происходит трансляция. Таким образом нуклеотидная последовательность ДНК точно соответствует последовательности аминокислот в закодированном полипептиде.

Б. Эукариотические гены обычно содержат длинные последовательности нуклеотидов, называемые интронами, некодирующие аминокислоты в полипептиде. Интроны удаляются из первичного транскрипта гена, затем к ним присоединяется 5' кэп и 3' поли (А)-хвост, прежде чем начинается синтез полипептида, т.е. трансляция (рис. 152).

Факторы трансляции у бактерий

К факторам трансляции относятся белки, которые взаимодействуют с рибосомой на разных этапах трансляции.

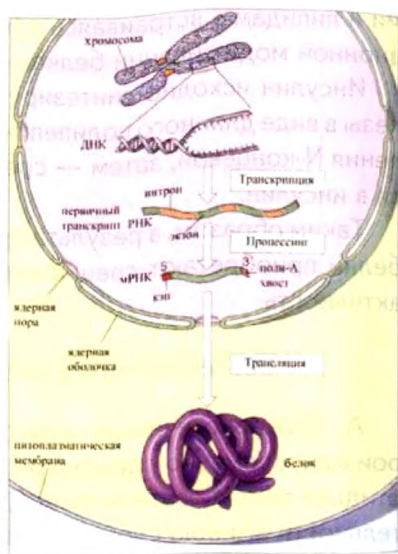
Различают факторы инициации трансляции, их три: IF-1, IF-2, IF-3. Они способствуют объединению рибосомы и мРНК, а также отвечают за взаимодействие кодона АУГ на рибосоме со специальной иницирующей тРНК.

Элонгация также связана с тремя факторами: EF-Tu, EF-Ts, EF-G. Они обеспечивают связывание на рибосоме антикодонов, аминоацилированных тРНК с соответствующими кодонами мРНК и продвижение рибосомы вдоль матрицы — мРНК.

Факторы терминации — это специальные белки, их также три: RF-1, RF-2, RF-3, они специфичны для трех кодонов-терминаторов: УАА, УАГ, УГА, белки их опознают и с ними взаимодействуют. При этом RF-1 узнает УАА и УАГ, а RF-2 — УАА и УГА; RF-3 не имеет



А. Прокариотические гены



Б. Эукариотические гены

Рис. 152. Синтез белка у прокариот и эукариот

кодоновой специфичности и взаимодействует с RF-1 и RF-2, делая процесс терминации более эффективным и зависимым от энергии расщепления АТФ.

Аппарат трансляции у эукариот более сложный. Факторов трансляции у них значительно больше. Одних факторов инициации обнаружено более десятка.

Глава VIII

**РЕГУЛЯЦИЯ
ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ**

Регуляция экспрессии генов у прокариот

Изучение механизмов регуляции генов является одним из наиболее интенсивно развивающихся направлений современной генетики. Механизм регуляции экспрессии генов у прокариот рассматривается на уровне оперона (рис. 153, 154).

Оперон — это группа согласованных регулируемых структурных генов, кодирующих ферменты.

В состав оперона входят:

а) несколько структурных генов, кодирующих необходимые для клетки белки с ферментативными или структурными функциями. В группу структурных генов входят также гены, кодирующие рРНК и тРНК;

б) общая регуляторная область — промотор, оператор и терминатор транскрипции.

Ген-регулятор имеет собственный промотор и может находиться на некотором расстоянии от структурных генов и, таким образом, непосредственно не входит в организацию оперона. Ген-регулятор обеспечивает синтез особого белка-репрессора, функция которого — контроль за состоянием структурных генов. Регуляторные белки обладают очень сильным сродством к оператору, входящему в состав оперона, и легко связываются с ним.

Оператор — участок ДНК, примыкающий к структурным генам оперона и управляющей их функцией, т.е. «включает» или «выключает» их. Если оператор свободен, то транскрипция структурных генов разрешена, если он связывается с белком-репрессором, то работа этих генов прекращается.

Промотор — участок ДНК, который либо непосредственно примыкает к оператору, либо перекрывается с ним. Как правило, опе-

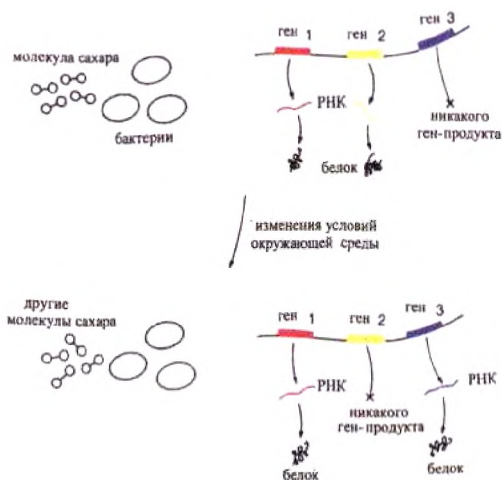


Рис. 153. Регуляция экспрессии генов у *E. coli*

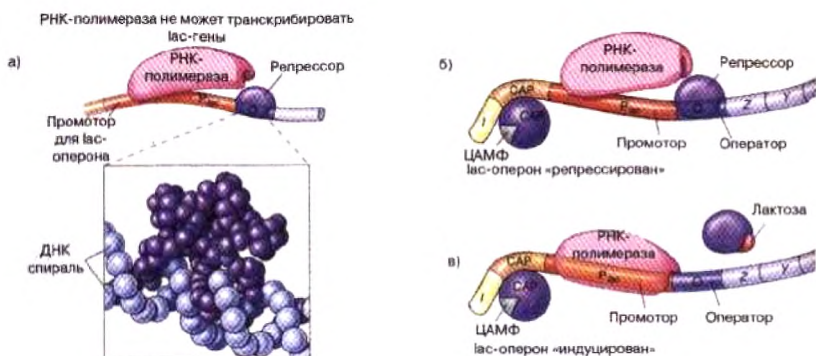


Рис. 154. Как работает *lac*-репрессор: а) *lac*-репрессор. Поскольку репрессор заполняет большую борозду ДНК-спирали, РНК-полимераза не может полностью прикрепиться к промотору и транскрипция заблокирована; б) *lac*-оперон репрессирован, когда репрессорный белок связан с операторным участком. Поскольку участки промотора и оперона перекрываются, РНК-полимераза и репрессор не могут связаться одновременно; в) *lac*-оперон транскрибируется (индуцируется), когда CAP (белок, активируемый ЦАМФ) связан и когда соединение лактозы с репрессором изменяет его форму так, что он более не может находиться на операторе и блокировать активность РНК-полимеразы

ратор располагается между промотором и сайтом, у которого начинается транскрипция.

В зависимости от взаимодействия оператора с белком-репрессором у бактерий различают позитивную или негативную регуляцию оперонов.

1. Негативно индуцибельный тип. Такие опероны подвержены отрицательному контролю. Они не транскрибируются тогда, когда оператор связан со специфическим репрессором. Полагают, что связывание репрессора приводит к физическому блокированию продвижения РНК-полимеразы от промотора к участку транскрипции. Индукция происходит, когда индуктор (например, лактоза) связывается с репрессором, изменяя его конформацию таким образом, что он больше не связывается с оператором; это инициирует транскрипцию. По данному типу осуществляется контроль лактозного оперона.

2. Позитивно индуцибельный тип. Положительно контролируемые индуцибельные опероны обычно не транскрибируются. Они становятся активными, когда коактиватор (небольшая молекула) связывается с регуляторным белком-апоиндуктором. Приобретая соответствующую конфигурацию, апоиндуктор взаимодействует с ДНК и РНК-полимеразой, способствуя инициации транскрипции. По данному типу функционирует катаболическая репрессия.

3. Негативно репрессибельный тип. Отрицательно контролируемые репрессибельные опероны обычно транскрибируются, однако если корепрессор (небольшая молекула) связывается с апорепрессором (активный репрессор), то этот комплекс затем прикрепляется к оперону, приводя к ингибированию транскрипции. По этому типу работает триптофановый оперон.

Лактозный (LAC) оперон

Организация генов лактозной системы обеспечивает утилизацию лактозы клетками *E. coli*. Это первый открытый Франсуа Жакобом и Жаком Мано оперон.

Для утилизации лактозы клетке необходимы продукты трех тесно сцепленных структурных генов. Это ген *lac Z*, кодирующий β -галактозидазу, и ген *lac Y*, кодирующий пермеазу, которая обеспечивает активный транспорт лактозы в клетку. Третий ген, *lac A*, кодирующий фермент трансацетилазу, регулируется координи-

рованно с генами *lac Z* и *lac Y*, но не имеет непосредственного отношения к утилизации лактозы. Эти гены картируются в последовательности $Z - Y - A$.

Синхронная индукция всех трех белков реализуется через синтез одной общей полицистронной мРНК. Транскрипция генов *Z*, *Y* и *A* находится под контролем регуляторного участка ДНК, названного оператором (O). Регуляция транскрипции на операторном участке осуществляется репрессором, продуктом гена-регулятора. Репрессор имеет две функции. Одна из них — это связывание с оператором, подавляющая транскрипцию. Другая — связывание с индуктором. Гены *Z*, *Y* и *A* вместе с промоторным и операторным участками, контролирующими их транскрипцию, образуют так называемый оперон (рис. 155—158).

Весь процесс регуляции лактозного оперона можно подразделить на две фазы:

1) инактивация. Регуляторный ген *lac I* образует независимую единицу транскрипции и находится левее от *lac*-оперона. Он транскрибируется со своего собственного промотора в моноцистронную РНК, которая кодирует белок-репрессор. Далее происходит взаимодействие между лактозным репрессором и оператором. В основе механизма репрессии лежит перекрывание регуляторным белком определенной нуклеотидной последовательности в операторно-промоторной области, которая должна узнаваться РНК-полимеразой. В результате РНК-полимераза не связывается с промотором и транскрипция отсутствует;

2) индукция. Присоединение молекулы индуктора к активному участку молекулы репрессора изменяет третичную структуру репрессора так, что он не может связаться с оператором и репрессировать его. Оператор оказывается в «активном» состоянии и включает структурные гены. Отсутствие блокады оператора позволяет РНК-полимеразе связаться с промотором. Закрепившись, РНК-полимераза может начать транскрипцию структурных генов оперона.

В качестве индуктора *lac*-оперона выступает не лактоза, а изомерный ей сахар — аллолактоза. Ее синтез из лактозы ускоряется при действии первого, кодируемого опероном, фермента — *v*-галактозидазы.

Активный *lac*-репрессор представляет собой тетрамер, построенный из четырех идентичных полипептидных цепей, кодируемых геном *lac I*. Каждая цепь содержит 360 аминокислотных остатков.

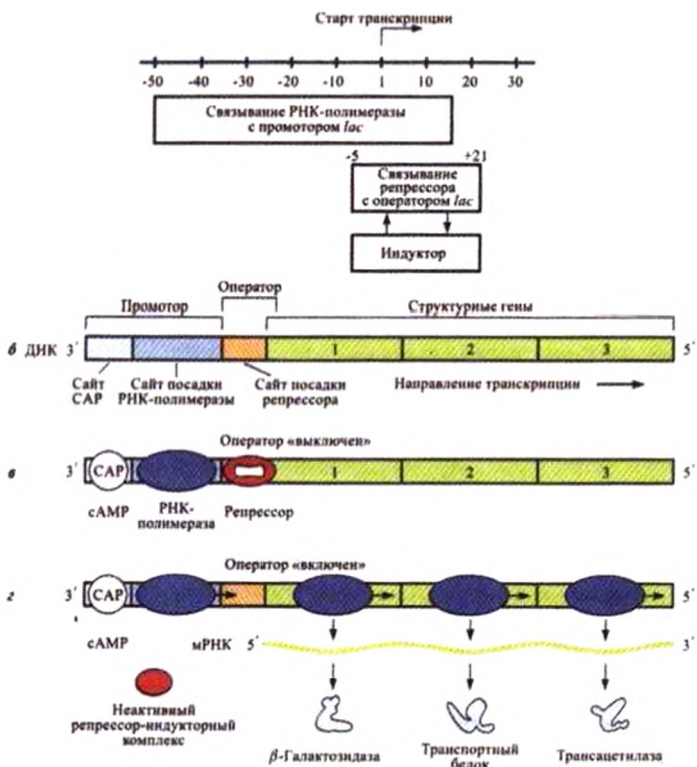


Рис. 155. Функционирование лактозного оперона у *E. coli*:

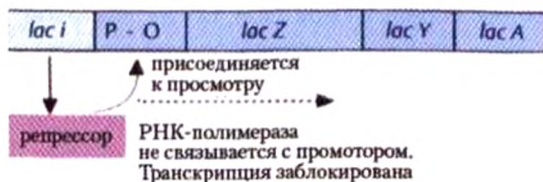
a — локализация сайтов связывания молекул РНК-полимеразы и репрессора в регуляторной области гена *lacZ* [Lewin, 1994. P. 417]; *б* — структура лактозного оперона (как и у всех генов, регулируемых CAP и сAMP, промотор содержит два района: участок связывания с РНК-полимеразой и участок связывания с комплексом CAP-сAMP); *в* — негативная, γ -позитивная реакция *lac*-оперона [*б* — *г* — Curtis, Barnes, 1989. P. 325].

В отсутствие лактозы репрессор (продукт гена *lacI*) связывается с оператором. Хотя РНК-полимераза может связываться с промотором, она не перемещается далее репрессора. Оператор выключен, гены не работают. В присутствии лактозы репрессор инактивируется и более не связывается с оператором. Молекулы РНК-полимеразы перемещаются, и начинается транскрипция.

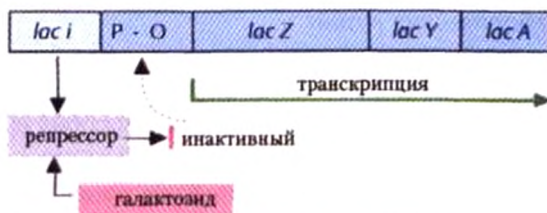
Реализация двух аспектов функционирования репрессора — связывание с ДНК и связывание с индуктором — определяется двумя различными участками структуры цепи. В связывании тетрамерно-



Рис. 156. Лактозный оперон у *E. coli*



1. Инактивация гена репрессором



2. Инактивация путем связывания с репрессором

Рис. 157. Контроль *lac*-оперона

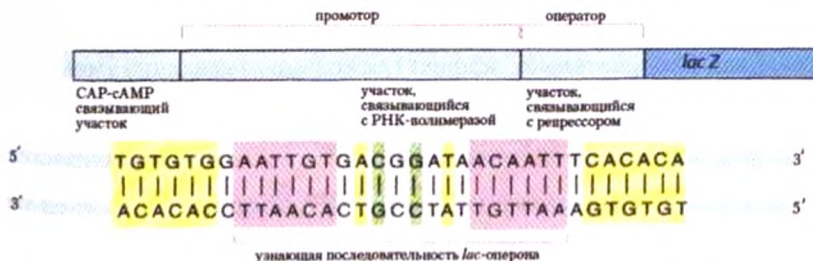


Рис. 158. Последовательность нуклеотидов в промоторе *lac*-оперона

го репрессора с ДНК основную роль играет N-концевая последовательность, содержащая около 50 аминокислотных остатков.

Катаболитная репрессия

Лактозный оперон может находиться также под контролем белка — позитивного регулятора, вовлеченного одновременно в регуляцию целого ряда различных катаболитных систем *E. coli*. Так, при наличии глюкозы в среде наблюдается более предпочтительное ее использование по сравнению с другими сахарами. Если поместить клетки *E. coli* как в среду с глюкозой, так и с лактозой, то они начинают сбрасывать глюкозу, а использование лактозы у них репрессируется. Последнее достигается предотвращением экспрессии генов лактозного оперона. Такой эффект получил название «катаболитная репрессия». Подобный эффект обнаружен при изучении и других оперонов, в том числе галактозного и арабинозного. Следовательно, катаболитная репрессия представляет собой общую координирующую систему, которая создает преимущество глюкозе путем подавления оперонов, кодирующих ферменты альтернативных метаболических путей.

В основе катаболитной репрессии лежит способность глюкозы уменьшать содержание циклического АМФ (цАМФ) в клетке.

РНК-полимераза лактозного оперона не способна инициировать транскрипцию в отсутствие вспомогательных регуляторных белков, получивших название «активатора катаболических генов» (CAP — catabolite activator protein), а те, в свою очередь, не активны без цАМФ. Поэтому белок CAP активен только в присутствии цАМФ, который ведет себя как классический низкомолекулярный индуктор.

При уменьшении содержания цАМФ белок CAP оказывается неспособным связываться с контролирующей ДНК областью, что, в свою очередь, препятствует РНК-полимеразе инициировать транскрипцию. Следовательно, эффект глюкозы, вызывающий уменьшение содержания цАМФ, ведет к лишению соответствующих оперонов контролирующего фактора, необходимого для их выражения.

Триптофановый (TRP) оперон

Опероны содержат структурные гены, которые кодируют ферменты, необходимые для синтеза аминокислот. Гены этих фермен-

тов подавлены либо самими аминокислотами, либо легко образующимися производными аминокислот, так что расточительный энергетический синтез этих соединений прекращается, если есть достаточное их количество.

Пять структурных генов триптофанового оперона расположены рядом друг с другом и кодируют три фермента, превращающие хоризмовую кислоту в триптофан. Контроль генов осуществляется с помощью позитивной регуляции, основанной на антитерминации (рис. 159). В условиях, когда снабжение триптофаном оказывается достаточным, оперон репрессируется, так как комплекс репрессивный белок — корепрессор (триптофан) связывается с оператором. С другой стороны, при недостатке триптофана происходит его диссоциация из комплекса с репрессором, после чего и сам репрессор отделяется от операторной последовательности; начинается транскрипция триптофанового оперона. В этом случае говорят, что триптофан выступает в роли корепрессора *trp*-оперона.

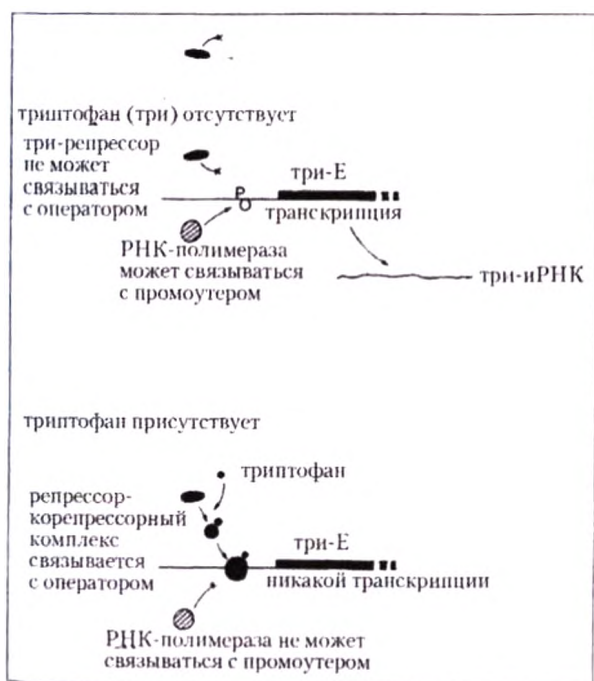


Рис. 159. Триптофановый оперон

Помимо комплекса промотор—оператор в регуляции триптофанового оперона участвует еще и другой сайт, он получил название аттенуатора. Сайт локализован между оператором и кодирующей областью *trpE*. Аттенуатор служит барьером для транскрипции. Когда в присутствии триптофана оперон репрессируется, то та часть молекул РНК-полимеразы, которая уже переместилась из промотора, заканчивает транскрипцию в аттенуаторе. Остановка РНК-полимеразы в этом сайте происходит в результате формирования здесь «терминаторного стебля и петли».

До недавнего времени опероны рассматривали в качестве характерной особенности прокариот. Оказалось, что и эукариотические гены могут быть организованы в опероны. Они, в частности, обнаружены у трипаносом, нематод, мух, млекопитающих и растений. У нематоды *Caenorhabditis elegans* опероны могут содержать до восьми генов.

Регуляция экспрессии генов у эукариот

Регуляция экспрессии генов у эукариот является более сложным, чем у прокариот. У эукариот нет оперонов, и каждый ген представляет собой независимую транскрипционную единицу. Как было отмечено выше, промоторы эукариот отличаются по своей нуклеотидной последовательности от промоторов прокариот. Кроме того у эукариот есть такие регуляторные элементы, как энхансеры и сайленсеры. Особенность регуляции эукариот также состоит в том, что их гены находятся в ядре и, прежде чем сигналы из окружающей среды смогут дать какой-либо эффект на уровне транскрипции, они должны быть переданы с поверхности клетки через цитоплазму и ядерную пору на хромосомы. Эукариотическим клеткам, следовательно, необходимо выработать внутренние сигнальные системы для контроля транскрипции ДНК. Другой усложняющий фактор состоит в том, что многие эукариоты являются многоклеточными. Межклеточные взаимоотношения, следовательно, являются важным аспектом регуляции транскрипции у эукариот.

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 на-

зывают транскрипционными факторами. Было выделено несколько типов факторов, и большинство, по-видимому, имеют характерные домены (области), которые позволяют им связываться с ДНК.

***Индукция транскрипционной активности
(экспрессия генов) с помощью факторов окружающей
среды и биологических факторов
(факторов внутренней среды)***

Наиболее характерными примерами индуцируемой экспрессии генов у эукариот являются три примера: первые два включают индукцию с помощью факторов внешней среды — температуры и света, третий пример — это индукция с помощью специальной группы сигнальных молекул, называемых гормонами.

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 рецепторами клеток, и затем инициируют серию событий, которые регулируют экспрессию определенных тканеспецифических генов. В эмбриональный период развития особей гормоны являются одним из факторов дифференцировки клеток. У животных существуют два общих класса гормонов. Первый класс — стероидные гормоны (рис. 160), которые являются небольшими жирорастворимыми молекулами, образуемыми из холестерина. Благодаря своей липидной природе у них нет сложности при прохождении через клеточные мембраны. Например, эстроген и прогестерон, которые играют важную роль в репродуктивном цикле у женщин, тестостерон — гормон, определяющий дифференцировку по мужскому типу, глюкокортикоиды, которые вовлечены в регуляцию уровня сахара в крови. Когда эти гормоны проникают в клетку, они взаимодействуют со специфическими белками цитоплазмы, которые служат рецепторами для гормонов, называемыми «гормональные рецепторы». Образуется комплекс рецептор/гормон, который затем входит в ядро, где действует как транскрипционный фактор, регулирует экспрессию определенных генов (рис. 164).

Второй класс — пептидные гормоны, которые являются линейными цепочками из остатков аминокислот. Подобно другим полипептидам, эти молекулы закодированы в генах. Например, инсулин, кото-

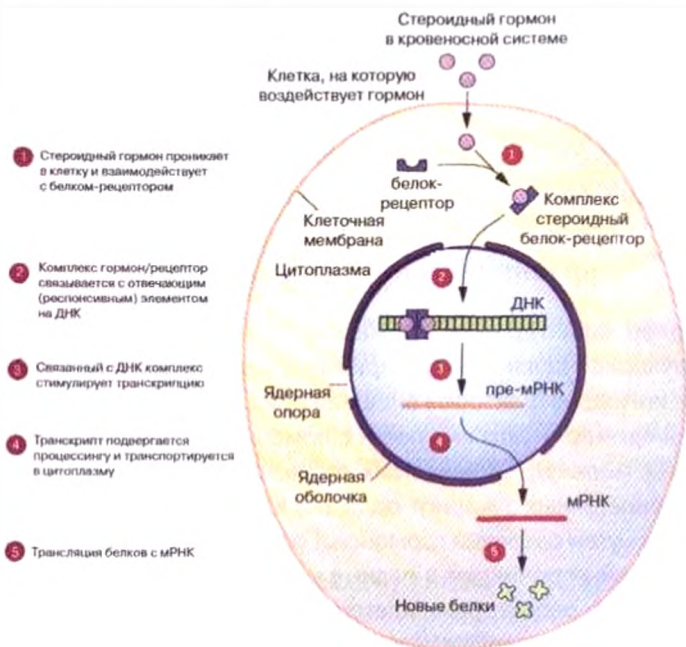


Рис. 160. Регуляция экспрессии генов с помощью стероидных гормонов. Гормоны взаимодействуют с рецепторами внутри клетки, и образующийся комплекс направляется в ядро, где он активирует транскрипцию определенных генов

рый регулирует уровень сахара в крови, соматотропин — гормон роста, пролактин, действующий на ткани молочных желез млекопитающих. Поскольку пептидные гормоны обычно являются слишком большими, чтобы свободно проходить через клеточные мембраны, сигналы, которые они несут, должны быть переданы внутрь клеток с помощью рецепторных белков, связанных с мембраной (рис. 161).

Когда пептидный гормон взаимодействует со своим рецептором, он вызывает конформационные изменения в рецепторе, которые приводят к изменению в других белках внутри клетки. Через каскад таких изменений гормональный сигнал передается через цитоплазму клетки в ядро, где он действует на регуляцию экспрессии специфических генов. Этот процесс передачи гормонального сигнала через клетку в ядро называется трансдукцией сигнала (передачей сигнала).



Рис. 161. Регуляция экспрессии генов с помощью пептидных гормонов. Гормон взаимодействует с рецептором в мембране клетки, образующийся гормон-рецепторный комплекс активирует цитоплазматический белок, который переключает каскад внутриклеточных изменений. Эти изменения передают сигнал в ядро, где транскрипционный фактор стимулирует контроль экспрессии определенных генов

Гормон-индуцируемая экспрессия генов опосредуется специфическими последовательностями в ДНК. Эти последовательности называются гормональными респонсивными (отвечающими) элементами (hormone response elements (HRE)). Они расположены вблизи генов, которые ими регулируются, и служат для связывания специфических белков, которые действуют как транскрипционные факторы. Со стероидными гормонами, такими как эстроген, HRE-элементы связываются путем гормоно-рецепторного комплекса, который затем стимулирует транскрипцию. Сила этого транскрипционного ответа зависит от числа присутствующих HRE-элементов. Когда имеется много таких элементов, гормоно-рецепторные комплексы связываются одновременно с каждым (друг с другом?), значительно увеличивая уровень транскрипции. Таким образом, ген с

двумя респонсивными элементами транскрибируется более чем в два раза интенсивнее, чем ген с одним HRE-элементом. Рецептор, связывающийся с рецепторными гормонами, обычно остается в клеточной мембране даже после того, как он образовал комплекс с гормоном. Гормональный сигнал, следовательно, переносится в ядро другими белками, некоторые из которых связываются с последовательностями вблизи генов, которые регулируются этим гормоном. Эти белки затем действуют как транскрипционные факторы, контролируя экспрессию генов. Транскрипционная активность может быть индуцирована другими видами белков, которые не являются гормонами в классическом понимании, т.е. не продуцируются специальной железой или органом. Эти белки включают множество секретируемых, циркулирующих в крови молекул, таких как ростовой фактор нервных молекул, эпидермальный ростовой фактор и другие. Хотя каждый из таких белков имеет свои особенности, общий механизм, через который они индуцируют транскрипцию, напоминает механизм действия пептидных гормонов. Взаимодействие между сигнальным белком и мембрано-связанным рецептором инициирует цепь событий внутри клетки, которые непосредственно приводят к связыванию специфических факторов транскрипции с определенными генами, которые затем транскрибируются.

Типы регуляторных белков и особенности их структуры

Регуляторные белки распознают специфические последовательности ДНК в результате точного соответствия их поверхности двойной спирали ДНК. К ним относятся белки, связывающиеся с ДНК посредством «цинковых пальцев» (рис. 162, 163), белки типа «лейциновая молния» (рис. 164), белки типа «спираль — петля — спираль» (basic helix — loop — helix, BHLH).

Последовательность типа «цинковый палец» — это короткая пептидная петля, которая образуется, когда два цистеина в одной части полипептида и два гистидина в другой части близко связываются друг с другом, соединяясь через ион цинка (Zn^{2+}), образуя структурную последовательность, напоминающую палец.

Белок типа «цинковый палец»

Белок типа «цинковый палец» связывается с ДНК. Спираль каждого «цинкового пальца» может контактировать с большой бо-

Рис. 162. Транскрипционный фактор — белок типа «цинковый палец»

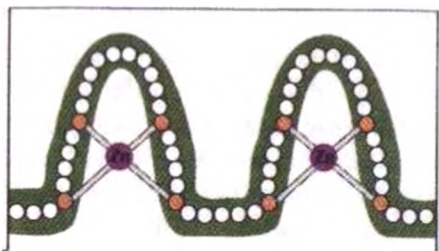


Рис. 163. Белок типа «цинковый палец» связывается с ДНК

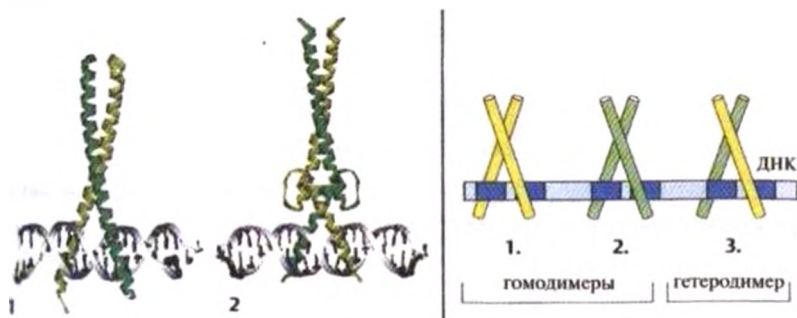


Рис. 164. Белки типа «лейциновые молнии» и типа «спираль — петля — спираль» (*Helix — loop — Helix BHLH*)

роздой спирали ДНК и устанавливать специфическое и сильное взаимодействие над несколькими оборотами по длине.

Это приводит к изменению конформации молекулы ДНК и открывает доступ для РНК-полимераз. Белки типа «цинковый палец» играют важную роль в ходе эмбрионального развития и дифференцировки клеток.

Эта аминокислотная последовательность состоит из димера с периодическим повтором лейцина через каждые 7 аминокислот. Лейциновые остатки связаны вдоль на поверхности каждой X-спирали и взаимодействуют с ДНК в примыкающих больших бороздках, что также позволяет изменять конфигурацию ДНК и связаться РНК-полимеразам с ДНК.

Белки типа «спираль — петля — спираль»

Эта последовательность состоит из двух спиральных областей полипептида, разделенных неспиральной петлей.

Спиральные области обеспечивают димеризацию между двумя полипептидами. Иногда такая последовательность «спираль — петля — спираль» примыкает к участку из основных (положительных) аминокислот, так что, когда происходит димеризация, эти аминокислоты связываются с отрицательно заряженной ДНК и также способствуют транскрипции. Полипептиды могут формировать гомодимеры или гетеродимеры. Гомодимеры состоят из двух одинаковых полипептидов, гетеродимеры — из двух разных.

Уровни регуляции экспрессии генов у эукариот

Схематично генная экспрессия может регулироваться на четырех различных уровнях (рис. 165).



Рис. 165. Уровни регуляции экспрессии генов у эукариот

Первым и наиболее важным является первичный контроль инициации транскрипции. Следующий уровень — процессинг транскрипта в зрелую мРНК может регулироваться на уровне первичного транскрипта РНК. Различные формы мРНК обычно получаются из одного и того же гена путем альтернативного сплайсинга. Открытой формой контроля генной экспрессии является интерференция РНК. Контроль возможен на уровне трансляции путем редактирования мРНК. Наконец, на уровне белка его активность могут определять посттрансляционные модификации.

Редактирование РНК

Редактирование РНК модифицирует (изменяет) генетическую информацию на уровне РНК (рис. 166). Важным примером является ген аполипопротеина В, вовлеченный в липидный метаболизм. Этот ген кодирует белок весом 512 кД (килодальтон) и состоит из 4536 аминокислот.



Рис. 166. Редактирование мРНК аполипопротеина-В в клетках кишечника млекопитающих

кислот. Белок синтезируется в печени и выделяется в кровь, где переносит липиды. Другой белок А по В-48 (250 кД) — функционально родственная, более короткая форма этого белка, состоящая из 2152 аминокислот, синтезируется в кишечнике. Это происходит в результате того, что кишечная дезаминаза превращает цитозин в кодоне 2152 ЦАА (глутамин) в урацил (УАА). Это изменение приводит к образованию стоп-кодона УАА и впоследствии терминирует трансляцию в этом участке, образуя более короткую форму белка с другой функцией.

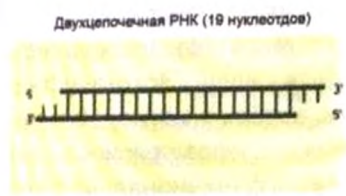
РНК-интерференция (РНК-и)

Нобелевская премия по медицине за 2006 год присуждена американским ученым Эндрю Файру и Крэйгу Мелло за открытие РНК-интерференции (РНК-и).

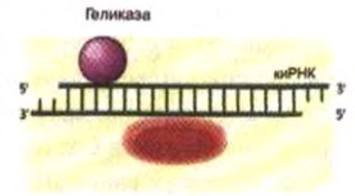
В 1997 г. в экспериментах на червях они открыли, что РНК может отключать гены, если РНК вводить короткими фрагментами, не одноцепочными, а двухцепочными. Такое явление получило термин «РНК-интерференция». Попадая в клетку, молекулы двухцепочной РНК дают сигнал работе ряду ферментов, которые разрезают РНК на отдельные фрагменты и удаляют из матричной РНК подлежащие ликвидации участки (рис. 167). Таким образом, содержащаяся в этих участках информации не передается рибосомам. РНК-интерференция может разрушать генетический материал попадающих в клетку вирусов, уничтожает подвижные элементы ее генома и, наконец, участвует в регуляции экспрессии функциональных генов, т.е. блокируют их работу.

В настоящее время проводятся эксперименты по лечению молекулярной дегенерации сетчатки глаза с помощью РНК-интерференции. Фрагменты РНК вводятся в глаз больному, которые заглушают ген, обуславливающий аномальное разрастание капилляров сетчатки, вызывающих гибель светочувствительных нервных клеток. РНК-интерференция (РНК-и) является недавно обнаруженным биологическим явлением. Интерферирующая РНК представляет собой короткие двуспиральные молекулы РНК, состоящие из 21—23 пар оснований с высокой специфичностью к нуклеотидной последовательности соответствующей молекулы мРНК.

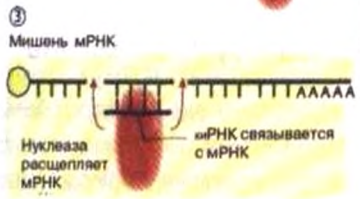
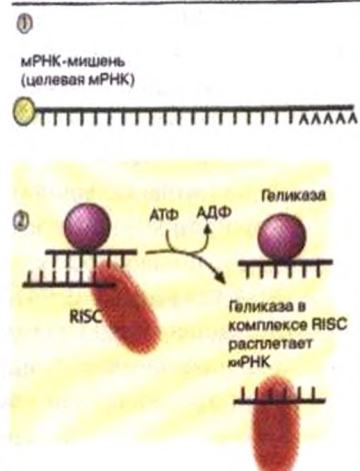
Короткая интерферирующая (киРНК) в типичном случае состоит из 19 нуклеотидов двухцепочной РНК с двумя нуклеотидами, свисающими с обоих концов.



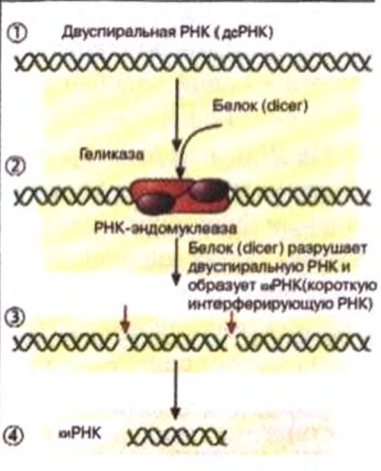
А. Короткая интерферирующая РНК (мРНК)



В. Индуцированный РНК-комплекс (RISC)



В. Посттранскрипционная регуляция гена (PTGS)



Г. Деградация двухспиральной РНК (дсРНК)

Рис. 167. РНК-интерференция

Метилирование ДНК

Метилирование ДНК — это добавление метильных групп к специфическим участкам на ДНК, обычно к цитозину. Почти 10% цитозина

у высших организмов метилируется, он присутствует в Ц- и Г-парах. Он обнаруживается в 5'-концах многих генов. Метилирование ДНК является функционально важной модификацией. Эти модификации являются наследуемыми изменениями, которые влияют на экспрессию определенных генов без изменения последовательности ДНК.

Образец метилирования ДНК является функционально важным, поскольку измененное метилирование ДНК может приводить к нарушениям развития и болезням. Клетки млекопитающих содержат ферменты, которые поддерживают метилирование ДНК и устанавливают его в новой цепочке ДНК после репликации. Существуют ДНК-метил-трансферазы (ДНМТ) и метил-цитозин, связывающие белки (MeCPs), взаимодействующие с участками ДНК, богатыми ЦГ-нуклеотидами. Два типа метил-трансфераз можно выделить по их основным функциям: поддержание метилирования и метилирование вновь образующейся цепочки ДНК.

С нарушением метилирования у человека связан ген ДНМТ3В.

Мутации в гене человека ДНМТ3В, кодирующем метил-трансферазу, вызывают определенное заболевание, называемое «синдром ICF» (иммунодефицитность, центромерная хромосомная нестабильность).

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 из молекул ДНК перемещаются, делая гены доступными для транскрипции. Необходимая энергия обеспечивается путем гидролиза АТФ в больших ремоделирующих комплексах, которые могут быть классифицированы в соответствии с их АТФ-азными субъединицами.

Модификация гистонов

Ключевым событием в ремоделировании хроматина является модификация гистонов H3 и H4 в коре. Метилирование (добавление СН₃-группы), ацетилирование (добавление ацетильных групп) и фосфори-

лирование (добавление фосфатных групп) являются типами модификации, которым подвергаются гистоны H3 и H4 по определенным аминокислотам в N-концевых участках (хвостах). Свойства гистонов изменяются. Модификации опосредуются метилазами и деметилазами, ацетилазами и деацетилазами, а также киназами фосфорилирования.

Активный хроматин ацетилируется по остатку лизина и метилируется в цитозиновых участках ЦГ. Таким образом, множественные модификации могут происходить и влиять друг на друга.

Ремоделирование хроматина

Активаторные белки могут изменять состояния «выключенности» гена в гетерохроматине. Существуют специфические ДНК-связывающие контролирующие элементы в хроматине, способные взаимодействовать с белковыми комплексами. Активаторные белки связываются с белком-посредником. В результате хроматин становится деконденсированным, и ген переходит во «включенное» состояние. Общие факторы транскрипции и РНК-полимераза собираются у промотора и иницируют транскрипцию. Когда репрессорные белки связываются с контролируемыми элементами, этот процесс обращается и инициация транскрипции с помощью РНК-полимеразы прекращается. Образование гетерохроматина начинается со связывания гетерохроматинового белка 1 (HP1) с метилированным гистоном 3. ДНК-связывающий белок RAP1 подбирает другие белки (SIR3/SIR4) в виде комплексов. Они связываются с H3/H4 и полимеризуются в хроматин.

В результате мутации гена MECP2, расположенного на X-хромосоме, нарушается состояние гетерохроматина и возникает синдром Ретта.

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, т.е. имеет ли он материнское или отцовское происхождение (родительско-специфическая экспрессия). Это называется *геномный импринтинг*. Геномный импринтинг является важным изменением в клетках млекопитающих. Естественный отбор действует по-разному на геномы материнского и отцовского происхождения.

Невозможность установить нормальный импринтинг из-за генной перестройки приводит к появлению важной гетерогенной группы болезней импринтинга.

Болезни импринтинга вызываются различными механизмами, поражающими один или более активных генов, нормально экспрессируемых только в одном родительском аллеле в импринтированной области. Наиболее известными являются синдром Прадера—Вилли, синдром Ангельмана и синдром Беквитта—Видемана, гены которых расположены на 15-й хромосоме (рис. 168).

Синдромы Прадера—Вилли и Ангельмана являются неврогенными нарушениями развития, возникающими в результате различных генетических повреждений в импринтированной области хромосомы. Синдром Прадера—Вилли характеризуется неонатальной мышечной слабостью и нарушением питания, что приводит к обширному ожирению у многих пациентов. При синдроме Ангельмана замедления развития обычно тяжелые, с почти полной потерей речи, ненормальной электроэнцефалограммой и гиперактивностью.



Рис. 168. Болезни импринтинга

Глава IX

**ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ
НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ,
ИЛИ НЕХРОМОСОМНАЯ
НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ**

В конце 1990-х гг. К. Корренс отметил, что чередование белых и зеленых участков (пестролистность) у растения ночная красавица не подчиняется законам Менделя. Данный тип наследования был назван цитоплазматическим, а позже — нехромосомной наследственностью. В 1960-е гг. было установлено, что носителем цитоплазматической генетической информации является ДНК таких органелл клеток, как митохондрии и хлоропласты у эукариот и плазмиды у прокариот. Таким образом, стало ясно, что в клетках имеется не только хромосомная наследственность, но и цитоплазматическая. У прокариот и эукариот наряду с хромосомной и цитоплазматической наследственностью имеются факультативные наследственные элементы, которые меняют локализацию. У эукариот — это мобильные диспергированные гены (МДГ), транспозоны, вирусы. Факультативным элементом прокариот являются инсерции, транспозоны и бактериофаги.

Геном митохондрий

Митохондрии — это цитоплазматические органеллы эукариотических клеток, как животных, так и растений. Функция митохондрий как энергетической фабрики заключается в синтезе АТФ. В митохондриях происходит окисление пирувата и жирных кислот до CO_2 и H_2O , образуется 36 молекул АТФ, а не две, как при гликолизе глюкозы. ДНК митохондрий имеет кольцевую форму, хотя некоторые виды хламидомонады имеют линейную форму мтДНК. Размеры мтДНК растений состоят из сотен и тысяч п.н., включают различные некодирующие последовательности, длинные повторы. Митохондриальный геном растений невелик, он кодирует рРНК,

тРНК, рибосомные белки. Большая же часть рибосомальных белков и белков, участвующих в процессе окислительного фосфорилирования митохондрий, кодируются ядерными генами. Синтезируемые белки в цитоплазме для митохондрий связываются с определенными классами белков, называемыми шаперонами. Белки шапероны способствуют переносу полипептида в митохондриальное пространство.

У животных и человека в ДНК митохондрий отсутствуют интроны, а количество молекул ДНК — от 2 до 50. Геном митохондрий человека представлен кольцевой двухцепочечной молекулой ДНК, содержащей 16 559 п.н. (рис. 169, 170). Общее количество ДНК митохондрий от всего генома человека составляет 5%. В состав генома митохондрий входят гены рибосомных 12S-рРНК и 16S-рРНК, 22 гена тРНК, гены трех субъединиц цитохрома-с-оксидазы, шестой и восьмой субъединицы АТФазы, ген цитохрома b, гены семи субъединиц NADH-дигидрогеназы.

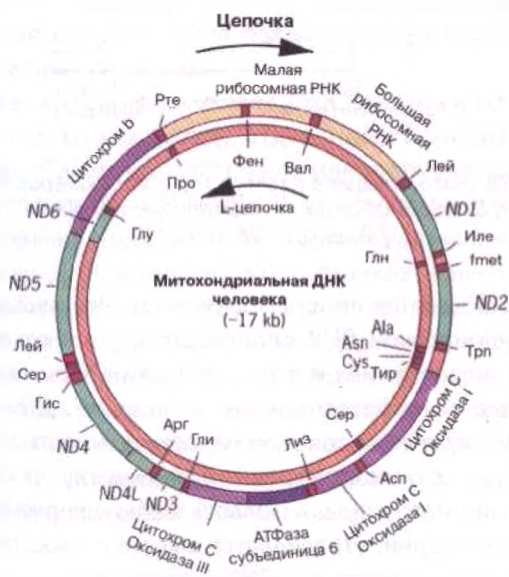


Рис. 169. Карта МТ ДНК человека, показывающая направление транскрипции. Гены на внутреннем круге транскрибируются с L-цепи ДНК, гены на наружном круге транскрибируются с H-цепи ДНК. ND1-5 гены кодируют субъединицу фермента NADH-редуктазы, гены тРНК указаны с помощью сокращенных названий соответствующих аминокислот



Рис. 170. Локализация в клетке (а) и характеристика (б) ядерной и цитоплазматической ДНК [Russell, 1998. P. 681]

Митохондрии делятся простым делением. Репликация двух цепочек митохондриальной ДНК происходит от своих точек инициации в разных направлениях и в разное время. При транскрипции мтДНК человека образуется единый транскрипт. ДНК митохондрий является материнской основой наследственности. Это связано с тем, что в процессе оплодотворения в яйцеклетку проникает только одно ядро сперматозоида, а область шейки сперматозоида, где находятся митохондрии, утрачивается вместе с хвостовой частью. Поэтому генетический материал ДНК митохондрий наследуется по материнской линии. Отсюда понятен неменделевский характер наследования. Митохондриальная ДНК может так же мутировать, как хромосомная ДНК ядра. При возникновении мутации мтДНК в клетках наблюдается гетероплазмия — присутствие различных мтДНК.

При гомоплазмии все мтДНК в клетке одинаковые. Мутации в мтДНК человека нарушают свойства белков, входящих в комплексы дыхательной цепи митохондрий, ведут к нарушению энергетического обеспечения клеток и, соответственно, к заболеванию тех тканей и органов, где произошел сбой энергетических процессов. У человека с годами накапливаются мутации, что и приводит к снижению энергии, которая вырабатывается в клетках сердца, мозга и других органах, поэтому с возрастом человек становится менее активным. Многие исследователи считают, что мутации в митохондриальной ДНК являются причиной более 100 болезней, таких как диабет, эпилепсия, кислотный ацидоз, болезнь Паркинсона, энцефаломиопатия и др., и передаются от матери к детям. Таким образом, все потомки женщин, имеющих мутации митохондрий, могут их наследовать. Еще одна особенность мтДНК состоит в том, что она консервативна, так как при отсутствии отцовских митохондрий невозможен кроссинговер между родительскими молекулами мтДНК и образованием новых комбинаций митохондриальных генов. Митохондриальная ДНК способна сохраняться на протяжении многих лет в ископаемых останках.

Сравнивая митохондриальную ДНК предков и потомков, можно доказать родство как между отдельными особями, так и между популяциями. Таким образом была идентифицирована семья последнего русского царя Николая II по ископаемым костным останкам на основании анализа именно митохондриальной ДНК. Митохондриальную ДНК, выделенную из останков жены Николая II и трех ее дочерей, сравнили с митохондриальной ДНК из клеток крови здорового принца Филиппа, герцога Эдинбургского. Такая идентификация связана с тем, что перечисленные лица являются родственниками по материнской линии. Они — потомки принцессы Алисы, дочери английской королевы Виктории. Сегодня такие ДНК-индивидуализация и ДНК-диагностика проводятся во многих странах мира, в том числе и в России.

Происхождение митохондрий

Большинство ученых поддерживают гипотезу о прокариотическом происхождении митохондрий у эукариот. На это указывают прокариотические черты, которые наблюдаются у митохондрий.

У митохондрий нет ядра, ограниченного ядерной оболочкой, ДНК имеет кольцевую форму, геном митохондрий небольшой, как и у прокариот, митохондриальные гены человека не имеют интронов. Выявлены также отличия генетического кода мтДНК от ядерной ДНК. В митохондриальном коде кодон АУА кодирует метионин, а не изолейцин, ядерный стоп-кодон УГА кодирует триптофан, а триплеты АГА и АГГ, кодирующие аргинин в ядерной ДНК, являются терминирующими.

Рибосомы в митохондриях человека — 55S; большая субъединица имеет константу 39S, малая — 28S, тогда как у эукариот константы: 80S, 60S и 40S.

С другой стороны, у митохондрий эукариотических организмов, особенно у дрожжей и растений, есть и эукариотические черты.

Геном хлоропластов, в которых происходит фотосинтез

Хлоропласты — цитоплазматические органеллы растений и водорослей. Хлоропласт имеет собственную ДНК, т.е. собственный геном. ДНК хлоропластов представляет собой замкнутую двуспиральную молекулу. Размеры хлоропластной ДНК (хлДНК) у разных видов растений различны и составляют от 130 до 160 тысяч п.н. Зеленые растения содержат в хлоропластной ДНК около 130 генов. В хлоропластной ДНК содержится по два гена четырех типов (4,5S; 5S; 16S и 23S) рибосомальных РНК (рРНК), гены всех транспортных РНК (тРНК), гены рибосомальных белков, ген субъединиц РНК-полимеразы — фермента, осуществляющего синтез РНК на хлДНК, часть генов, кодирующих белковые компоненты фотосистемы I и II, гены белков электронно-транспортной системы. Однако без участия ядерных генов невозможны синтез белков на рибосомах хлоропластов и осуществление основной функции хлоропластов — фотосинтеза.

Различные элементы белок-синтезирующей системы хлоропластов контролируются либо собственными генами (гены: тРНК, рРНК, фактор IF1, субъединицы никотинамидадениндинуклеотид (NADH-дегидрогеназы), либо ядерными генами (факторы элонгации и терминации трансляции, большинство рибосомных белков), либо находятся под двойным контролем (белковые компоненты фотосистем и белки электронно-транспортной системы). Для каж-

дого вида растений характерно определенное число хлоропластов в клетке, число которых варьируется у различных видов от нескольких единиц до величин, превышающих сотню. Деление хлоропластов контролируется ядром и, соответственно, их число тоже. В хлоропластной ДНК одноклеточной водоросли *Chlamydomonas reinhardii* имеются гены устойчивости к различным антибиотикам: стрептомицину, эритромицину, олеаномицину, неомицину. Мутации устойчивости к антибиотикам наследуются, как правило, по материнской линии, поскольку в зиготе присутствует только материнская хлоропластная ДНК. Хлоропласт, который обладает собственной ДНК, собственным аппаратом синтеза РНК и белка и способен к делению, тем не менее «полуавтономен» в растительной клетке, так как его рост, деление, развитие тилакоидной системы и формирование ферментативных комплексов темновых реакций фотосинтеза находятся под контролем не только собственного, но и ядерного генома. Транспорт белков из цитоплазмы в хлоропласт происходит очень активно, при этом одни белки, синтезируемые в цитоплазме для хлоропластов, встраиваются в мембраны хлоропластной оболочки, другие направляются в строму, третьи встраиваются в тилакоидные мембраны. Исследование пестролистности у растений на молекулярном уровне показало, что биосинтез хлорофилла, от которого зависит окраска листа, контролируется главным образом ядерными генами. Однако часть генов, контролирующая окраску листьев, находится в пластидной ДНК. Как известно, окраска хлоропластов зависит от различных форм хлорофилла, отличающихся по спектру поглощения.

При возникновении мутаций, нарушающих биосинтез хлорофилла, в хлоропластах не образуется пигмент. В случае пестролистности материнского растения в яйцеклетке присутствуют пластиды двух типов: нормальные и мутантные, у мутантных пластид зеленого хлорофилла нет. При дроблении зиготы пластиды случайно распределяются по дочерним клеткам, в результате у нового поколения листья могут быть зелеными.

Хлоропласты развиваются из пропластид. Это маленькая бесцветная органелла не имеет внутренней мембранной системы, окружена двойной мембраной и содержит кольцевую молекулу ДНК. В ходе развития хлоропласта из пропластиды внутренняя мембрана ее оболочки образует впячивания внутри пластид. Из них разви-

ваются мембраны тилакоидов, которые образуют стенки — грани, ламеллы и стромы.

Сегодня большинство исследователей считают, что хлоропласты произошли от прокариотических предков — цианобактерий (сине-зеленых водорослей). Предполагают, что несколько миллиардов лет назад фотосинтезирующие цианобактерии проникли в эукариотические клетки, в ходе эволюции потеряли свою автономность, передав большое число важнейших генов в ядерный геном растений. Ядерные гены и определяют, по какому пути будет развиваться пропластида: превратится в фотосинтезирующий хлоропласт, станет хромопластом, накапливающим пигменты — каротиноиды, или станет амилопластом, запасующим крахмал.

Таким образом, генетическая система эукариот состоит из двух подсистем: ядерная (хромосомная генетическая система) и митохондриальная (цитоплазматическая, генетическая система).

Главную роль в клетках эукариот играет ядро, или хромосомная генетическая система, которая имеет значительно больше генов, и они играют важнейшую роль в функционировании клетки и организма. Однако без митохондриальной и хлоропластной ДНК, которые принимают участие наряду с ядерными генами в кодировании белков и ферментов, обеспечивающих получение энергетической молекулы АТФ, биохимическая фабрика клетки функционировать не может.

Бактериальные плазмиды

Изучение устойчивости штаммов патогенных бактерий к антибиотикам показало, что она является стабильным генетическим признаком, который передается при контакте бактерий друг с другом. Это связано с генетическими элементами бактериальной клетки — плазмидами. Плазмиды — это двухцепочечные кольцевые ДНК (рис. 171), которые располагаются в бактериях автономно от хромосомной ДНК. Именно в плазмидах в нехромосомных элементах находятся гены, которые обуславливают устойчивость бактерий к некоторым антибиотикам. Каждая плаزمида сама контролирует собственную репликацию, используя при этом репликативный аппарат клетки-хозяина. С помощью конъюгации плазмиды передают гены, которые получили название факторов резистентности, или

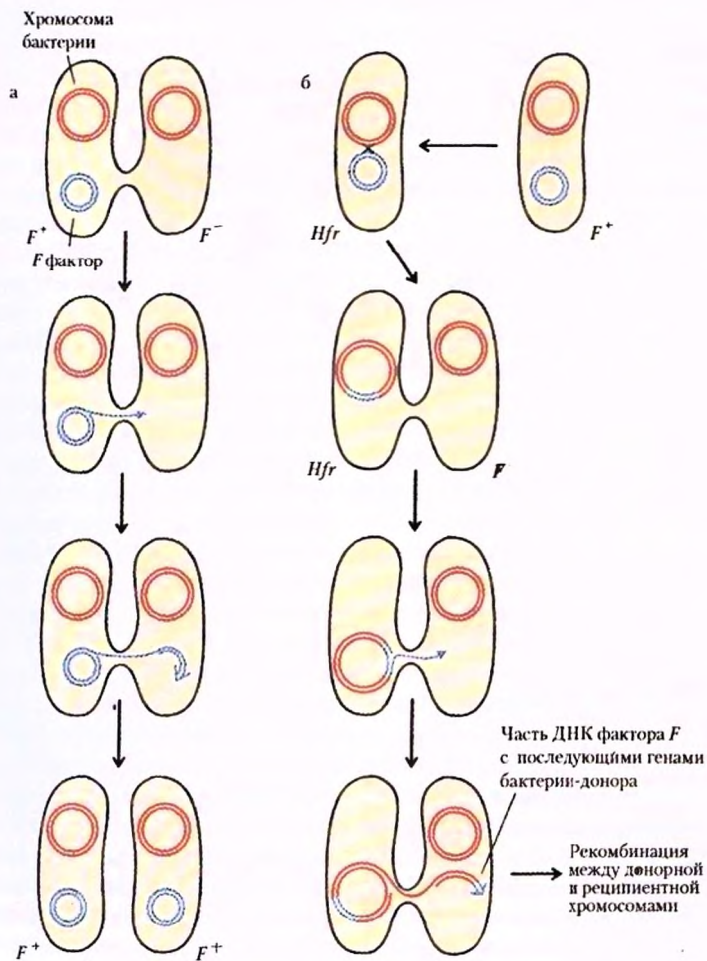


Рис. 171. Передача генетического материала в результате конъюгации у *E. coli* [Russel, 1998. P. 232]:

а — передача F-фактора от донора к реципиенту и скрещивание $F^+ \times F^-$; б — образование линий Hfr в результате интеграции F-фактора и передачи бактериальных генов от донорных к реципиентным клеткам в ходе скрещивания $F \times Hfr$

R-факторов. Плазмиды способны встраиваться в хромосомную ДНК бактерии. Они создают устойчивые штаммы бактерий к антибиотикам. В плаزمиде имеется также фактор фертильности, или *F*-фактор. Фактор *F* облегчает конъюгацию и перенос хромосом. Часто одна плазмида обеспечивает устойчивость к нескольким антибиотикам. Плазмиды, выделенные из бактерий в разных частях нашей планеты, несут одни и те же гены резистентности к антибиотикам (рис. 171).

Этапы развития представления о гене

Мендель фактически постулировал существование генов, хотя сам термин «ген» был введен в науку В. Иогансенем в 1909 г. Согласно его определению, «свойства организма обуславливаются особыми, при известных обстоятельствах отделенными друг от друга и в силу этого до известной степени самостоятельными единицами, или элементами, которые мы называем генами».

Мендель предполагал, что наследственность дискретна и клетка содержит два аллеля гена. При половом размножении аллели разделяются так, что в каждую гамету попадает лишь один из аллелей. При скрещивании аллели не сливаются и не исчезают, а через половые клетки передаются потомству.

Хромосомная теория наследственности доказала, что менделевские неделимые наследственные факторы находятся в хромосомах в клеточном ядре и располагаются линейно по длине хромосомы.

Сравнивая эффект аллелей у гетерозигот, Т.Х. Морган пришел к выводу, что ген представляет собой элементарную неделимую единицу наследственности, которая при мутациях изменяется в целом. Согласно идее о неделимости гена, считалось, что кроссинговер происходит между генами. В результате возникло убеждение, что ген является единицей функции мутации и рекомбинации.

В 1929 г. А.С. Серебровский и Н.П. Дубинин показали, что ген не всегда мутирует как единое целое. Мутации могут затрагивать различные участки гена, т.е. было доказано, что ген не является единицей мутации и рекомбинации. Первым важным шагом на пути изучения тонкой молекулярной структуры гена был сделан С. Бензером в 1957, 1961 гг. Исследования С. Бензера были посвящены

анализу молекулярного строения локуса в хромосоме бактериофага T_4 . Он же ввел термин «цистрон». Данные С. Бензера показали, что цистрон, или ген, — это отрезок молекулы ДНК, имеющий строго линейный характер. Он дискретен, так как состоит из набора нуклеотидов. Генетическое картирование цистронов фага T_4 позволило установить, что ген делим и наименьшими мутационными и рекомбинационными единицами являются мутон и рекон, т.е. отдельные нуклеотиды.

В 1908 г. английский врач А. Гаррод предположил, что мутации могут вызывать недостаток ферментов, катализирующих превращение одного метаболитического вещества в другое. Таким образом, он обратил внимание на взаимосвязь между генами и ферментами. Недостаток фермента связан с отсутствием нормальной аллели гена, который контролирует синтез фермента. В 1945 г. Д. Бидл и Э. Тейтум, изучая облученные нейроспоры, пришли к выводу, что мутации гена вызывают нарушения деятельности ферментов. Так было сформулировано важное положение генетики: «один ген — один фермент».

В 1957 г. Дж. Ингрэм показал, что серповидно-клеточная анемия у человека обусловлена изменением аминокислотного состава глобина, состоящего из двух α - и двух β -субъединиц. Естественно было предположить, что каждая субъединица кодируется разными генами. Возникла гипотеза «один ген — одна полипептидная цепочка», т.е. один ген контролирует синтез только одной полипептидной цепочки глобина α или β .

Вскоре после открытия структуры ДНК стало ясно, что гены несут информацию о структуре белка. С расшифровкой генетического кода (1964) стал известен механизм, с помощью которого клетка переводит нуклеотидную последовательность гена в аминокислотную последовательность молекулы белка. Таким образом, стало ясно, что ген — это участок молекулы ДНК, содержащий информацию, записанную в его нуклеотидной последовательности. К этому времени стало известно, что помимо генов, с которых идет транскрипция иРНК, имеются гены, кодирующие транспортные РНК (тРНК) и рибосомальные РНК (рРНК).

В 1977 г. было показано, что ген у эукариот состоит из экзонов и интронов (рис. 172—174). Далее было установлено, что процесс созревания РНК обусловлен сплайсингом, а также что существует

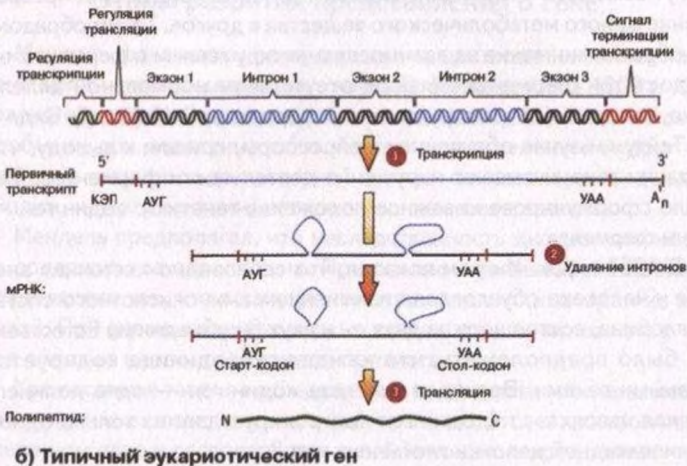
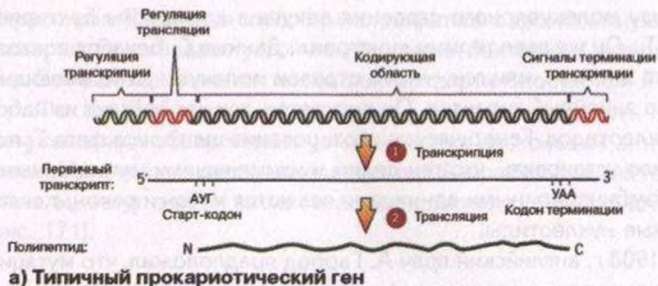
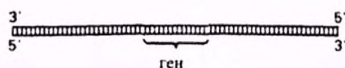


Рис. 172. Структура гена. Прокариотические гены обычно содержат непрерывные кодирующие последовательности (а), тогда как кодирующие последовательности эукариотических генов обычно прерываются некодирующими последовательностями (б)

еще и альтернативный сплайсинг, в результате которого экзоны одного гена соединяются в разных комбинациях с образованием различных зрелых мРНК. Это открытие изменило представление о гене как единице наследственности, кодирующей только одну полипептидную цепь. Долгое время наиболее изучены были структурные части гена, кодирующие первичную структуру белка или РНК. В последние годы были открыты регуляторные последовательнос-

а) Ген является отрезком молекулы ДНК



б) Биологическая информация одного гена содержится в одной полинуклеотидной цепи молекулы ДНК.

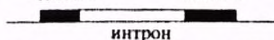


а) Гены могут располагаться в разных полинуклеотидных цепях молекулы ДНК



Рис. 173. Генсегмент ДНК

а) Ген, составленный из «кусков»
экзон 1 экзон 2



б) Ген кистозно-фиброзного трансмембранного регулятора человека

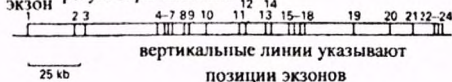


Рис. 174. Структура гена, составленного из экзонов и интронов

ти этих генов, которые необходимы для экспрессии структурных генов. Регуляторные последовательности этих генов — промоторы — взаимодействуют с РНК-полимеразой, регуляторными белками — репрессорами и активаторами транскрипции. В наши дни проблема гена перешла на новый уровень. Ген стал рассматриваться как система и как часть общей системы генотипа. Единство функции гена оказалось продуктом интеграции функций его части: струк-

турной, функциональной и регуляторной. В понятие «ген» вошли такие регуляторные участки, как промотор, энхансер, терминатор.

Таким образом, представление о гене прошло несколько этапов.

Первый этап — гены неделимы, структурно и функционально целостны или едины (Г. Мендель, Т. Морган).

Второй этап — изменение представления о структурной целостности гена (А.С. Серебровский, Н.П. Дубинин).

Третий этап — изменение представления не только о структурной, но и о функциональной целостности гена (прерывистое строение гена, альтернативный сплайсинг).

Четвертый этап — представление о гене как единице структурной, функциональной и регуляторной активности, т.е. введение в понятие «ген» регуляторных участков гена (промотора, энхансера, терминатора).

Глава X

ГЕНЕТИКА ПОЛА

В процессе эмбрионального развития организма происходит дифференцировка пола особей, т.е. между мужскими и женскими особями возникают наследственно закрепленные различия. При половом размножении у женских особей формируются женские гонады — яичники, продуцирующие гаплоидные половые клетки — яйцеклетки. У мужчин семенники формируют мужские половые клетки — гаплоидные гаметы — сперматозоиды. В процессе оплодотворения женские половые клетки соединяются с мужскими и дают начало диплоидным клеткам — зиготам.

Различают несколько типов детерминации пола по отношению к оплодотворению.

Прогамный — детерминация пола происходит в процессе созревания яйцеклеток. Это связано с тем, что в процессе оогенеза неравномерно распределяется цитоплазма, возникают малые и большие ооциты, имеющие одинаковый набор хромосом. После оплодотворения из больших яйцеклеток развиваются самки, а из малых яйцеклеток, бедных цитоплазмой, — самцы. Таким образом, половая детерминация происходит до оплодотворения. Такой тип детерминации пола наблюдается у первичных кольчецов, тлей, коловраток.

Эпигамный — детерминация пола происходит после оплодотворения под влиянием разнообразных внешних условий. У морского червя *Bonellia viridis* самцы и самки развиваются в зависимости от контакта личинки с материнским организмом. Если личинка попадает на хоботок самки-матери, то она вначале проникает в рот, далее — в матку, где дифференцируется в самца. Такой самец оплодотворяет яйцеклетки самки и остается там всю жизнь. У некоторых рептилий, таких как черепахи и крокодилы, дифференциру-

ющим фактором является температура в определенный период развития яйца. У каймановой черепахи, если температура в средней трети эмбрионального развития в интервале 27—30°C, из яиц выходят как самцы, так и самки. При температуре ниже 27°C выходят самцы, при температуре выше 30°C — самки.

Сингамный — пол зиготы дифференцирован с момента оплодотворения. Такой тип наследования пола наблюдается у животных, самцы и самки которых продуцируют два типа гамет с различными половыми хромосомами, т.е. это гетерогаметный пол.

Особь гомогаметного пола могут быть оплодотворены двумя разными типами гамет, формирующихся у особей гетерогаметного пола. Такой тип детерминации пола наблюдается у мухи-дрозофилы, человека и других животных.

Эусингамный — гапло-диплоидный тип детерминации пола. Данный тип детерминации широко распространен у пчел, ос, муравьев, пилильщиков и наездников. У этих животных нет половых хромосом. Самки, которые развиваются из оплодотворенных яиц, — диплоидные. Самки бывают двух типов: матки — крупные плодовые и рабочие пчелы — мелкие стерильные.

Развитие этих самок определяется количеством и качеством пищи, которую получила личинка. Гаплоидность у трутней наблюдается только в клетках зародышевого пути, из которых формируются гаметы. В соматических клетках трутней число хромосом вторично удваивается, это приводит к гомозиготизации рецессивных генов и, соответственно, к снижению жизнедеятельности.

Типы хромосомной детерминации пола

Выделяют несколько типов определения пола в зависимости от числа и состава половых хромосом. Если самцы гетерогаметны, т.е. имеют X- и Y-хромосомы, то самки имеют две X-хромосомы. Гетерогаметный тип хромосомного наследования пола наблюдается у человека, мухи-дрозофилы, водяного клопа *Ligaeus*, по названию которого и называют данный тип определения пола.

Другой тип наследования пола наблюдается у водяного клопа *Protenor*, связан с наличием у самцов одной X-хромосомы (OX), а у самок — двух X-хромосом (XX). Такой тип наследования пола наблюдается у некоторых бабочек и червей (рис. 175). Иной тип хромосом-






		Самка	Самец
Человек, <i>Drosophila</i>			XX XY
Птицы			ZW ZZ
Кузнечики			XX XO
Пчелы		Диплоидный	Гаплоидный

Рис. 175. Определение пола у некоторых организмов

ного наследования пола известен у некоторых бабочек, рыб, земноводных, птиц (рис. 176). У них гетерогаметным является женский пол, с набором половых хромосом ZW у самок, ZZ — у самцов (рис. 180).

Определение пола у млекопитающих и человека

На ранних этапах развития зародыша половые железы представлены в виде парных выпячиваний эпителия стенки тела, получивших название гонадных валиков. Эти выпячивания в дальнейшем обособляются от стенки тела. Зачатки гонад вначале лишены половых клеток. Первичные половые клетки (гоноциты) образуются в желточном мешке эмбриона, оттуда мигрируют в генитальные валики. С этого момента гонадные валики начинают развиваться в семенники или в яичники. Если зачаток гонады представляет собой будущий яичник, то гоноциты собираются в основном на периферии зачатка (в коре), в случае же развития семенника — в центральной части зачатка (медуллярная часть).

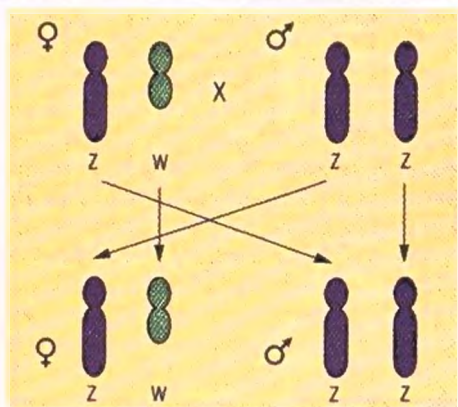


Рис. 176. Определение пола у птиц. Самка является гетерогаметной (ZW), самец — гомогаметный (ZZ). Пол потомства определяется тем, какая из половых хромосом передается самкой

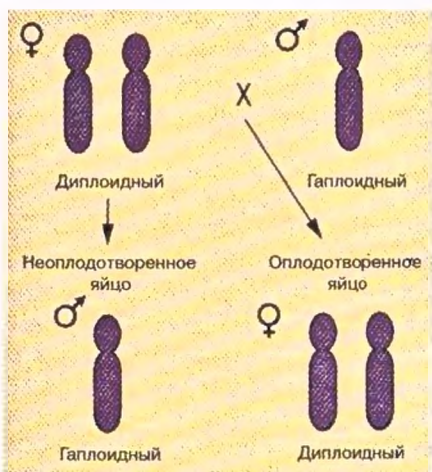


Рис. 177. Определение пола у пчел. Самки образуются из оплодотворенных яиц и являются диплоидными, а самцы, которые образуются из неоплодотворенных яиц, являются гаплоидными

Развитие пола у человека контролируется группой генов, находящихся как в половых хромосомах, так и в аутосомах. Гонады у человека до шестинедельного возраста не являются ни мужскими, ни женскими. Дифференцировка начинается на 6-й неделе развития. Первичная дифференцировка пола начинается с формирования из недифференцированной ткани гонад — семенников или яичников. Этот процесс контролируется генами (рис. 178—180).

У человека и млекопитающих Y-хромосома играет решающую роль в развитии пола. Если у эмбриона отсутствует Y-хромосома или в ее составе отсутствуют гены, детерминирующие пол, развитие идет по женскому типу при любом числе X-хромосом. Особь, имеющая XO-хромосомы, формируется по женскому типу, но имеет свою специфику, у человека это называют синдромом Шерешевского—Тернера. При наличии Y-хромосомы и двух (XXY), трех (XXXY) или даже четырех (XXXXY) X-хромосом в кариотипе формируется мужской фенотип, но с определенными отклонениями, у человека это является синдромом Клайнфельтера. Y-хромосома резко отличается от других хромосом. Она небольшая по размеру, у человека содержит 60 млн п.н., на ней определено более 100 генов. Примерно половина из них вовлечены в определение мужского пола и участвует в процессе сперматогенеза. В Y-хромосоме имеются области, гомологичные X-хромосоме. X-хромосома имеет размер 165 млн п.н. и содержит более 1000 генов, большинство из них не связаны с полом. Гомологичные области этих хромосом обеспечивают их мейотическое спаривание и рекомбинацию.

В коротком плече Y-хромосомы в пол-определяющем районе, в дистальной части находится ген *SRY* (от англ. — *sex determining region Y*). Длина этого гена — 1 т.п.н., он не содержит интронов. Ген *SRY* млекопитающих кодирует белок. У человека этот белок состоит из 204 аминокислотных остатков. Этот белок имеет участок, который специфически связывается с регуляторными последовательностями ДНК в области промоторов генов, детерминирующих половую дифференцировку, т.е. участок, детерминирующий формирование семенников. *SRY*-ген активен исключительно во время раннего эмбрионального развития и экспрессирован только в клетках Сертоли. Его задача — в процессе раннего эмбрионального развития (6—7 недель беременности) заставить недифференцированные гонады развиваться в яички (семенники). Ген *SRY* яв-



Рис. 178. Доказательство локализации гена для тестис-детерминирующего фактора (TDF) в коротком плече Y-хромосомы у нормальных мужчин. TDF является продуктом гена SRY. У самок XX — небольшая область, содержащая этот ген, была встроена в одну из X-хромосом (рис. слева). При делении этого участка в Y-хромосоме формируются XY-самки

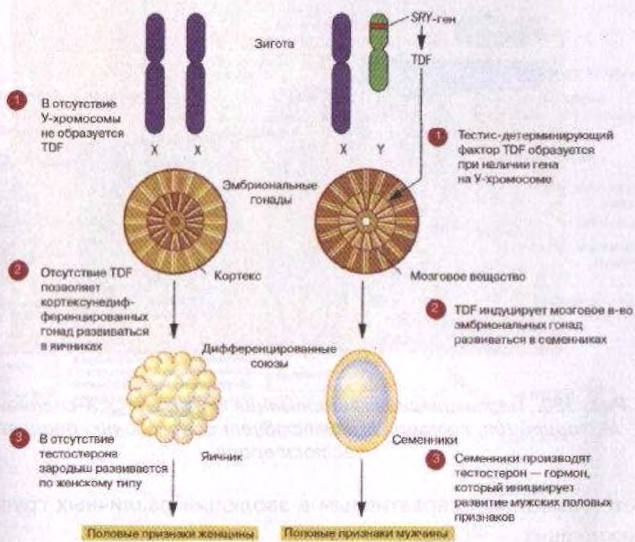


Рис. 179. Процесс определения пола у человека. Развитие мужского пола зависит от образования тестис-детерминирующего фактора (TDF), определяемого геном в Y-хромосоме. В отсутствие этого фактора зародыш развивается по женскому типу

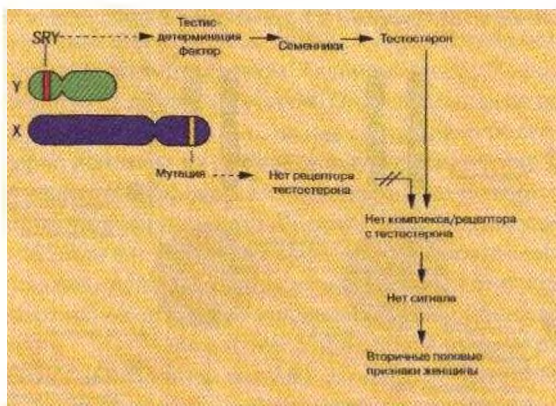
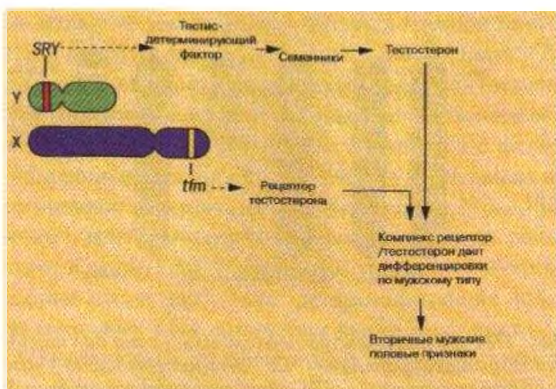


Рис. 180. Тестикулярная феминизация вызывается X-сцепленной мутацией *tfm*, которая препятствует образованию рецептора тестостерона

ляется высококонсервативным в эволюции различных групп млекопитающих.

В Y-хромосоме кроме гена *SRY* имеются другие гены. В длинном плече Y-хромосомы находится локус *AZF* (от англ. *azoospermia factor*), который участвует в генетической регуляции сперматогенеза у человека. Мутации генов этого локуса: *AZFa*, *AZFb* и *AZFc* приводят к на-

рушению сперматогенеза (рис. 181) — от снижения (олигозооспермия) до полного отсутствия сперматогенеза (азооспермия).

Развитие яичников связано с геном *DAX1* (*dosage — sensitive — sex reversal*), расположенным в коротком плече X-хромосомы. Этот ген содержит два экзона.

У мужчин ген *DAX1* репрессируется в период активизации гена *SRY*.

До начала половой дифференцировки выводящая система эмбриона представлена двумя типами протоков: Вольфовым и Мюллеровым, производными первичной почки. Эти протоки — основа развития будущих внутренних гениталий.

Ранние эмбриональные семенники продуцируют два гормона: тестостерон с эффектом дифференцировки в самца и Мюллер-ингибирующий фактор MIF (антимюллеров гормон, вызывающий регрессию Мюллеровых протоков). Синтез тестостерона происходит вне

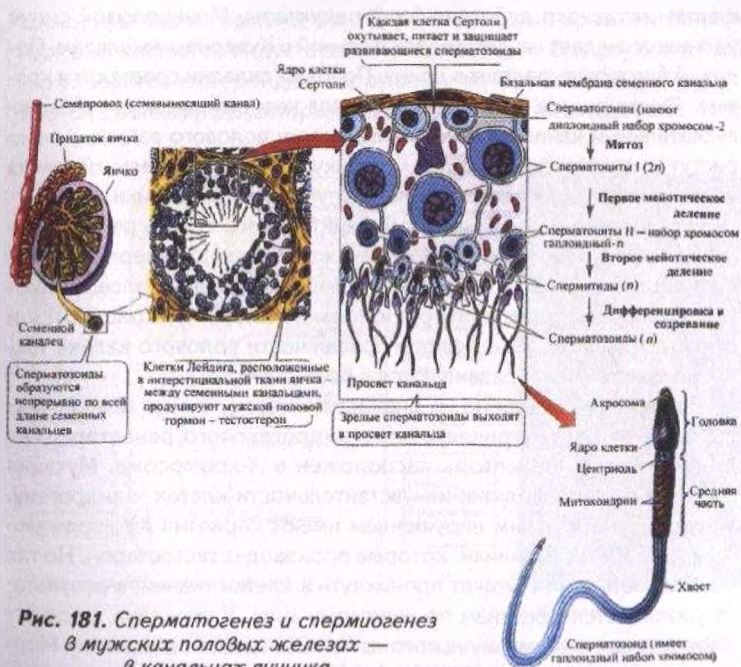


Рис. 181. Сперматогенез и спермиогенез в мужских половых железах — в канальцах яичника

семенных канальцев в клетках Лейдига, расположенных в интерстициальной ткани (между семенными канальцами), тогда как сперматогенез идет в семенных канальцах семенников.

Ген, детерминирующий MIF, располагается в коротком плече хромосомы 19. Секреция анти-Мюллера гормона идет в клетках Сертоли, расположенных в семенных канальцах, начинается на 7-й неделе эмбрионального развития и продолжается до пубертатного периода, а потом падает.

В яичнике же как созревание яйцеклеток, так и образование половых гормонов — эстрогенов — протекает в фолликулах (фолликулярных клетках).

При развитии мужской половой системы Мюллеровы протоки регрессируют, Вольфов же проток дифференцируется в семяпровод, семенные пузырьки, частично в придаток семенника. Полное развитие гениталий зависит от производного тестостерона, 5-дегидротестостерона, метаболита тестостерона, образующегося путем ферментативного действия 5— β -редуктазы. Мочеполовой синус удлиняется и дает начало предстательной и Куперовым железам. Половой бугорок вырастает в длину. Половые складки срастаются краями. Формируется половой член, через который проходит мочеиспускательный канал. Правая и левая части полового валика сильно растут и, срастаясь, образуют мошонку, в которую в дальнейшем из полости тела через паховые каналы спускаются семенники.

При формировании женского генитального тракта регрессируют Вольфовы протоки. Мюллеровы же каналы дифференцируются в яйцеводы, матку и верхнюю треть влагалища. Половой бугорок превращается в клитор. Половые складки не срастаются и образуют малые губы. Левая и правая части полового валика также не срастаются и развиваются в большие губы.

Эффект тестостерона на дифференцировку самца зависит также от функции внутриклеточного андрогенового рецептора. Ген андрогенового рецептора расположен в X-хромосоме. Мутация данного гена приводит к нечувствительности клеток к андрогену. Индивидуумы с таким нарушением имеют кариотип XY, нормальный ген SRY и семенники, которые производят тестостерон. Но так как тестостерон не может проникнуть в клетки тканей, в результате развивается организм по женскому типу. У человека такое отклонение в развитии мужского пола называется синдромом Морриса, или тестикулярной феминизацией.

Ген тестикулярной феминизации передается потомству только от женщин — носителей этого гена, поскольку феминизированные мужчины бесплодны (рис. 182). Таким образом, когда тестостерон отсутствует или неэффективен из-за дефекта рецептора, половая ориентация является женской.

Вторичные половые признаки

Вторичные половые признаки развиваются под влиянием женских или мужских половых гормонов. К ним относятся:

- 1) разница в росте и строении опорно-двигательной системы;
- 2) развитие и строение таза;
- 3) оволосение тела, отложение жира;
- 4) строение и развитие молочных желез;
- 5) различие в тембре голоса.

Развитие любого признака организма, в том числе развивающихся при части гормона, генетически детерминировано. Многие гормоны являются индукторами транскрипции. В первую очередь это относится к стероидным гормонам, которые обратимо связываются с белками рецепторами, переносящими их в ядро (рис. 183).

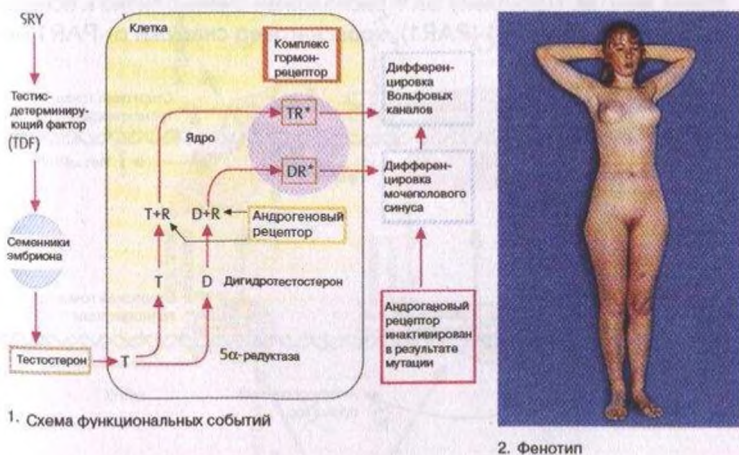


Рис. 182. Андрогеновый рецептор и синдром тестикулярной феминизации

Такой комплекс связывается со специфическими участками генов или с энхансерами. Так тестостерон активирует гены, определяющие развитие вторичных половых признаков по мужскому типу.

Нарушения развития пола

Нарушения развития пола происходят на любом уровне половой детерминации, или дифференцировки, из-за мутаций или перестроек X- или Y-хромосомы. Иногда гонады не соответствуют системе половых протоков или наружным гениталиям (рис. 184—187). Кроме того, наружные гениталии могут быть двоякими, т.е. частично женскими, частично мужскими (псевдогермафродитизм). При истинном гермафродитизме гонады содержат как тестикулярные ткани, так и ткани яичника. В этом случае необходима терапия, которая корректирует диагностированные ошибки развития.

XX-самцы и XY-самки

В норме специфический участок ДНК Y-хромосомы, определяющий детерминацию мужского фенотипа (SRY-ген), остается на Y-хромосоме при гомологичном спаривании и кроссинговере во время мейоза. Поскольку SRY расположен очень близко к псевдоаутосомной области 1 (PAR1), кроссинговер снаружи от PAR1 мо-

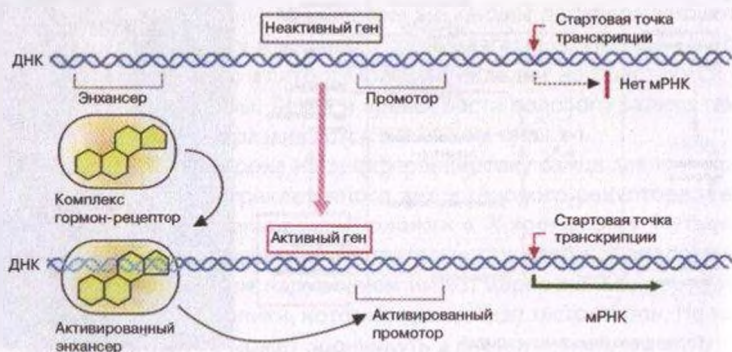


Рис. 183. Активация транскрипции путем связывания комплексов стероидный гормон /рецептор с энхансерным участком ДНК



Рис. 184. Развитие половых желез (гонад) и выделительных протоков

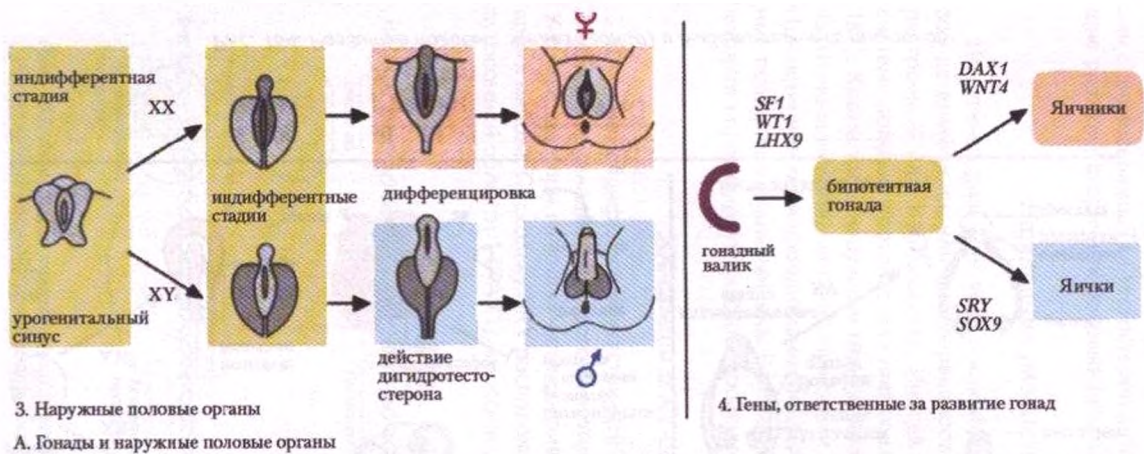


Рис. 185. Развитие наружных половых органов

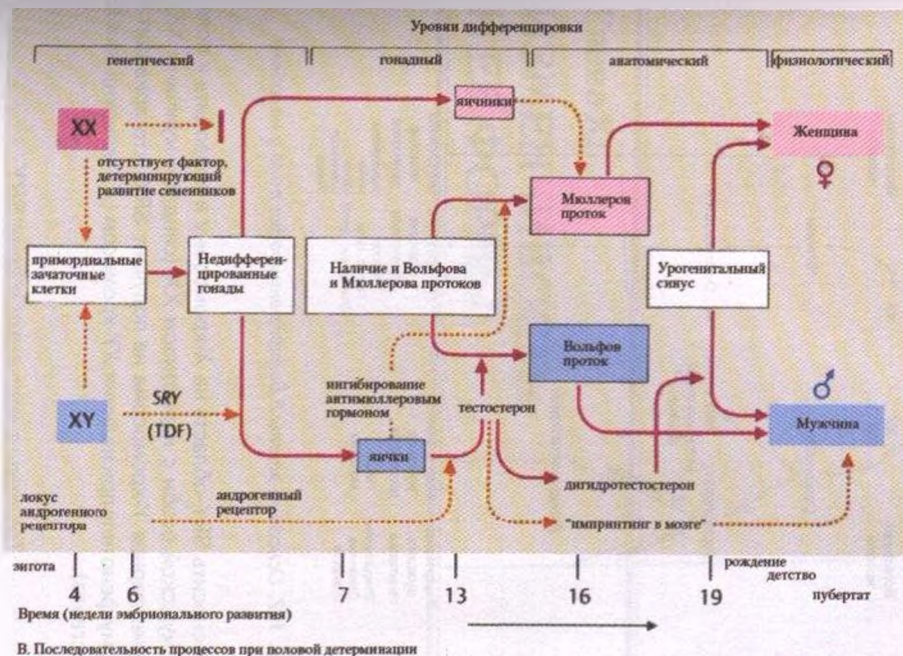


Рис. 186. Последовательность процессов при половой детерминации

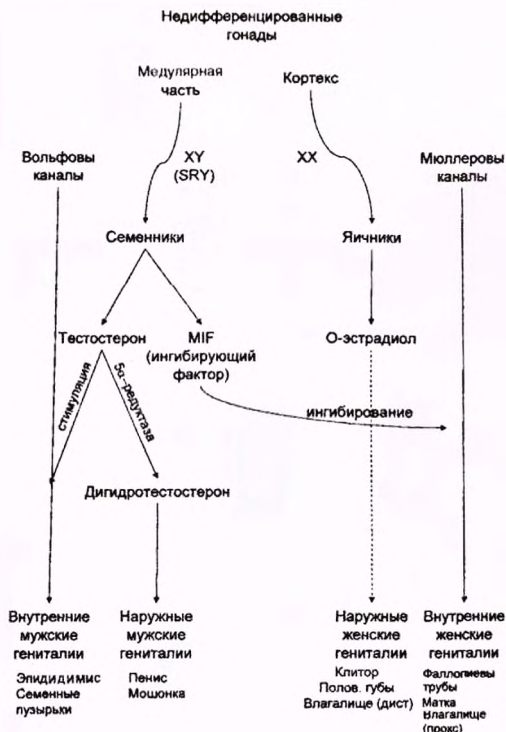


Рис. 187. Основные этапы в дифференцировке пола у человека

жет переносить SRY-область на X-хромосому и приводить к появлению мужской особи с кариотипом XX (синдром мужчины XX). Комплементарная Y-хромосома не получает SRY, что приводит к женскому фенотипу при наличии XY-хромосом (XY-женский гонадный дисгенез).

Точечные мутации в гене SRY

Точечные мутации и делеции в гене SRY приводят к полному или частичному гонадному дисгенезу. Изменение пола связано с дисплазией, которая возникает в результате мутаций в гене SOX9.

Глава XI

**ИЗМЕНЧИВОСТЬ
И ЕЕ ФОРМЫ**

Наследственность является консервативным фактором, благодаря которому обеспечивается стабильность вида. Наличие определенных стабильных признаков позволяет относить многочисленных особей к одному виду.

Но виды полной стабильностью не обладают, так как им свойственна изменчивость.

Изменчивость — это свойство живых организмов изменяться и существовать в разных вариациях.

Поэтому изменчивость проявляется в разнообразии особей одного вида.

Есть кареглазые люди, есть голубоглазые. У человека разные группы крови: О, А, В, АВ.

Если говорить в масштабах всего живого, то изменчивость обуславливает все многообразие живой природы в ходе эволюции, т.е.



благодаря изменчивости накапливается материал на уровне популяции для эволюционных процессов.

Различают изменчивость:

- 1) ненаследственную (или модификационную);
- 2) наследственную (или генотипическую).

Фенотипическая (модификационная) изменчивость является результатом различных воздействий внешних процессов на организм (клетку), не затрагивающих структуру генетического аппарата, а точнее, генотипа.

В связи с этим модификационная изменчивость проявляется только у данной особи (или данной популяции) в определенных условиях существования, по наследству не передается и характеризуется тремя особенностями:

- 1) массовым характером изменений, затрагивающих большинство особей в популяции (например, воздействие ультрафиолетовых лучей на кожу человека приводит к изменению пигментации);
- 2) адекватностью изменений — воздействие среды, чем интенсивнее воздействие фактора, тем сильнее изменение (например, увеличение времени нахождения на солнце приводит к повышенной выработке пигмента);
- 3) кратковременностью большинства модификаций (например, при прекращении пребывания на солнце пигментация кожи возвращается к обычному уровню).

Модификационная изменчивость, как было показано многочисленными экспериментами, по наследству не передается и поэтому не играет существенной роли в эволюции. Однако в практике сельского хозяйства модификационная изменчивость играет значительную роль. (Например, повышение удоев молока у коровы, продуктивность, жирность зависят от условий ухода за ними, рационального питания и т.д.)

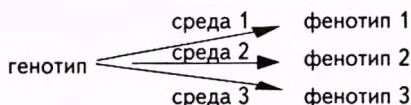
Модификационная изменчивость представляет собой эволюционно закрепленные адаптивные реакции организма в ответ на изменение условий внешней среды при неизменном генотипе.

Воздействие среды может влиять на развитие признака не безгранично. Модификационная изменчивость ограничена нормой реакции.

Нормой реакции организма называется генотипически определяемая способность организма варьировать степень выраженности признаков в определенных пределах в зависимости от условий внешней среды.

Так, наличие веснушек у человека определяется генотипом, однако степень их развития зависит от длительности пребывания на солнце.

Таким образом, строго говоря, организм наследует не признаки как таковые, а норму реакции.



По выраженности нормы реакции признаки бывают пластичные и непластичные.

Степень выраженности пластичных признаков зависит от внешней среды, для них характерна широкая норма реакции.

Непластичные признаки остаются практически неизменными при любых условиях среды (окраска радужки глаза, группа крови человека).

Пример пластичного признака: количество эритроцитов в 1 мм^3 крови увеличивается почти вдвое у альпинистов, поднимающихся на высоту 4000 м.

Большинство модификаций имеют приспособительное значение и способствуют адаптации организма к изменению среды.

Генотипическая изменчивость

Генотипическая изменчивость всегда является следствием изменения в самой структуре генетического аппарата и носит наследственный характер.

Генотипическая изменчивость является материальной базой для эволюции. Она поставляет исходный материал (измененные особи) для естественного отбора.

Отклонения должны пройти «шлагбаум» внешней среды: или они закрепляются отбором, или они выбраковываются.

Генотипическая изменчивость может быть обусловлена следующими изменениями генетического аппарата:

- 1) рекомбинацией генов (комбинативная изменчивость);
- 2) различными типами мутации (мутационная изменчивость).

Комбинативная изменчивость связана с рекомбинацией хромосом и их сегментов, несущих различные аллели генов. Сами гены и генотип не меняются, но благодаря рекомбинации генов изменяются признаки.

Какие причины приводят к рекомбинации генов?

1. Кроссинговер, который происходит в профазе 1-го мейотического деления, когда гомологичные хромосомы обмениваются гомологичными участками.

Кроссинговер, как механизм рекомбинации, эффективен лишь в том случае, когда соответствующие гены отцовской и материнской хромосом представлены разными аллелями Аа, гомозиготы не дают новых сочетаний аллелей (АА, аа). Обмениваются несестринские хроматиды на стадии тетрады.

2. Расхождение негомологичных хромосом при мейозе и сочетание их в зиготе.

3. Оплодотворение — случайная встреча разных гамет при оплодотворении. Все это приводит к тому, что среди особей одного вида практически невозможно проявление двух генотипически одинаковых организмов.

Благодаря комбинативной изменчивости в природе наблюдается разнообразие потомков одних и тех же родителей: у человека родные братья и сестры различаются по многим признакам, в том числе и по полу, группам крови, цвету радужки глаз и т.д.

Комбинативная изменчивость проявляется в генотипическом разнообразии особей, повышает выживаемость вида в изменяющихся условиях его существования.

Мутации

Термин «мутация» был предложен в 1901 г. голландским ботаником Гуго де Фризом для обозначения наследственно закрепленных изменений. Он называл их скачкообразными изменениями, возникающими без переходов.

Под мутациями в настоящее время принято понимать стабильные изменения наследственного материала, приводящие к изменению фенотипа.

Классификация мутаций

Мутации могут быть спонтанными и индуцированными. Спонтанные мутации происходят в любой популяции без всякого видимого внешнего воздействия. Частота спонтанных мутаций невелика: 10^{-5} — 10^{-8} на ген/поколение.

Индукцированные мутации возникают в результате искусственного мутагенеза, т.е. вследствие действия мутагенных факторов, таких как температура, воздействие рентгеновских, α -, β - и γ -лучей, воздействие химических веществ и биохимических факторов.

По месту возникновения мутации и характеру наследования различают:

1) генеративные мутации, возникающие в клетках полового зачатка, половых клетках и передающиеся по наследству;

2) соматические мутации возникают в клетках организма и не передаются по наследству.

В зависимости от влияния на жизнеспособность и плодовитость организма мутации разделяют на:

1) летальные — зародыш гибнет на ранних стадиях развития;

2) полублетальные — ведут к понижению жизнеспособности особи, которая не доживает до репродуктивного периода;

3) условно летальные — могут вовсе не проявляться в одних условиях и приводить к гибели в других условиях;

4) стерильные — влияют на плодовитость, вплоть до бесплодия;

5) нейтральные — наиболее распространенные.

По локализации измененного генетического материала различают:

1) ядерные (хромосомные);

2) цитоплазматические (митохондриальные, пластидные).

По характеру изменения уровня организации генетического материала различают:

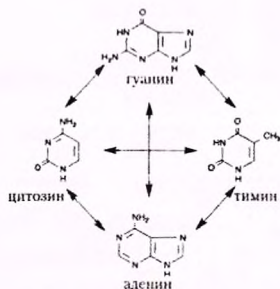
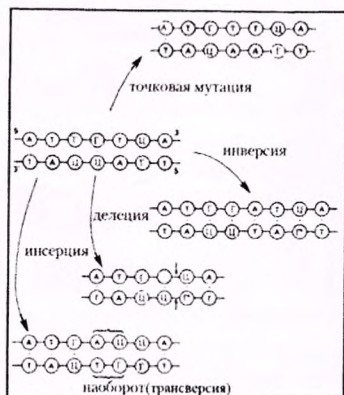
1) генные, или точечные, мутации, вследствие которых изменяется структура определенного гена и появляются его аллели;

2) хромосомные мутации, или хромосомные aberrации, ведут к нарушению существующих групп сцепления генов в той или иной хромосоме, вследствие чего возникают новые группы сцепления;

3) геномные мутации приводят к добавлению либо утрате одной или нескольких хромосом или полного гаплоидного набора хромосом.

Генные, или точечные, мутации

Генными мутациями называются изменения химической структуры генов, воспроизводимые в последующих циклах репликации и проявляющиеся у потомства в виде вариантов признаков (рис. 188).



При замене (субституции) азотистых оснований пуриновые основания могут замещаться пуриновыми, а пиримидиновые основания — пиримидиновыми. В этих случаях говорят о переходах (стрелки в центре указывают на переходы). Если же пуриновые основания замещаются пиримидиновыми и наоборот, говорят о трансверсии.

Рис. 188. Различные виды изменений нуклеотидных последовательностей молекулы ДНК в результате мутации по сравнению с исходным ("диким") типом.

Мутации, ведущие к изменению структуры гена

I. Замена одних оснований другими в смысловой части экзона дает 20% всех спонтанных мутаций. Эти замены происходят во время репликации ДНК.

II. Изменение количества нуклеотидных пар, входящих в состав гена (делеция, дупликация), ведет к сдвигу рамки считывания.

III. Изменение порядка нуклеотидных последовательностей в пределах гена (инверсия на 180) ведет к сдвигу рамки считывания.

IV. Точечные замены нуклеотидов на границе экзон-интронных стыков могут нарушать процесс «сшивания» последовательностей нуклеотидов и быть причиной нарушения сплайсинга (сплайсинговые мутации).

V. Отдельный тип мутаций — «динамические» мутации, которые характеризуются нарастанием триплетных повторов в кодирующих и некодирующих участках гена ((ЦТГ)_n, (ЦГГ)).

VI. Мутации, обусловленные инсерцией (вставкой) протяженных мобильных элементов — транспозонов, на долю которых приходится до 5% ДНК всего генома.

*Мутации, вызванные заменой
азотистых оснований*

На молекулярном уровне различают два типа замены оснований:

1) простые замены — транзиции. Когда один пурин замещается другим пурином, а пиримидин — другим пиримидином.

Например,



2) перекрестные замены — трансверсии, т.е. замена пурина на пиримидин и наоборот: $A - T \rightarrow C - G$, $A - T \rightarrow T - A$.

Замена оснований приводит к проявлению трех типов мутантных кодонов.

1. Миссенс мутации — изменяют смысл кода (от англ. miss — потеря, изменение, sens — смысл). Известно 100 миссенс мутаций в α - и β -глобулиновых генах.

2. Нейтральные мутации — с неизменным смыслом. Не всякая замена аминокислоты отразится на функциональной активности белка.

В силу вырожденности генетического кода не всякая замена основания приведет к миссенс мутации.

3. Нонсенс мутации (от англ. nonsense — бессмыслица). Появление одного из стоп-кодонов (УАА, УАГ, УГА) не в конце структурного гена, а внутри него приводит к преждевременной терминации трансляции и обрыву полипептидной цепи (рис. 189, 190), такие белки не способны выполнять свои функции.

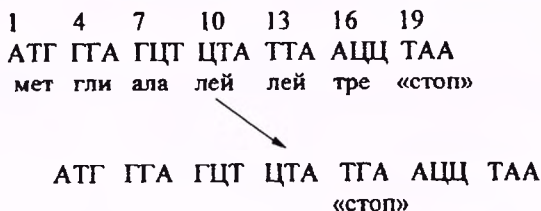


Рис. 189

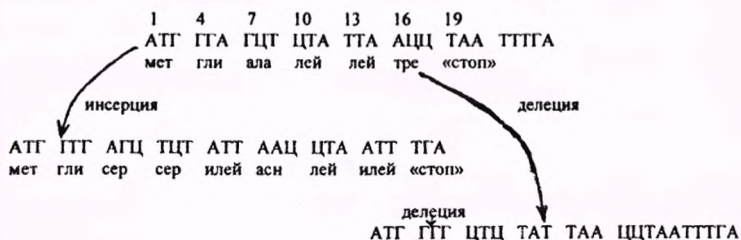


Рис. 190

Мутации со сдвигом рамки считывания

Вставки, дубликации, делеции или перемещение отдельных оснований в пределах гена вызывают сдвиг рамки считывания. Рамка считывания — это нуклеотидная последовательность, которая начинается с иницирующего кодона, структурного гена. Последующие нуклеотиды образуют триплеты, кодирующие аминокислоты. Рамка считывания заканчивается терминирующим кодоном. При возникновении мутаций со сдвигом рамки считывания меняются все триплеты ниже сайта дубликации или делеции по ходу считывания, при этом повышается вероятность появления стоп-кодонов и, соответственно, наступает преждевременная терминация трансляции.

Это происходит вследствие выпадения или вставки нуклеотидных последовательностей ДНК одной или нескольких пар комплементарных нуклеотидов.

Изменению числа нуклеотидных пар в цепи ДНК способствует воздействие на ДНК химических веществ, например акридиновых соединений.

Кроме того, может деформироваться структура двойной цепи ДНК, что приводит к вставке дополнительных нуклеотидов или их выпадению при репликации (меняется рамка считывания).

Рентгеновское излучение часто вызывает делеции (выпадение п. н. в цепи ДНК).

У плодовой мухидрозофилы известна мутация гена, контролирующего окраску глаза. Она вызывается облучением и состоит в делеции порядка 100 п.н.

Большое число мутаций по типу вставок происходит вследствие включения в последовательность нуклеотидов подвижных генетических элементов.

Подвижные генетические элементы — протяженные нуклеотидные последовательности у эукариот и прокариот, которые самопроизвольно меняют свое положение.

Примеры генных мутаций

Последствия генных мутаций можно особенно четко проследить на примере глобина человека. Высокая функциональная дивергенция генов глобина возникла в процессе эволюции в результате многочисленных точковых мутаций. На основании известных сегодня дефектов гемоглобина, приводящих к развитию заболеваний, уже более 300 различных замен аминокислот в полипептидных цепях его молекулы могут быть идентифицированы. Самой известной заменой (субституцией) является замена аденина (А) на тимин (Т) в 6-м кодоне гена α -глобина (ГАГ заменяется на ГТГ), что приводит к замене аминокислоты глутамин на валин в полипептидной цепи α -глобина. Гомозиготные носители таких аллелей известны как лица, страдающие серповидно-клеточной анемией. Наряду с серповидно-клеточной анемией существуют и другие мутации гена, приводящие к появлению аллелей, гомозиготные носители которых страдают β -талассемией. При так называемом гемоглобине Кренстона существует длинная боковая цепь. Причиной этого является инсерция (вставка) двух нуклеотидов в 145-й кодон гена β -глобина. В результате «стоп-кодон» УАА при изменении образца считывания триплетов гена («кадровый сдвиг») превращается в триплет АЦУ. При этом синтез полипептидной цепи продолжается и заканчивается лишь после присоединения дополнительно еще 11 аминокислот, т.е. после образования цепи из 157 аминокислот. Слишком длинная цепь глобина формирует нестабильный гемоглобин.

При муковисцидозе (кистозном фиброзе) точковая мутация также является причиной заболевания. В этом случае делеция приводит к выпадению трех рядом расположенных нуклеотидов в позиции 508, кодирующих важную для функции белка аминокислоту — фенилаланин. В результате этой мутации белок теряет свою функцию.

Приведенные примеры свидетельствуют, что в результате изменений нуклеотидных последовательностей генов, т.е. мутаций, в

процессе эволюции возникают множественные аллели — разные версии первоначального гена.

Хромосомные мутации, или аберрации

В основе изменения структуры хромосомы лежит нарушение ее целостности — уменьшение или увеличение их размеров, изменение положения их частей.

I. Разрывы хромосом происходят в ходе кроссинговера, когда они обмениваются гомологичными участками. При нарушении кроссинговера хромосомы могут обмениваться неравноценными участками хромосом.

Это ведет к появлению новых групп сцепления, где отдельные участки могут выпадать (делеция), или удваиваться (дупликация), или перемещаться (транслокация) (рис. 191).

При таких перестройках изменяется число генов в группе сцепления.

II. Разрывы хромосом могут возникать также под влиянием различных мутагенных факторов, главным образом физических (ионизирующие и другие виды излучения), некоторых химических соединений, вирусов.

III. Нарушение целостности хромосомы может сопровождаться поворотом ее участка, находящегося между двумя разрывами, на 180° (инверсия).

В зависимости от того, включает данный участок область центромеры или нет, различают перичентрические и парацентрические инверсии.

Фрагмент хромосомы, отделившийся от нее при разрыве, может быть утрачен клеткой при очередном митозе, если он не имеет центромеры. Такой фрагмент может прикрепляться к какой-то негомологичной хромосоме — транслокация.

Нередко две поврежденные негомологичные хромосомы взаимно обмениваются оторвавшимися участками — реципрокная транслокация.

Присоединение фрагмента к своей хромосоме в другом месте — транспозиция.

Иногда негомологические структуры хромосом объединяются в одну — робертсоновская транслокация.

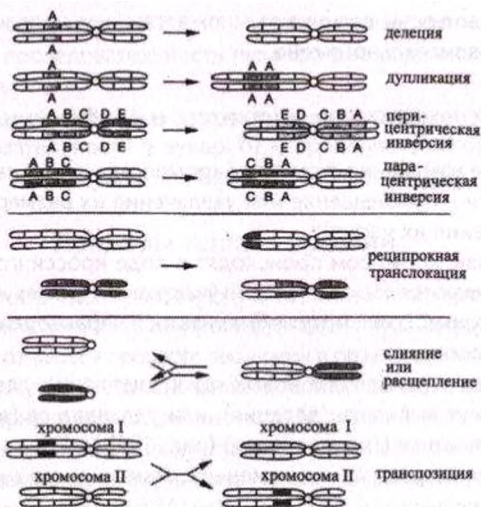


Рис. 191

Робертсоновская транслокация

Установлено, что два плеча крупной 2-й хромосомы человека соответствуют двум разным хромосомам современных человекообразных обезьян: 12-й и 13-й — у шимпанзе, 13-й и 14-й — у гориллы и орангутанга. Это слияние по типу робертсоновской транслокации двух обезьяньих хромосом. Описанные структурные изменения хромосом сопровождаются изменением генетической программы, получаемой клетками нового поколения после деления материнской клетки вследствие изменения количественного соотношения генов в хромосоме.

Геномные мутации

Геном клетки или организма — это половинное количество ДНК, включая ядерную и цитоплазматическую ДНК.

К геномным мутациям относят изменение числа геномов или числа отдельных хромосом.

Выделяют три типа геномных мутаций:

- 1) гаплоидия;
- 2) полиплоидия;
- 3) анеуплоидия.

Гаплоидия — это уменьшение числа хромосом вдвое, т.е. соматические клетки содержат одинарный набор хромосом (n). Гаплоидный набор хромосом содержится в норме только в половых клетках.

Естественная гаплоидия встречается в жизненном цикле низших грибов, бактерий и одноклеточных водорослей. У некоторых видов членистоногих гаплоидными являются самцы, развитие которых идет из неоплодотворенных яйцеклеток. Гаплоидные формы были получены в эксперименте у растений: пшеницы, кукурузы. Гаплоидию зародышей можно получить у животных при стимуляции развития яйцеклетки или сперматозоида.

Гаплоидные организмы мельче, у них проявляются рецессивные гены, они бесплодны.

Полиплоидия — увеличение числа хромосом, кратное гаплоидному набору в клетке. Встречаются триплоидные ($3n$), тетраплоидные ($4n$), пентаплоидные ($5n$) организмы. Большинство современных культивируемых растений сегодня — полиплоиды: пшеница, овес, рис, свекла, картофель, яблони, груши и т.д. (рис. 192). Полиплоидные растения имеют большую вегетативную массу и урожайность, на 20—50% выше по сравнению с диплоидными формами.

Среди животных полиплоидия встречается в основном среди гермафродитов (земляные черви), у некоторых насекомых, ракообразных и рыб. Полиплоидия может возникнуть в результате:

- 1) нарушения расхождения хромосом при митозе;
- 2) слияния клеток соматических тканей либо их ядер;
- 3) нарушений мейоза, приводящих к образованию гамет с нередуцированным числом хромосом.

У человека более 20% всех спонтанных аборт — это триплоидный набор хромосом в кариотипе. Такие особи погибают в первые часы жизни или дни после рождения. Тетраплоидию у человека наблюдают только в материале спонтанных абортов.

Анеуплоидия — изменение числа хромосом в клетках организма за счет потери (моносомия) или добавления (полисомия) отдельных хромосом.

Механизм анеуплоидии связан с нарушением расхождения хромосом при мейозе.

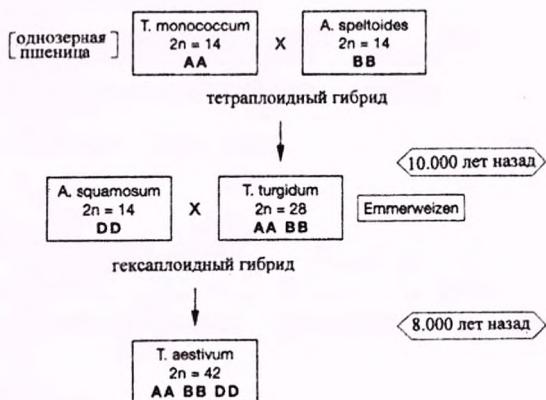


Рис. 192. Эволюция пшеницы

Современный сорт пшеницы *T. aestivum* является гексаплоидом, амфидиплоидным продуктом трех разных сортов с геномами А, В и D. В результате многих этапов гибридизации возникла современная форма. Современный гексаплоидный сорт пшеницы является примером возникновения аллополиплоидов путем ступенчатой гибридизации разных диплоидных исходных видов (сортов)

У человека моносомия по паре половых хромосом 45, XO совместима с жизнью (синдром Шерешевского — Тернера).

Известны полисомии по половым хромосомам и аутосомам:

47, XXУ — синдром Клайнфельтера; 47, XXX — трипло-Х; 47, 21+3 хр. — синдром Дауна.

Мутагенные факторы

Различают следующие мутагенные факторы:

1) факторы физической природы, к ним относятся различные виды излучений: R-лучи, α -, β - и γ -лучи, космические лучи, ультрафиолетовый свет, в меньшей степени — температура;

2) факторы химической природы — различные химические вещества, которые взаимодействуют с ДНК (рис. 193—195);

3) факторы биологической природы — это вирусы, которые внедряют информацию в геном клетки (бактерии).

Мутагенное действие ионизирующих излучений

К ионизирующим излучениям относят:

- 1) рентгеновские лучи;
- 2) γ - и космические лучи;
- 3) γ - и β -высокоэнергетические излучения;
- 4) ультрафиолетовые лучи.

Все виды этих излучений, проникая в клетку, выбивают электроны из внешней оболочки атомов или молекул, превращая их в положительные ионы. Освободившиеся электроны выбивают электроны из других атомов и молекул. Атомы, захватившие такие электроны, приобретают отрицательный заряд. Мутагенное действие ионизирующих излучений связано с разнообразным повреждением нуклеиновых кислот. При этом могут происходить:

- 1) разрывы углеводно-фосфатного скелета молекулы ДНК;
- 2) разрушение оснований, в результате чего происходит химическая перестройка оснований.

Повреждение нуклеотидных оснований происходит значительно чаще, чем сахаро-фосфатного скелета. Пиримидиновые основания в 2 раза чувствительнее к облучению, чем пуриновые основания. Наиболее радиочувствителен тимин. Чаще повреждается одна цепь ДНК. При двойных разрывах ДНК нарушается надмолекулярная структура ДНК. Частота индуцированных генных мутаций пропорциональна дозе облучения, тогда как частота хромосомных aberrаций под действие ионизирующего облучения возрастает пропорционально квадрату дозы. Наибольшей радиочувствительностью обладают клетки на стадии ранней профазы и во время синтетического периода интерфазы.

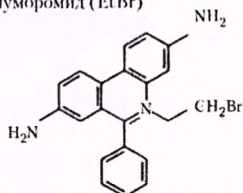
Ультрафиолетовые лучи проникают в ткани очень слабо, поэтому не воздействуют на половые клетки многоклеточных организмов.

Ультрафиолетовое излучение обладает мутагенными эффектами, воздействуя на бактериальные клетки и бактериофаги.

Мутагенное действие химических веществ

В настоящее время известно большое количество химических веществ, которые являются мутагенными, т.е. способными

а) Этидиумбромид (EtBr)



б) Встраивание этидиумбромид в двойную спираль молекулы ДНК



Рис. 193. Этидиумбромид и его мутагенное действие

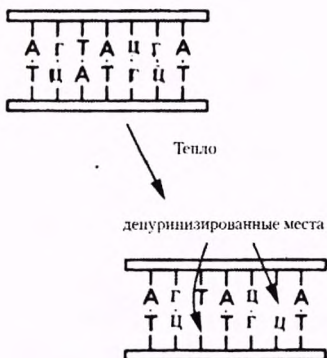
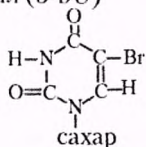
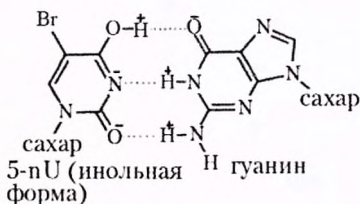
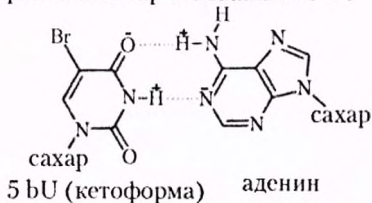


Рис. 194. Мутагенное действие тепла

а) 5-бромурацил (5-bU)



б) Образование пар оснований с 5 bU



в) Мутагенез с 5bU

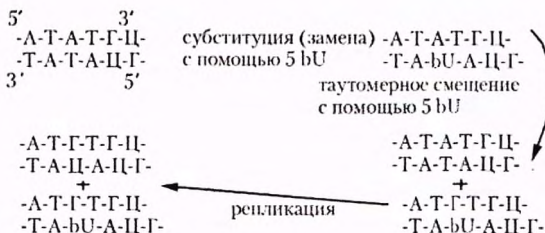


Рис. 195

вызывать в ДНК разного рода нарушения. Среди химических веществ, обладающих специфической мутагенной активностью, выделяют:

1) соединения, мутагенные в отношении как реплицирующейся, так и нереплицирующейся ДНК. К ним относятся алкилирующие соединения, окислители-восстановители.

Алкилирующие агенты — это большая группа химических мутагенов, которые переносят алкильные группы на биологические макромолекулы. Они являются источником для введения в молекулы реагирующих с ними веществ-радикалов (алкильных групп): метила (CH_3), этила (C_2H_5), пропила (C_3H_7) и т.д. К алкилирующим агентам относится множество групп химических соединений: этиленимины, алкилалкансульфаты, эпоксиды, многоатомные спирты, серный и азотистый иприт, который непосредственно взаимодействует с ДНК. Алкилирующие соединения вызывают поперечные сшивки цепей в молекуле ДНК, приводящие к разрыву хромосом и появлению хромосомных aberrаций. Под действием алкилирующих веществ могут образовываться сшивки ДНК — белок. Наиболее высокой мутагенной активностью обладают так называемые супермутагены, относящиеся к алкилирующим соединениям, — это нитрозометил, диэтилнитрозомочевина, этилметансульфат и др.;

2) соединения, мутагенные только в отношении реплицирующейся ДНК. К ним относятся производные пуринов и пиримидинов, акридиновые красители.

Аналоги оснований, по молекулярной структуре похожие на основания, входящие в цепи ДНК, приводят к мутациям, так как они могут существовать в альтернативных (таутомерных) состояниях. Так, 5-бромурацил спаривается с аденином, в более редком таутомерном состоянии — с гуанином. В связи с этим 5-бромурацил индуцирует транзицию.

Акридиновые красители (акридин оранжевый, профлавин и др.) индуцируют мутации типа сдвига рамки считывания. Они внедряются между соседними основаниями в ДНК. Молекула ДНК увеличивается на длину одного нуклеотида и при последующей репликации напротив внедряющейся молекулы красителя встраивается дополнительный дезоксирибонуклеотид, что и изменяет рамку считывания.

Мутагенное действие биологических агентов

Вирусы черной оспы, кори, ветряной оспы, эпидемического паротита, гепатита, краснухи и другие способны вызывать разрывы хромосом. Они могут усиливать темпы мутации клеток хозяина за счет подавления активности репарационных систем. Есть данные о возрастании числа хромосомных перестроек в клетках человека после пандемий, вызванных вирусами гриппа.

Внутри собственного генома существуют факторы, вызывающие мутации и нестабильность. Такими факторами являются транспозиции мобильных элементов и ретровирусов.

Транспозиции мобильных элементов

Кроме гомологичной рекомбинации общая стабильность генома нарушается мобильными последовательностями, называемыми транспозируемыми элементами, или транспозонами. Существуют различные классы отдельных последовательностей ДНК, которые способны переноситься в другие положения внутри генома. Этот процесс использует механизм рекомбинации, но не приводит к обмену. В наибольшей степени транспозоны перемещаются непосредственно из одного положения генома в другой без промежуточных продуктов, таких как плаزمиды или фаговая ДНК. Это приводит к перестройкам, которые создают новые последовательности и изменения функций в целевых последовательностях. Транспозоны могут быть основным источником эволюционных изменений в геноме. В некоторых случаях они вызывают болезни при встраивании в функционирующий ген. Ниже представлены три примера: инсерция последовательностей (*IS*), транспозоны (*Tn*) и ретрозлементы, перемещающиеся через РНК-промежуточные стадии.

IS-элементы — инсерционные последовательности

IS-элементы (от англ. *insertion sequence* — последовательности вставки) — это сегменты ДНК, от 1000 до 3000 нуклеотидов (рис. 196), содержащие минимальное число генов, способные целыми блоками перемещаться из одного участка в другой (рис. 200). *IS*-элементы содержат лишь те гены, которые кодируют транспозазу, необходимую для их собственного перемещения на новое место — транспозиции. *IS*-элементы, встраиваясь в участки ДНК, могут вызывать мутации, разрушая кодирующие, или регуляторные, последовательности.

Нахождение *I*S-элементов в хромосоме при кроссинговере между ними может вызвать делеции или инверсии.

Транспозоны

Элементы (*Tn*) — транспозоны — устроены значительно сложнее (рис. 197). Это более крупные мобильные элементы, состоящие из 5—10 тыс. нуклеотидов, с теми же свойствами, что и *I*S-элементы, но содержащие также гены, не имеющие непосредственного отношения к транспозиции (гены устойчивости к антибиотикам, токсинам). Таким образом, для транспозонов характерны те же гены, которые имеются в плазидах. Сложные транспозоны имеют центральный район, содержащий гены, а на обоих концах транспозона расположены *I*S-элементы. Два *I*S-элемента, расположенных рядом, способны перемещаться вместе, захватывая заключенные между ними транспозоны.

Простые транспозоны также содержат гены устойчивости к антибиотикам, на концах не содержат *I*S-элементы. Встраивание мобильных элементов в какой-либо ген может привести к его инактивации.

Инсерционные последовательности (IS) и транспозоны (Tn)

Характерная черта перемещения инсерционных последовательностей — это присутствие пары коротких прямых повторов целевой ДНК с обоих концов. Инсерционная последовательность сама по себе несет инвертированные повторы около 9—13 п.н. с обоих концов. В зависимости от принадлежности к определенному классу она состоит из около 750—1500 пар оснований, которые содержат длинные простые кодирующие области для транспозазы (фермента, ответственного за транспозицию мобильных последовательностей). Целевой выбор определенного сайта встраивания может происходить как случайно, так и в определенном положении. Присутствие инвертированных концевых повторов и коротких прямых повторов хозяйской ДНК приводит к характерному строению. Транспозоны несут центральную область с генетическими маркерами, не связанными с транспозицией, например устойчивость к антибиотикам. Они фланкированы либо прямыми повторами (име-

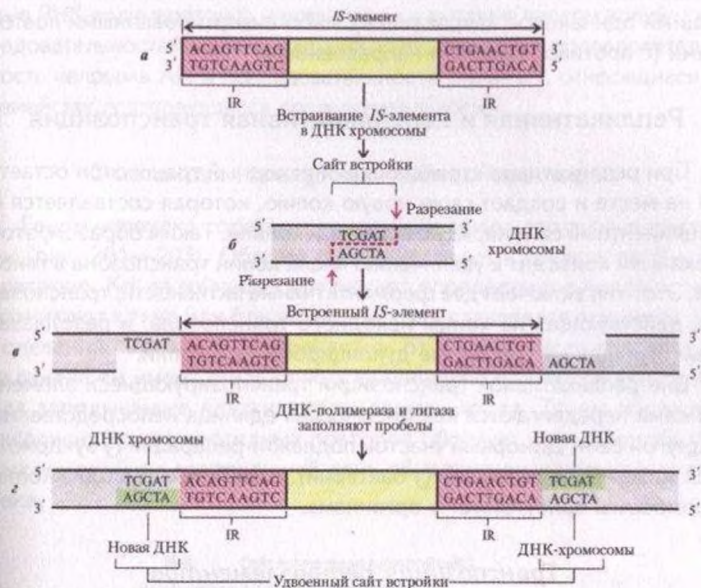


Рис. 196. Схема строения и инсерции IS-элемента в хромосомную ДНК бактерии [Russell, 1998. P. 657]:

а – IS-элемент с IR-повторами длиной 9 пн; б – образование двуцепочечного надреза в ДНК бактерии; в – инсерция IS-элемента в участке надреза; г – достраивание фрагмента ДНК в участке надреза и образование дупликаций геномной ДНК бактерии

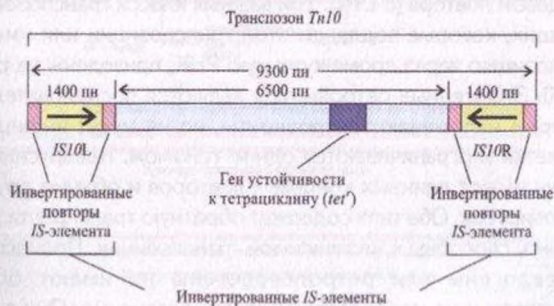


Рис. 197. Схема строения транспозона

ющими одинаковое направление), либо инвертированными повторами (с противоположным направлением).

Репликативная и нерепликативная транспозиция

При репликативной транспозиции исходный транспозон остается на месте и создает свою новую копию, которая составляет реципиентный сайт наряду с исходной копией. Таким образом, этот механизм приводит к увеличению числа копий транспозона в геноме. Этот тип включает две ферментативные активности: транспозаза, действующая на концы исходного транспозона, и резолваза, действующая на удвоенные дуплицированные копии.

Вне репликативной транспозиции транспозирующиеся элементы сами передвигаются как физическая единица непосредственно в другой сайт. Донорный участок подлежит репарации (у эукариот) или может быть разрушен (у бактерий), если более чем одна копия хромосомы присутствует у организма.

Транспозиция ретроэлементов

Ретротранспозиция требует синтеза копии РНК-встраиваемого ретроэлемента. Ретровирусы, включающие вирус иммунодефицита человека и РНК-вирусы, опухолевые вирусы являются важными ретроэлементами. Первым шагом в ретротранспозиции является синтез копии РНК интересующего ретроэлемента, за которым следует обратная транскрипция до последовательности полиаденилирования в 3'-длинном концевом повторе (3'LTR). Три важных класса транспозонов млекопитающих, которые подлежат этой транспозиции или имеют ретротранспозицию через промежуточную РНК, приведены на рисунках 198—200. Эндогенные ретровирусы являются последовательностями, которые напоминают ретровирусы, но не могут инфицировать новые клетки и ограничиваются одним геномом. Невирусные транспозоны не имеют длинных концевых повторов и обычно других частей ретровирусов. Оба типа содержат обратную транскриптазу и, следовательно, способны к независимой транспозиции. Процессированные псевдогены или ретропсевдогены не имеют обратной транскриптазы и не могут перемещаться независимо. Они включают две группы: псевдогены с небольшим числом копий, транскрибируе-

мые РНК-полимеразой II, и псевдогены с высоким числом копий последовательностей млекопитающих SINE, такие как последовательность человека Alu и последовательности мыши B1, относящиеся к семейству повторяющихся последовательностей.

Экспансия тринуклеотидных повторов

Геном человека содержит тандемные тринуклеотидные повторы (рис. 201—203). Обычно они существуют в группах по 5—35 повторов. Когда их число превышает определенное число и они возникают в гене или близко к нему, они становятся причиной заболеваний. Однажды отклонившись от нормы, число повторов в дальнейшем имеет тенденцию к увеличению при прохождении через зародышевые клетки или во время митоза. Таким образом, экспансия тринуклеотидных повторов образует класс нестабильных мутаций, на сегодняшний день обнаруженных только у человека.

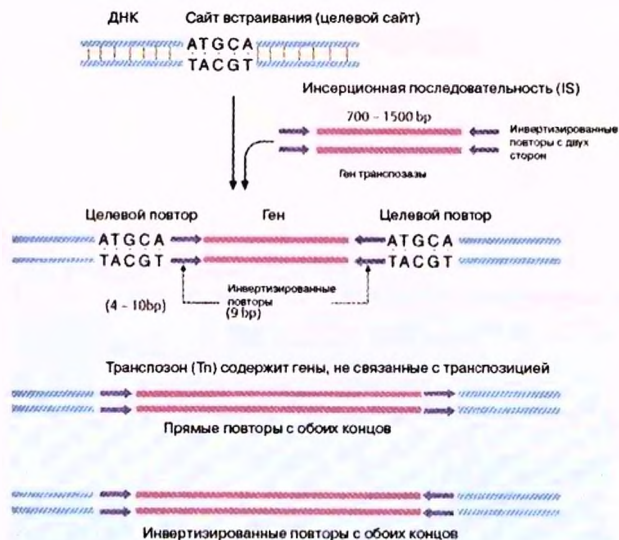
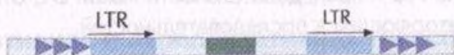


Рис. 198. Инсерционные последовательности (IS) и транспозоны (Tn)

① Эндегенный ретровирус



② Ретротранспозон



③ Процессированный псевдоген

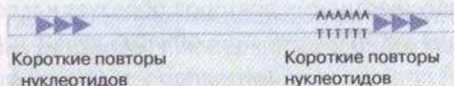


Рис. 199. Ретроэлементы млекопитающих

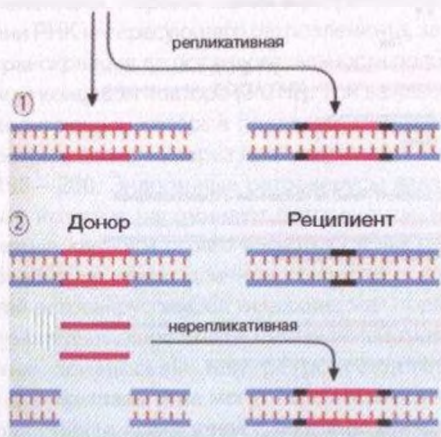


Рис. 200. Репликативная и нерепликативная транспозиция:

1 — репликативная транспозиция. Транспозол остается в донорской ДНК и встраивается в новое место; 2 — нерепликативная транспозиция. Из исходного участка ДНК вырезается транспозол и встраивается в новый участок

Различные типы тринуклеотидных повторов и их экспансия

Тринуклеотидные повторы могут различаться в соответствии с их локализацией относительно гена. Они более длинные вне генов и более умеренные внутри кодирующих областей. При нескольких тяжелых неврологических заболеваниях ненормально расширенные ЦАГ-повторы являются частью гена. ЦАГ-повторы кодируют серию глутаминов (*polyglutamine tracts*). При нормальном числе повторов, которое варьируется в разных генах, функции генов остаются нормальными. Однако увеличенное число повторов ведет к ненормальному генному продукту с измененными функциями. Тринуклеотидные повторы также возникают вне кодирующих регионов гена. Довольно обычными типами являются ЦГГ- и ГЦЦ-повторы. Увеличение числа этих повторов может быть очень значительным — до 1000 или более. Первый этап экспансии обыч-

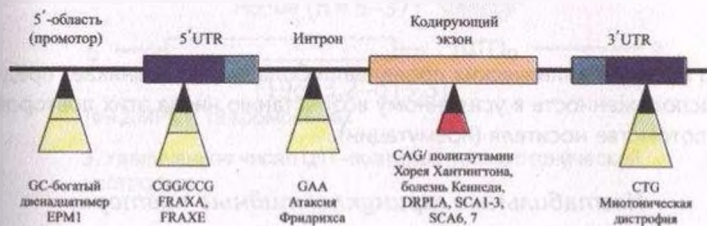


Рис. 201. Схема локализации внутригенных повторов и определяемые ими болезни у человека [Mandel, 1997. P. 768].

UTR — нетранслируемые районы гена. Треугольниками показана относительная степень повторяемости тринуклеотидов: черные районы — число повторов в нормальном гене, зеленые — экспансия (увеличение числа копий тандемных повторов), соответствующая нестабильной предмутации, красные и желтые — еще большая степень экспансии, которая ведет к болезни. Внизу указаны типы тринуклеотидов и названия болезней: EPM1 — прогрессирующая миоклональная эпилепсия; FRAXA — синдром умственной отсталости, связанный с хрупким (*fragile*) сайтом в X-хромосоме; FRAXE — умеренная умственная отсталость; спинобульбарная мышечная атрофия (болезнь Кеннеди); DRPLA — дентаторубропаллидолузианская атрофия; SCA 1–3, 6 — спиноцеребральная атаксия; SCA 1–3 — спиноцеребральная атаксия с макулярной дегенерацией

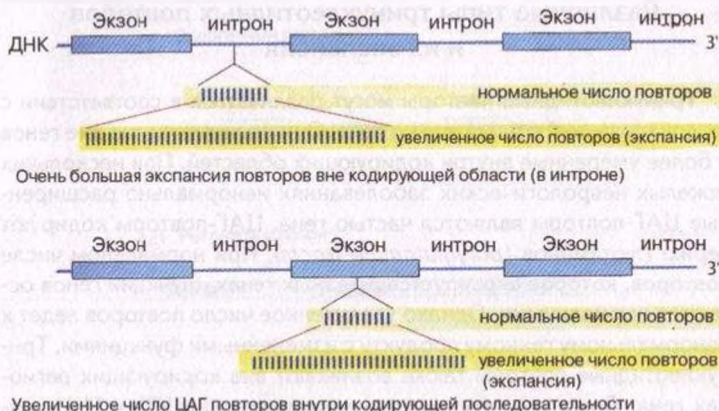


Рис. 202. Различные типы экспансии тринуклеотидных повторов

но не имеет клинических проявлений болезни, но возникает предрасположенность к усиленному возрастанию числа этих повторов в потомстве носителя (премутации).

Нестабильные тринуклеотидные повторы в случаях различных заболеваний

Нарушения, возникающие в результате увеличения числа тринуклеотидных повторов, могут различаться в соответствии с типом тринуклеотидных повторов, например последовательность из трех нуклеотидов, их положение в зависимости от участвующего гена и их клинические проявления. Все они вовлекают центральную и периферическую нервную систему. Заболевание I типа, вызванное тринуклеотидом, характерно для ЦАГ-тринуклеотидного повтора внутри кодирующей области различных генов. Триплет ЦАГ кодирует глютамин. Около 20 ЦАГ-повторов обычно являются нормой в этих генах. Таким образом, около 20 глютаминов появляются в генном продукте. В состоянии болезни число глютаминов в белке значительно увеличивается. Таким

Мышечная слабость
миотония, маскообразное лицо
Катаракта, алопеция
различная экспрессия
Аутосомнодоминантное
увеличенное число ЦТГ-повторов



1. Основные проявления

2. Фенотип

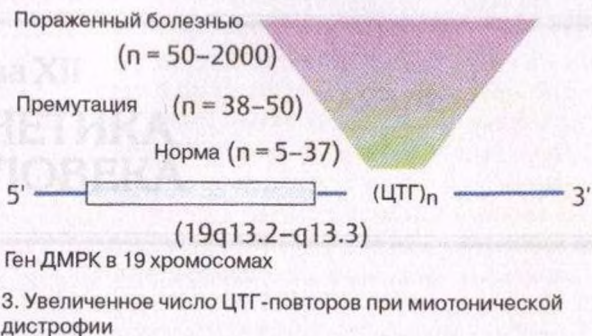


Рис. 203. Миотоническая дистрофия. (1) — основные проявления, (2) — фенотип, (3) — увеличение числа ЦТГ-повторов при миотонической дистрофии

образом, они совместно рассматриваются как полиглутаминовые нарушения.

Тринуклеотидные болезни II типа характеризуются расширением числа таких повторов, как ЦТГ, ГАА, ГЦЦ или ЦГГ-тринуклеотидов внутри некодирующей области участвующего гена, либо в 5'-конце (ГЦЦ при синдроме ломкой хромосомы, тип А, FRAXA), либо при 3'-конце (ЦГГ при FRAXE ; ЦТГ при миотонической дистрофии), либо в интроне (ГАА при атаксии Фрейдриха).

Принцип лабораторной диагностики нестабильных тринуклеотидных повторов

Лабораторная диагностика сравнивает размеры тринуклеотидных повторов в двух аллелях проверяемого гена. Ген может различаться очень большим увеличением числа повторов вне кодирующей последовательности (от 50 до более 1000 повторов) и умеренным увеличением внутри кодирующих последовательностей (от 20 до 100—200).

Глава XII

**ГЕНЕТИКА
ЧЕЛОВЕКА**

Достижения общей генетики связаны с объектом исследования: среди растений — горох и кукуруза; среди животных — мухадрософила и мышь; среди микроорганизмов — кишечная палочка и нейроспора. Теперь наступила новая эпоха, когда одним из главных объектов генетических исследований стал человек.

Исследование генетики человека встречает ряд трудностей:

- 1) невозможность произвольного скрещивания;
- 2) позднее наступление половой зрелости;
- 3) малое число потомков в семье;
- 4) невозможность уравнивания условий жизни потомков;
- 5) социальное неравенство, которое затрудняет реализацию наследственных потенций человека.

Несмотря на указанные трудности, успехи в познании генетики человека весьма значительны.

Реализован проект «Геном человека». В ближайшее десятилетие будут расшифрованы гены, которые отвечают за те или иные признаки.

Пока идентифицированы более 1000 генов человека, что, по мнению ряда исследователей, составляет около 5% от их общего числа.

Например, более 100 генов идентифицированы в X-хромосоме и более 30 — в больших хромосомах (1—6 пар).

Современные методы окрашивания позволили выявить до 1000 специфических полос на всех 23 хромосомах человека.

На хромосому при этом в среднем приходится 50 полос. Их количество у разных хромосом различно. Это дает возможность точно идентифицировать хромосомы человека даже неспециалисту.

У человека изучено большое количество разнообразных признаков, в том числе патологических, которые для других организмов неизвестны.

Сегодня у человека выявлено более 4000 наследственных болезней.

В настоящее время уже достаточно известно о наследовании таких морфологических признаков человека, как брахиодактилия (короткопалость), альбинизм, пятнистость кожи и другие морфологические признаки.

Хорошо изучена генетика крови.

Достигнуты успехи в области изучения многих биохимических признаков, т.е. связанных с нарушением ферментативной активности.

Изучено более 100 так называемых хромосомных болезней. С некоторыми из них мы познакомимся.

Почти все особенности психической и творческой деятельности человека настолько сложны и настолько сильно обусловлены внешними, в том числе и социальными, факторами, что их генетический анализ трудно осуществим, хотя их наследственная обусловленность не вызывает сомнений.

Кариотип человека

Кариотип человека как совокупность данных о числе, размерах и структуре хромосом установлен точно только в 1956 г. (рис. 204, 205).

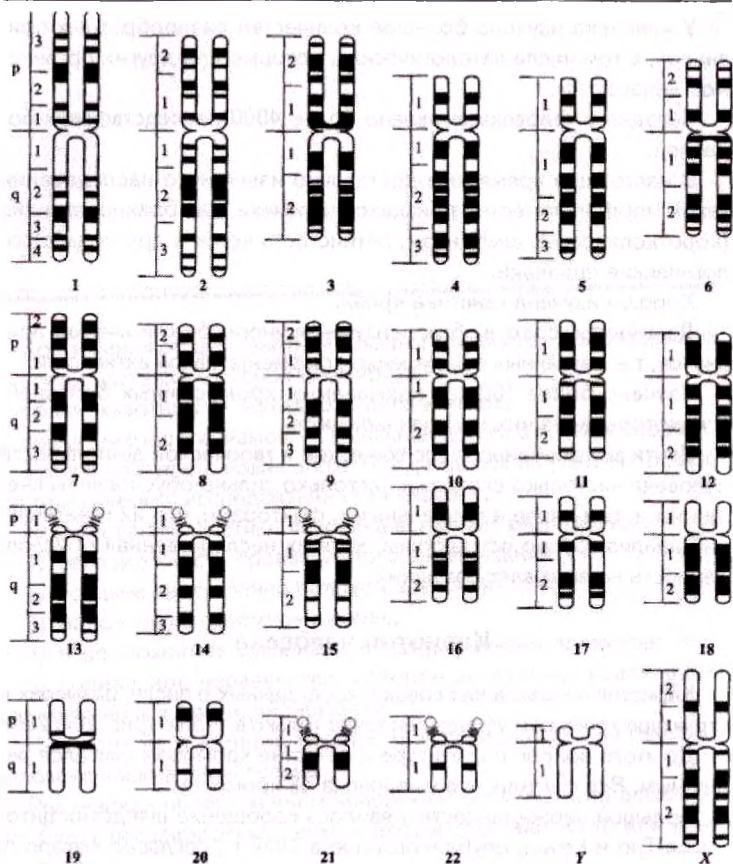
До этого вопрос о структуре и качестве хромосом считался решенным. Все считали, что у человека 48 хромосом.

Большой неожиданностью явилось сообщение шведских цитологов Tjio и Levan, опубликованное в 1956 г., согласно которому число хромосом в культуре фибробластов легкого от трех эмбрионов человека было равно 46.

Это подтвердили английские цитологи Ford и Hamerton, установившие наличие 46 хромосом в сперматогониях и 23 бивалента в сперматоцитах человека. Размеры хромосом человека в раскрученном состоянии колеблются от 1 до 2 м.

Унификация номенклатуры хромосом была проведена специальной комиссией в 1960 г. в американском городе Денвере.

В 1963 г. в Лондоне была вторая конференция по стандартизации.



Схематическое изображение G-сегментов хромосом человека и системы их обозначения согласно решениям Парижской конференции в 1971 г.

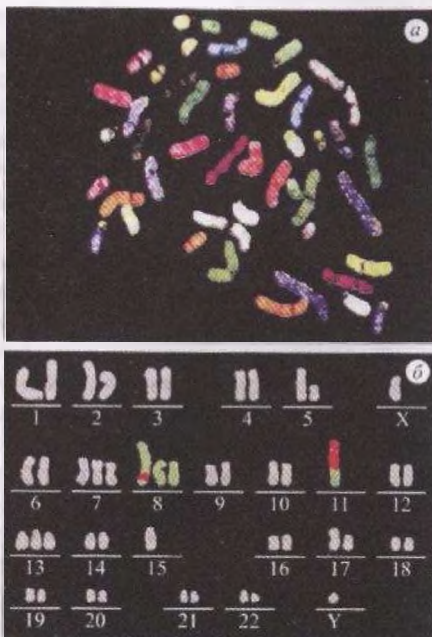
Цифрами обозначены номера хромосом; X и Y — половые хромосомы;

p — короткое, q — длинное плечо хромосом

Рис. 204. Картиотип человека

В 1971 г. в Париже был сделан пересмотр с учетом дифференциальной окраски.

На основе унификации все хромосомы человека были разбиты на 7 групп при рутинной (простой, сплошной) окраски.



24-цветная FISH-окраска хромосом человека [Рубцов, Карамышева, 2000];

а — метафазная пластинка, на которой каждая хромосома окрашена в свой псевдоцвет; б — наличие зеленого и красного псевдоцветов в 8-й и 11-й хромосомах свидетельствует о транслокации между ними

Рис. 205. Кариотип человека при использовании метода флуоресцентной гибридизации *in situ*

В основу унификации положены:

- 1) размер хромосом;
- 2) положение центромеры;
- 3) наличие второй перетяжки и слутников;

Что представляют эти группы.

Группа I, А. Сюда входят 1, 2, 3-я хромосомы.

Крупные хромосомы: метацентрические — 1-я и 3-я и субметацентрические — 2.

Группа II, В — 4-я, 5-я хромосомы.

Крупные субметацентрические. Хромосомы этой пары ни размером, ни морфологически не различаются между собой.

Группа III, С — 6—12-я хромосомы.

Хромосомы средних размеров с субмедианным расположением центромер.

X-хромосома сходна с самыми длинными хромосомами этой группы.

Группа IV, Д — 13, 14, 15-я хромосомы средних размеров, с почти терминальными центромерами, «acroцентрические» хромосомы.

Все три пары хромосом имеют вторичные перетяжки и спутники.

Группа V, Е — 16, 17, 18-я хромосомы.

Довольно короткие хромосомы: метацентрическая (16-я хромосома) и субметацентрические (17-я и 18-я хромосомы).

Группа VI, F — 19-я, 20-я хромосомы.

Короткие хромосомы с почти медиальным расположением центромер, между собой неразличимы.

Группа VII, G — 21—22-я хромосомы.

Очень короткие acroцентрические хромосомы. Обе пары хромосом имеют вторичные перетяжки и спутники.

У-хромосома — маленькая acroцентрическая хромосома, сходная по размерам и форме с хромосомами 21 и 22, но не имеющая спутников.

Медицинская генетика

Медицинская генетика — составная часть генетики человека — является важнейшим разделом современной генетики. Объектом медицинской генетики является человек.

Основоположник клинической генетики в нашей стране — С.Н. Давыденков определял медицинскую генетику как науку, изучающую наследственность и изменчивость с точки зрения патологии, т.е. болезни.

Основной вопрос изучения медицинской генетики — это наследственная патология.

Медицинская генетика опирается на законы общей генетики.

В основу генетической классификации наследственных болезней положен этиологический принцип, а именно: тип мутаций и характер взаимодействия со средой. Сегодня известно более 4000

видов болезней. Наследственные болезни классифицируют на пять групп.

- 1) генные болезни;
- 2) хромосомные болезни;
- 3) болезни с наследственной предрасположенностью;
- 4) генетические болезни соматических клеток;
- 5) болезни с генетической несовместимостью матери и плода.

Для наследственных болезней характерны:

- 1) семейный характер болезней;
- 2) врожденный характер заболевания (в большинстве случаев);
- 3) хроническое течение;
- 4) множественные патологические изменения органов и систем (врожденные пороки развития);
- 5) резистентность к основным методам терапии.

Большая часть наследственной патологии реализуется на ранних этапах онтогенеза человека: 25% заболеваний — внутриутробно, 45% — допубертатно, 20% — пубертатно и лишь 10% — у людей старше 20 лет.

Генные болезни

Генные болезни — это разнородная по клиническим проявлениям группа заболеваний, обусловленная мутациями на генном уровне. Общая частота генных мутаций в популяции составляет 1—2%. Моногенные формы генных болезней наследуются согласно законам Менделя.

У человека описаны следующие виды генных мутаций, обуславливающие наследственные болезни: миссенс, нонсенс, сдвиг рамки считывания (делеции, вставки), нарушения сплайсинга, увеличение числа тринуклеотидных повторов.

Любой из этих видов мутаций может вести к наследственным болезням.

Мутации, вызывающие наследственные болезни, могут затрагивать как кодирующую, так и регуляторную часть гена, нарушая деятельность ферментов и белков.

Патогенез болезни развивается соответствующим образом в зависимости от того, какой продукт контролируется конкретными генами и какой характер нарушения его выработки происходит при мутациях.

В основу классификации генных болезней может быть положено три разных принципа.

Генетический принцип классификации основан на типе наследования той или иной болезни. Выделяют группы заболеваний, которые наследуются по основным типам: аутосомно-доминантные, аутосомно-рецессивные, X-сцепленные доминантные, X-сцепленные рецессивные, Y-сцепленные (голандрические) и митохондриальные.

Клинический принцип классификации основан на соотношении болезни к определенной группе в зависимости от поражения той или иной системы или органа. Выделяют болезни нервные, нервно-мышечные, кожные, эндокринные, крови, опорно-двигательного аппарата, психические и др. Клиническая классификация достаточно условна.

Патогенетический принцип классификации основан на выделении патогенеза заболевания. По этой классификации выделяют три группы наследственных болезней: болезни обмена веществ, врожденные пороки развития (монокенной природы) и комбинированные состояния. Среди болезней обмена веществ, в свою очередь, определяют группы по типам обмена (болезни углеводного обмена, обмена липидов, обмена витаминов). Большую группу монокенных болезней составляют гемоглобинопатии — болезни, связанные с нарушениями строения и функционирования гемоглобина.

Таблица 13

**Частота наиболее распространенных монокенных
болезней человека**

Заболевание	Тип наследования	Частота
Семейная гиперхолестеролемиа	АД	1:500 гетерозигот
Полипоз толстой кишки	АД	1:15000
Синдром Марфана	АД	1:20000
Наследственный сфероцитоз	АД	1:5000
	АД	1:1250
Хорея Гентингтона	АД	1:25000
Несовершенный остеогенез	АД	1:20000
Миотоническая дистрофия	АД	1:10000
Нейрофиброматоз 1 типа	АД	1:3000
	АД	1:15000

Заболевание	Тип наследования	Частота
Альбинизм	АР	1:10000
Муковисцидоз	АР	1:3500
Спинальная мышечная атрофия	АР	1:6000
Фенилкетонурия	АР	1:12000
Гемофилия А	Х-сцепленный	10000
Прогрессирующая мышечная дистрофия Дюшенна	Х-сцепленный	1:3500
Тестикулярная феминизация	Х-сцепленный	1:64000
Синдром Мартина—Белла	Х-сцепленный	1:1250 1:4000

АД — аутосомно-доминантный,

АР — аутосомно-рецессивный.

Примеры некоторых генных болезней

Альбинизм

Альбинизм (глазо-кожный) — болезнь обусловлена отсутствием синтеза фермента тирозиназы, в результате чего не синтезируется пигмент меланин. Характерна обесцвеченность кожи, волос, глаз, независимо от расы и возраста. Кожа розово-красная. Имеет предрасположенность к злокачественным новообразованиям. Волосы белые или желтоватые. Радужка серо-голубого цвета, но может быть и розоватая из-за отражения света от глазного дна, где располагаются сосуды. Больным свойственна выраженная светобоязнь, их зрение снижено и не улучшается с возрастом (рис. 206).

Альбинизм встречается с частотой 1:39000, наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Ген локализован на длинном плече 11-й хромосомы.

Фенилкетонурия (ФКУ)

Фенилкетонурия — аутосомная-рецессивная болезнь аминокислотного обмена.

Патологические проявления связаны с недостаточностью печеночного фермента — фенилаланингидроксилазы (рис. 207).

ФКУ — это врожденное нарушение аминокислотного обмена. Недостаточность фермента ведет к нарушению процесса гидроксилирования (превращения) фенилаланина в тирозин.

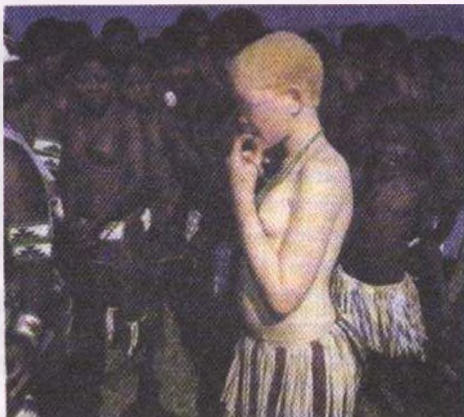


Рис. 206. Альбилизм в популяции чернокожих африканцев

Вследствие этого фенилаланин накапливается в крови больных в больших концентрациях (0,5—0,6 г/л, при норме 0,003—0,04 г/л). Это приводит к частичному превращению фенилаланина в фенилуксусную и фенилмолочную кислоту, накопление которых в крови совместно с фенилаланином оказывает токсическое действие на мозг ребенка — дефект умственного развития.

Нарушение обмена фенилаланина сопровождается также нарушением синтеза пигмента меланина — у больного отмечается слабая пигментация волос и радужки глаз.

Это заболевание диагностируется по появлению в моче фенилпировиноградной кислоты или фенилаланина в крови.

Генетика ФКУ хорошо изучена.

Ген фенилаланин-гидроксилазы локализован в длинном плече 12-й хромосомы, частота встречаемости заболеваний составляет 1:10 000 новорожденных. Болезнь наследуется по аутосомно-рецессивному типу.

Синдром Марфана

Это наследственная доминантная болезнь соединительной ткани, при которой обнаруживается мутация в гене белка-фибрилина соединительной ткани человека. Белок-фибриллин входит в

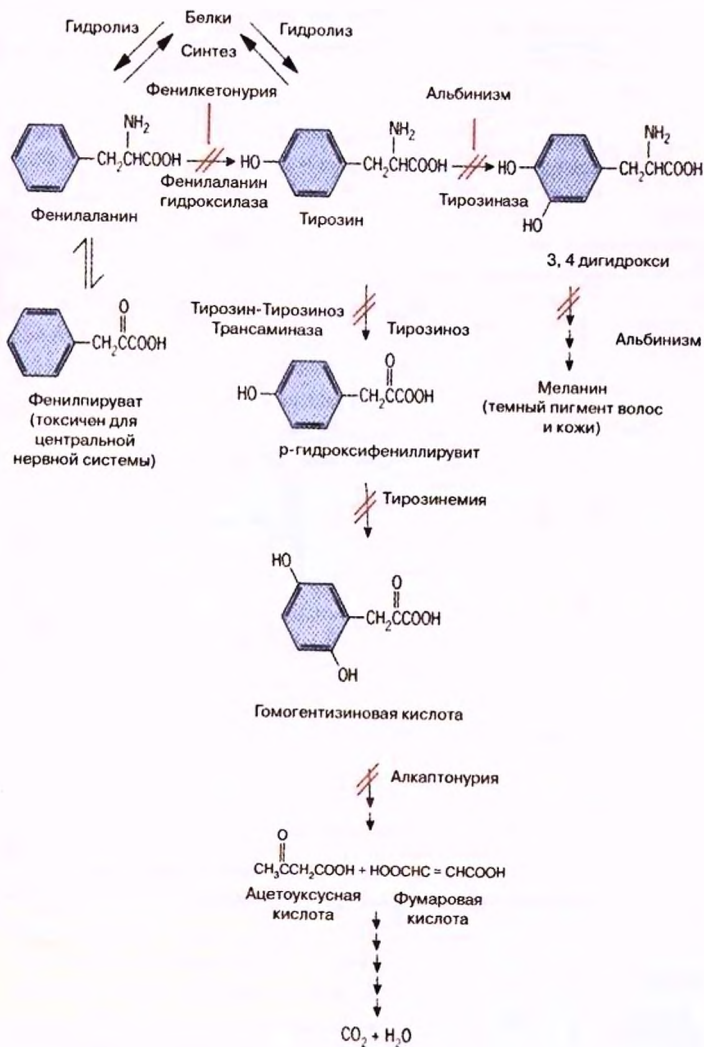


Рис. 207. Различные генные болезни, возникающие в результате нарушений обмена фенилаланина: фенилкетонурия, альбинизм, тирозиноз, тирозинемия, алкаптонурия

состав эластических волокон соединительных тканей. Без структурной поддержки фибриллина многие ткани теряют свою прочность. Эта мутация приводит к блоку его синтеза, соответственно, соединительная ткань имеет повышенную растяжимость. Это приводит к удлинению конечностей, фаланг пальцев («паучьи пальцы»), вывиху хрусталика, аневризме аорты и др. Предполагается, что от синдрома Марфана страдали Эхнатон, Никколо Паганини, Авраам Линкольн, К.И. Чуковский.

Частота синдрома Марфана в популяции составляет 1:10 000—1:15 000.

Гемоглинопатии

Гемоглинопатии — это болезни, связанные с наследственным нарушением синтеза гемоглобина. Выделяют качественные (структурные) и количественные их формы. Первые характеризуются изменением первичной структуры белков гемоглобина, что может приводить к нарушению его стабильности и функции. При количественных формах структура гемоглобина остается нормальной, снижена лишь скорость синтеза глобиновых цепей. Среди гемоглинопатий наиболее известны талассемия и серповидно-клеточная анемия.

Талассемия

Патология обусловлена снижением скорости синтеза полипептидных цепей нормального гемоглобина А. Ее название происходит от греческого «Таласса» — Средиземное море. Полагают, что со средиземноморским регионом связано происхождение большинства носителей гена талассемии (рис. 208).

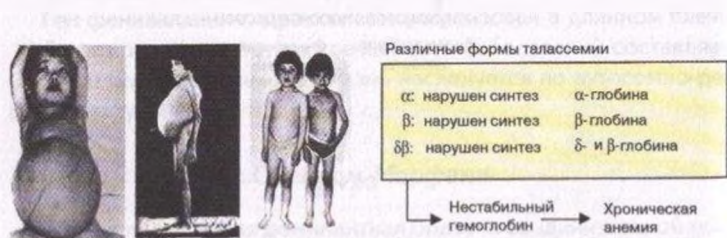


Рис. 208. Талассемия, хроническая анемия

Гомозиготная (большая) талассемия, она же — анемия Кули — вызывается резким снижением образования гемоглобина HbA и заканчивается быстрой гибелью в первые месяцы жизни ребенка. Для гетерозигот характерно снижение содержания Hb, изменение формы эритроцитов и укорочение продолжительности их жизни. При этом дети могут доживать до 5—8 лет, а при легких формах — до взрослого возраста.

Серповидно-клеточная анемия

Серповидно-клеточная анемия — наследственное заболевание, вызванное изменением структуры молекулы нормального гемоглобина HbA. Это генная (миссенс) мутация, обусловленная заменой глутаминовой кислоты на валин в шестом триплете гена, кодирующего в-цепь Hb. Мутантный гемоглобин получил название HbS. В условиях низкого парциального давления кислорода эритроциты больных приобретают форму серпа (рис. 209).

Заболевание выявил в 1910 г. Дж. Херик у студента-негра, страдающего тяжелой формой анемии. У гетерозигот аномальный гемоглобин составляет 20—45%, у гомозигот — 60—99% общего гемоглобина. Наибольшее количество гетерозиготных носителей аномального гемоглобина (HbS) обнаружено в эндемичных по малярии регионах планеты — в Центральной Африке, Средиземноморье, Индии, странах Ближнего и Среднего Востока, что связано с устойчивостью обладателей такого генотипа к малярии.

Миодистрофия Дюшенна

Миодистрофия Дюшенна является одной из частых форм многочисленных нервно-мышечных заболеваний. Генетически она относится к X-сцепленным рецессивным летальным заболеваниям. Мышечная дистрофия характеризуется прогрессирующими дегенеративными изменениями в поперечно-полосатой мускулатуре.

Миодистрофия Дюшенна связана с мутацией гена белка дистрофина. Этот белок входит в состав мышечных волокон, поддерживая целостность мембраны. Процесс атрофии мышц развивается во всем организме и затрагивает сердце (кардиомиопатия), что становится причиной летального исхода. Частота миодистрофии Дюшенна составляет 3 на 10 000 мальчиков.

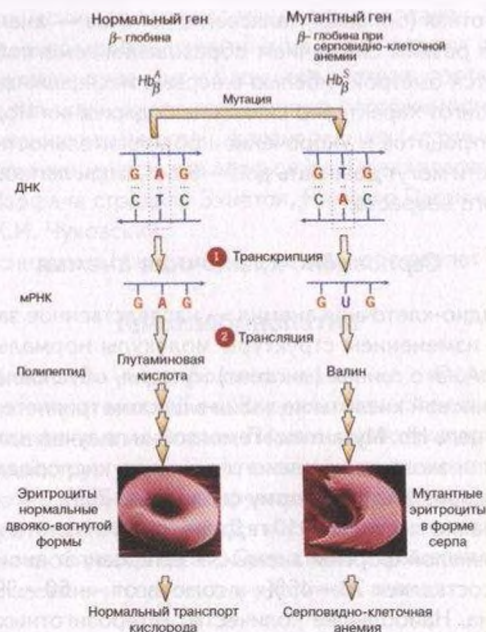


Рис. 209. Механизм возникновения серповидно-клеточной анемии

С X-хромосомой человека связан ряд других генных X-сцепленных заболеваний. Для ряда генов, обуславливающих развитие данного заболевания, определена локализация в X-хромосоме.

Хромосомные болезни

Хромосомные болезни — это большая группа врожденных наследственных болезней, клинически характеризующихся множественными пороками развития. В их основе лежат хромосомные или геномные мутации.

Благодаря интенсивному изучению хромосом человека за последние 40 лет сложилось учение о хромосомной патологии.

Число описанных типов хромосомных аномалий приближается к 1000. Это в основном патология внутриутробного периода, спонтанные аборт, выкидыши.

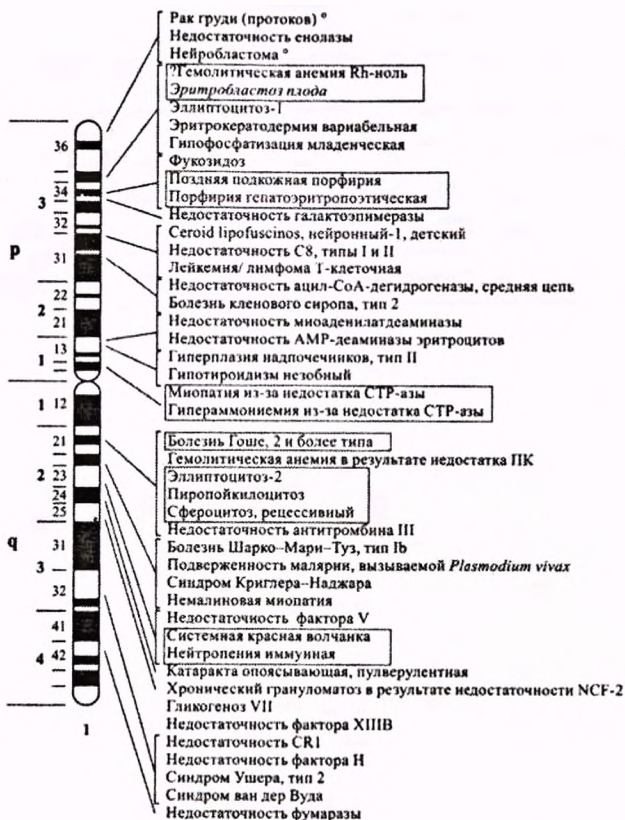


Рис. 210. Гены болезней, картированные в первой хромосоме [McKusick, 1992. — Из: Пузырев, 1996. С. 25].

Рамкой обведены аллельные состояния; кругом — новообразования, связанные со специфической хромосомной перестройкой, онкогеном или потерей гетерозиготности опухолевых клеток; курсивом отмечена несовместимость матери и плода; p — короткое, q — длинное плечо; 1-3, 1-4 — районы хромосом

Из них более 100 форм имеют клиническую картину и называются синдромами.

Что касается хромосомных мутаций, то все их типы (делеция, дупликация, инверсия, транслокация) обнаружены у человека.

У человека в тканях абортированных зародышей обнаруживаются три типа геномных мутаций: тетраплоидия, триплоидия, анеуплоидия.

При этом из всех вариантов анеуплоидий жизнеспособными являются только полисомия и моносомия по половым хромосомам. Пример — XXX, XXXY, XXXYYY.

Из моносоимий встречается только моносомия — 45, XO.

Причины геномных мутаций — нерасхождение гомологичных хромосом при мейозе.

Что можно наблюдать, если происходит нерасхождение половых хромосом?

Синдром трисомии по X-хромосоме XXX

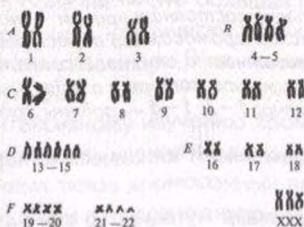
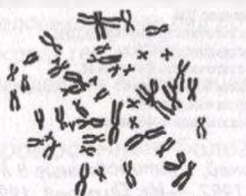
Этот синдром впервые описан в 1959 г. в результате цитологических исследований большого контингента женщин. Эта аномалия в системе половых хромосом получила название синдрома трипло-X (рис. 211).

Частота рождения 1,4:1000 девочек.

Это пограничное состояние между нормой и патологией характеризуется тем, что в клетках оболочки полости рта при цитологическом обследовании у таких женщин обнаруживаются два тельца Барра вместо одного.



a



b

Рис. 211. Фенотип кариотип

Во внешнем облике женщины с набором половых хромосом XXX часто не имеется каких-либо отклонений по сравнению с нормальными женщинами, они имеют регулярный менструальный цикл и могут рожать детей.

У других женщин с синдромом трисомии XXX отмечается нерегулярность менструального цикла, спонтанные аборты, бесплодие, ранний климакс.

Перечисленные симптомы свидетельствуют об эндокринном дисбалансе, имеющемся в организме этих женщин, и в первую очередь о нарушении функций яичника.

Описана женщина с 48 хромосомами, из них четыре хромосомы X. У таких женщин в клетках эпителия обнаруживаются 3 тельца Барра.

Синдром Клайнфельтера

Клиническим проявлением полисомии по половым хромосомам у фенотипических мужчин является синдром Клайнфельтера, описанный в 1942 г.

Хромосомная этиология этого синдрома установлена в 1959 г. (рис. 212). Цитогенетически синдром проявляется в виде полисомии по X-хромосоме при моносомии по Y-хромосоме.

I. 47 — XXУ; 48 — XXXУ; 49 — XXXХУ.

II. Полисомия по Y-хромосоме при моносомии по X-хромосоме: 47 — ХУУ; 48 — ХУУУ.

III. Полисомия как по X-хромосоме, так и по Y-хромосоме: 48 — ХХУУ; 49 — ХХХУУ.

Несмотря на множество цитогенетических вариантов, клиническая картина этих индивидумов, имеющая некоторые особенности при различных генотипах, в то же время отражает общие черты, свойственные синдрому.

Наблюдается у лиц с мужским фенотипом.

Наиболее характерным патологическим признаком

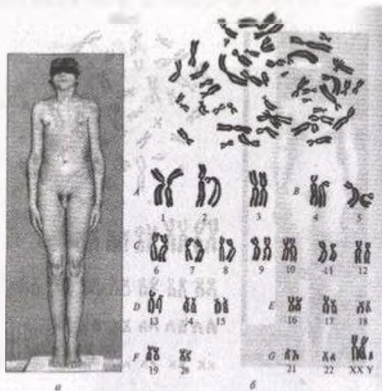


Рис. 212. Синдром Клайнфельтера

синдрома Клайнфельтера является нарушение функций мужских половых желез — семенников, которые частично или полностью атрофированы. Семенники, расположенные в мошонке, значительно уменьшены в размерах. Подавляющее большинство больных бесплодно. У большинства больных обнаруживается половой хроматин, свойственный женщинам.

Ввиду отсутствия характерных симптомов, синдром Клайнфельтера редко диагностируется до периода полового созревания. Недостаточная гормональная активность семенников обычно наблюдается в период полового созревания, и возникающий в результате этого гормональный дисбаланс ведет к ненормальному для мужчины половому и физическому развитию, появлению ряда черт, свойственных женскому организму (узкие плечи, широкий таз), отложение жира по женскому типу, оволосение также по женскому типу.

После полового созревания нередко увеличивается грудная железа (гинекомастия).

Особый интерес представляют аномалии ХУУ и ХХУУ. Лишняя Y-хромосома повышает рост мужчины примерно на 12 см.

Синдром Шерешевского — Тернера

Единственно известной моносомией по половым хромосомам у человека является моносомия по X-хромосоме: XO (45) (рис. 213).

Впервые синдром был описан в 1925 г. Н.А. Шерешевским, а затем более детально изучен Тернером в 1938 г.

Эта аномалия наблюдается у лиц фенотипически женского пола с задержкой роста и полового развития, с недоразвитыми внутренними половыми органами. Наиболее характерной чертой является отсутствие гонад.

На месте обычного расположения гонад при лапаротомии находят недифференцированный зачатковый тяж беловатого цвета.

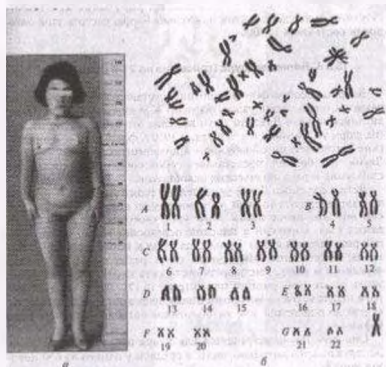


Рис. 213. Синдром Шерешевского — Тернера

Отсутствие гонад является причиной плохого развития или отсутствия вторичных признаков во время полового созревания.

Одной из особенностей больных с этим синдромом является склонность к преждевременному старению: обычно они выглядят старше своего возраста.

У большинства таких женщин не бывает менструации, все они, как правило, бесплодны.

Строение тела непропорционально: длина верхней половины туловища значительно больше нижней.

Часто больные имеют короткую шею. Широкие кожные складки, образующиеся на шее, придают им облик, напоминающий голову сфинкса.

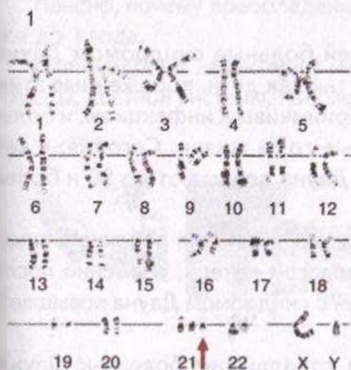
Определенных данных в отношении интеллекта у женщин с синдромом Шерешевского — Тернера пока нет, но у некоторых из них снижены умственные способности.

В ядрах клеток слизистой оболочки полости рта у таких женщин отсутствует тельце Барра. Следовательно, они являются хроматинотрицательными.

Частота — 1:3000.

Синдром Дауна — трисомия по 21-й хромосоме

Впервые особую форму идиопатии, сочетающуюся с аномалиями развития, описал французский психиатр Эскироль в 1838 г.



2



Рис. 214. Синдром Дауна

В 1866 г. английский врач Лэнгдон Даун выделил это заболевание из других форм умственной отсталости.

В 1959 г. французский цитогенетик Жером Лежен обнаружил хромосомную природу болезни Дауна. Причиной болезни является трисомия по 21-й хромосоме (лишняя 21-я хромосома), т.е. нерасхождение 21-й пары хромосом, которая возникает либо при гаметогенезе во время мейоза, либо на ранних стадиях дробления зиготы. Кариотип больного в данном случае 47, 21+. При транслокационном варианте только часть 21-й хромосомы может присоединиться к гомологичной 21-й хромосоме или негомологичной 15-й хромосоме (рис. 214). Болезнь Дауна представляет собой сочетание врожденного слабоумия и ряда физических пороков развития. Дети с болезнью Дауна удивительно схожи между собой. Больных характеризует низкий рост, маленькая круглая голова, плоский затылок, своеобразное лицо (косой разрез глаз, короткий, с плоской переносицей нос).

Рот у таких больных обычно полуоткрыт, язык толстый, неповоротливый. Пальцы на руках и ногах укорочены, мизинцы искривлены.

Мышечный тонус резко снижен, больные неуклюжи и вялы.

Умственная отсталость таких детей выражена очень резко, речь развита плохо.

Встречается как у мужчин, так и у женщин. Обнаруживается довольно часто, в среднем у одного из 700—800 новорожденных.

Раньше среди взрослых людей больные синдромом Дауна встречались чрезвычайно редко, так как дети, пораженные этим врожденным недугом, очень восприимчивы к инфекциям, и большинство из них погибали в первые годы жизни. Сегодня, в век антибиотиков, люди с болезнью Дауна доживают до 50 и более лет.

Статистика показала, что опасность рождения ребенка с синдромом Дауна увеличивается с возрастом матери, особенно после 35—37 лет частота рождения детей с синдромом Дауна повышается до 1%.

У матерей старше 40 лет дети, страдающие болезнью Дауна, рождаются в 20 раза чаще, чем у матерей моложе 30 лет.

Синдром Патау — трисомия по 13-й хромосоме

Частота встречаемости синдрома Патау составляет 1:5000—1:7000 и связана с нерасхождением хромосом при мейозе у одного из родителей.

Синдром Патау характеризуется множественными пороками развития головного мозга и лица. Такие дети доживают, как правило, до 1 года. Типичный признак синдрома — это расщепленные верхняя губа и нёбо (рис. 215). Большинство больных умирают в первые недели или месяцы жизни.



Рис. 215. Синдром Патау

Синдром Эдвардса — трисомия по 18-й хромосоме

Частота встречаемости синдрома 1:7000—1:8000.

Соотношение мальчиков и девочек — 1:3.

Неясно, почему преобладание девочек. В 90% больные погибают до 1 года.

Для синдрома характерны множественные пороки черепа, лица, сердца, костной системы, половой системы (рис. 216).



Рис. 216. Синдром Эдвардса

Синдром кошачьего крика

В 1963 г. Джером Лежен описал случай рождения ребенка с делецией участка короткого плеча хромосомы 5 (рис. 217). У новорожденных с синдромом кошачьего крика наблюдается множество отклонений: поражается сердечно-сосудистая система, кишечный тракт и желудок, выражена умственная отсталость. Аномалия развития гортани и голосовых связок обуславливает крик ребенка, который похож на мяуканье кошки.

Синдром кошачьего крика встречается 1:50 000 новорожденных.

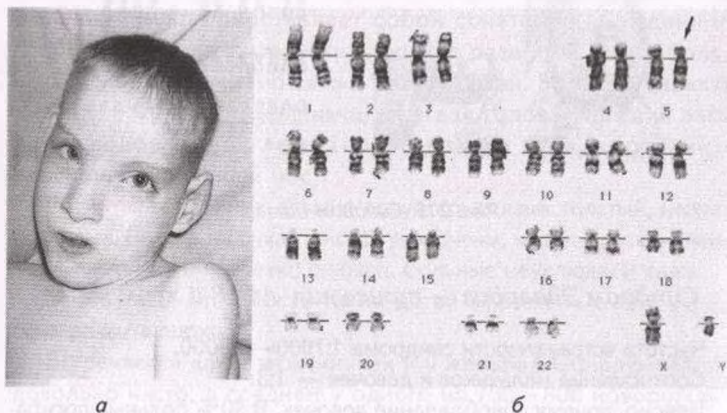


Рис. 217. Синдром кошачьего крика (*Cri-du-chat*). (А) — пациент с синдромом кошачьего крика, (Б) — кариотип ребенка с синдромом кошачьего крика 46 XY(5p-). Стрелкой указана делеция в коротком плече хромосомы 5

Болезни с наследственной предрасположенностью

Эти болезни связаны с наследственными факторами (мутациями) и факторами среды.

Наследственная предрасположенность к болезни может иметь полигенную или моногенную основу.

Моногенные болезни с наследственной предрасположенностью связаны с мутацией одного гена.

Полигенные болезни определяются сочетанием нескольких генов.

К ним относятся психические и нервные болезни, шизофрения, эпилепсия, маниакально-депрессивный психоз, рассеянный склероз и др.

Соматические болезни среднего возраста: псориаз, бронхиальная астма, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, коронарная болезнь сердца, гипертоническая болезнь, диабет.

Генетические болезни соматических клеток выделены в отдельную группу наследственной патологии недавно. Поводом к этому послужило обнаружение при злокачественных новообразованиях специфических хромосомных перестроек в клетках, вызывающих активацию онкогенов (ретинобластома, опухоль Вильмса).

Болезни, возникающие при несовместимости матери и плода по антигенам, развиваются в результате иммунологической реакции матери на антигены плода.

Наиболее типичным и хорошо изученным заболеванием этой группы является гемолитическая болезнь новорожденных, возникающая в результате несовместимости матери и плода по Rh-антигену. Болезнь возникает в тех случаях, когда мать имеет Rh-отрицательную группу крови, а плод унаследует Rh⁺ аллель от отца.

Иммунологические конфликты различаются и при несовместимых комбинациях по антигенам группы ABO между матерью и плодом.

Митохондриальные болезни

Митохондриальные болезни — большая группа наследственных заболеваний, обусловленных нарушением структуры и биохимических процессов в митохондриях. Кольцевые ДНК митохондрий содержат гены, кодирующие белки, входящие в состав ферментных комплексов дыхательной цепи митохондрий, гены тРНК и рРНК митохондрий. Синтез большинства белков, участвующих в процессе окислительного фосфорилирования, находится под контролем ядерных генов. Наследственные заболевания,

обусловленные нарушениями энергетических процессов в митохондриях, могут быть вызваны мутациями как в митохондриальном, так и в ядерном геноме. При мутации в ядерных генах наблюдается наследование признака по Менделю. Описаны митохондриальные заболевания с аутомсомно-доминантным и аутомсомно-рецессивным типом наследования. Отклонения от менделевских законов характерны для заболеваний, обусловленных мутациями в митохондриальном геноме. Для митохондриальных заболеваний характерен материнский тип передачи, так как показано, что все митохондрии имеют материнское происхождение и получены человеком в составе цитоплазмы яйцеклетки матери. Отцовские митохондрии, находящиеся в сперматозоиде, при оплодотворении не попадают в зиготу.

Митохондриальные заболевания характеризуются значительным разнообразием клинических проявлений. Наиболее характерными являются задержка физического развития, поражения различных отделов нервной системы, миопатии и кардиомиопатии, печеночная недостаточность. Примерами митохондриальных заболеваний являются митохондриальная миопатия и кардиомиопатия, синдром Кейрнса—Сейра (пигментная дегенерация сетчатки, офтальмоплегия, кардиомиопатия) и др.

Болезни экспансии тринуклеотидных повторов

Болезни экспансии тринуклеотидных повторов — группа наследственных заболеваний, объединенных на основе общего молекулярного механизма их возникновения. В регуляторной или кодирующей части гена могут возникать так называемые динамические мутации. Эти мутации связаны с изменением числа копий тринуклеотидов. Такой тип мутации обнаружен только у человека. Появление клинических признаков наблюдается лишь тогда, когда число повторов превысит критический уровень. Механизмы возникновения этого типа мутации до конца не изучены. Предполагается, что они возникают в результате нарушения функции ДНК-полимеразы во время репликации ДНК в митозе или в мейозе. Примером таких заболеваний является *хорея Гентингтона*. У больных наблюдается наследственная нейродегенерация с поздним началом и неуклонным прогрессированием. В течение 5—10 лет оно приводит к полной потере двигательных и умственных способностей или это заболевание начинается с возраста

40—50 лет. Ген, отвечающий за это заболевание, расположен в коротком плече хромосомы 4. Он кодирует белок хантингтин, играющий важную роль в функционировании мозга. В кодирующей части гена возникает мутация, приводящая к увеличению числа повторов ЦАГ. Это приводит к увеличению числа глутаминовых остатков в структуре соответствующего белка. Число повторов у больных колеблется в интервале от 40 до 80. Частота хорей Гентингтона в популяции составляет 1:10 000.

Методы изучения генетики человека

Особенности генетики человека состоят в следующем:

- 1) позднее половое созревание и длительная смена поколений (-30 лет);
- 2) малое количество потомков;
- 3) сложный кариотип (много хромосом и групп сцеплений);
- 4) на людях запрещены экспериментальные браки;
- 5) социальное неравенство.

Существенным фактором, облегчающим задачи изучения генетики человека, служат многочисленные и многолетние данные по анализу различных признаков:

- 1) генеалогический;
- 2) близнецовый;
- 3) цитогенетический;
- 4) популяционно-статистический метод;
- 5) метод генетики соматических клеток;
- 6) биохимический;
- 7) метод дерматоглифики;
- 8) молекулярно-генетический метод;
- 9) методы пренатальной диагностики;

1. Генеалогический метод

Метод введен в конце XIX в. Ф. Гальтоном. Он основан на составлении и анализе родословных. Условные обозначения введены в 1931 г. Г. Юстом, которые используются и сегодня (рис. 218). Составление родословной ведется с использованием символов путем опроса. Путем генеалогического анализа выясняется тип наследования признаков. Человек, родословную которого изучают, называется пробанд. Братья и сестры обозначаются как сибсы.

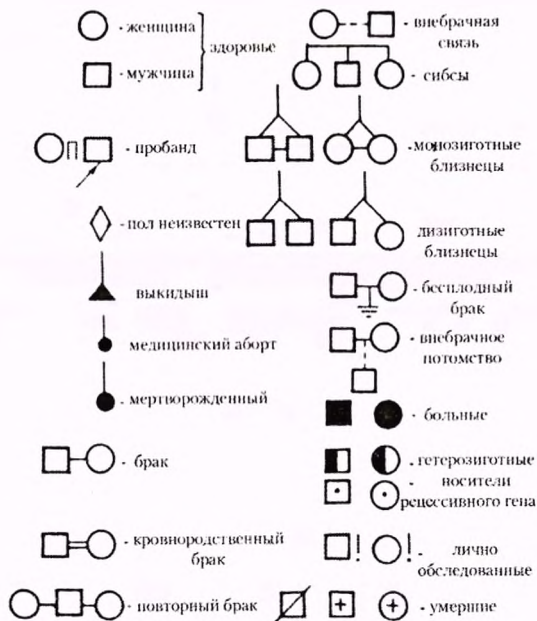


Рис. 218. Символы, используемые при составлении родословной

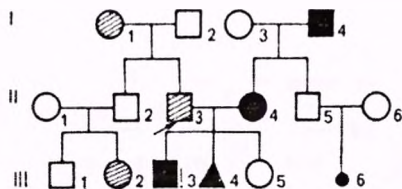


Рис. 219. Родословная семьи с сахарным диабетом, с синдромом Марфана

Генеалогический метод может быть использован не только в диагностических целях. Он позволяет прогнозировать вероятность проявления признака в потомстве и имеет большое значение для предупреждения наследственных болезней (рис. 219).

2. Близнецовый метод

Этот метод позволяет оценить роль наследственности и среды в развитии признака. Близнецы бывают монозиготными и дизиготными. Монозиготные близнецы развиваются из одной оплодотворенной яйцеклетки (зиготы). В результате деления зиготы на стадии дробления, два, четыре, восемь бластомеров при обособлении сохраняют способность развиваться в полноценный организм. Зигота делится митозом, поэтому монозиготные близнецы имеют одинаковые генотипы всегда одного пола; имеют высокую степень сходства (конкордантность) по многим признакам, различие их признаков зависит только от факторов среды.

Дизиготные близнецы рождаются из двух или более одновременно овулировавших и оплодотворенных разными сперматозоидами яйцеклеток. Дизиготные близнецы имеют разные генотипы, могут быть одного или разного пола. Они сходны между собой не более чем братья и сестры, рожденные порознь. Характеризуются дискордантностью — несходством по многим признакам. Благодаря одновременному рождению и воспитанию имеют общие условия среды. Различие в проявлении признаков в основном связано с генотипом. Для доказательств роли наследственности сравнивают доли процента конкордантных пар (одинаковых по конкретному признаку) среди моно- и дизиготных близнецов (рис. 220).

3. Цитогенетический метод

Цитогенетический метод применяется для изучения кариотипа человека. Метод включает экспресс-диагностику пола (*X*- и *Y*-хроматина) и *кариотипирование* — определение количества и строения хромосом с целью диагностики хромосомных болезней (геномных мутаций, хромосомных aberrаций). Материалом для цитогенетического исследования могут быть клетки периферической крови (лимфоциты); клетки, полученные при аминоцентезе или биопсии хориона.

Экспресс-диагностика — это исследование полового *X*-гетерохроматина (тельца Барра) в ядрах клеток слизистой оболочки ротовой полости или в других клетках. В норме у женщин, имеющих две *X*-хромосомы, одна инактивируется, образуя гетерохроматиновую глыбку в ядре — тельце Барра. У мужчин (*XY*) ее нет.

Мужской *Y*-половой хроматин (F-тельце) определяют путем специального окрашивания и просмотра в люминесцентном микроскопе. *Y*-хроматин выделяется как сильно светящаяся точка. Число *Y*-телец соответствует числу *Y*-хромосом в кариотипе.



Идентичные близнецы Ломс и Луиз.

Две девочки были разделены родителями в возрасте 9 дней и воспитывались порознь. За исключением кратких встреч, они не общались друг с другом до поступления в колледж в возрасте 18 лет [Srb et al., 1965. P. 518]

Признаки	Конкордантность, %	
	у одно- яйцевых близнецов	у разно- яйцевых близнецов
<i>Нормальное развитие</i>		
Группы крови	100	64
Форма бровей	100	51
Цвет глаз	99,5	28
Цвет волос	97	23
Папиллярные линии кистей рук	92	40
<i>Патология</i>		
Косолопость	23	2
Грыжа спинного мозга	77	33
Синдром Дауна	89	7
Рахит	88	22
Паралитический полиомелит	36	6
Корь	95	87
Скарлатина	84	47
Дифтерия	50	38
Рак	16	14
Эпилепсия	67	3
Слабоумие	91	53
Шизофрения	80	13
Маниакально-депрессивный психоз	77	19

Рис. 220. Конкордантность некоторых признаков человека у близнецов

Кариотипирование — это анализ фотокариограммы. Для анализа кариотипа хромосомы располагают по группам в виде идиограммы.

Идиограмма — это систематизированный кариотип.

4. Популяционно-статистический метод

Этот метод широко применяют при изучении наследственных болезней человека в популяциях, т.е. распространение тех или иных генов на определенной территории. Существенным моментом при использовании этого метода является статистическая обработка полученных данных. Популяционно-статистический метод позволяет рассчитать в популяции частоту нормальных и патологических генов в генотипе: гетерозигот, доминантных и рецессивных гомозигот.

5. Метод генетики соматических клеток

Эта дисциплина изучает наследственность и изменчивость соматических клеток, используя культуру клеток различных тканей и органов. Существуют следующие методы генетики соматических клеток человека:

1) *простое культивирование*;

2) *гибридизация* — слияние клеток разных типов (например, клетки «человек—мышь» постепенно теряют хромосомы; можно устанавливать группы сцепления по одновременно исчезающим признакам);

3) *клонирование* — получение потомков одной клетки, например, гибридом. *Гибридома* — это клеточный гибрид, полученный путем слияния нормального лимфоцита и опухолевой клетки; производит моноклональные антитела одного типа;

4) *селекция* — отбор клеток с заранее заданными свойствами.

6. Биохимический метод

Основан на изучении обмена веществ (ферментов, аминокислот, гормонов и т.д.). Наследственные болезни обмена веществ подразделяются на болезни углеводного обмена, обмена аминокислот, липидов.

С помощью биохимических методов уже в первые месяцы жизни можно выявить концентрацию фенилаланина в сыворотке крови, снижение и даже отсутствие функции щитовидной железы, сахарный диабет и т.д.

7. Метод дерматоглифики

Представляет собой изучение капиллярных узоров пальцев, ладоней, стоп. Дерматоглифические узоры высоко индивидуальны и не меняются в течение всей жизни. Дерматоглифический анализ позволяет определить зиготность близнецов, идентификацию личности в криминалистике.

8. Молекулярно-генетический метод

Это большая и разнообразная группа методов, в конечном счете предназначенных для выявления вариаций в структуре исследуемого участка ДНК (аллеля, гена, региона хромосомы) вплоть до расшифровки первичной последовательности оснований. Получение образцов ДНК (или РНК) является исходным этапом всех методов. В большинстве случаев для успешной диагностики болезни или гетерозиготного состояния достаточно исследовать лишь небольшой фрагмент генома. Поэтому для проведения анализа необходимо получить достаточное количество таких фрагментов, т.е. амплифицировать (умножить) их.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — это метод амплификации ДНК в условиях *in vitro*. Один из наиболее распространенных методов молекулярно-генетической диагностики. В течение нескольких часов можно размножить определенную последовательность ДНК в количестве, превышающем исходное в миллион и бо-

лее раз. Следовательно, исходно требуется очень незначительное количество материала.

Существуют и другие молекулярно-генетические методы. Среди них можно назвать методы определения нуклеотидной последовательности (секвенирование) генов, прямая детекция мутантных генов, полиморфизм длины рестрикционных фрагментов, определение первичного продукта гена и др.

**Молекулярно-генетические технологии
в диагностике наследственных болезней**

Метод	Диагностируемые болезни (примеры)
Определение нуклеотидной последовательности (секвенирование) генов Прямая детекция мутантных генов	Гемофилии, тромбофилии, гемоглобинопатии, митохондриальные болезни Муковисцидоз, умственная отсталость с ломкой X-хромосомой, фенилкетонурия, миопатия Дюшенна
Генетический анализ полиморфизма ДНК родителей и ребенка (сцепление генов)	Около 300 наследственных болезней, включая упомянутые выше
Определение первичного продукта гена	Миопатия Дюшенна, болезни накопления (лизосомные, пероксисомные)

9. Методы пренатальной диагностики

Для пренатальной, т.е. дородовой, диагностики наследственных заболеваний у будущего ребенка используют методы биопсии хорионов, амниоцентеза, хориоцентеза.

На 14—16-й неделях беременности производят отбор амниотической жидкости под контролем ультразвукового исследования (рис. 222). Биопсия хорионов позволяет выявить нарушения несколько ранее — на 9—11-й неделях беременности. Данное исследование производится цитогенетическими, молекулярно-генетическими методами. Цитогенетические методы исследования позволяют выявить хромосомные aberrации у плода, биохимические методы определяют активность ферментов или концентрацию некоторых продуктов метаболизма. В амниотической жидкости определяют белок-альфафетопротеин (АФП). АФП — гликопротеид, продуцирует печень

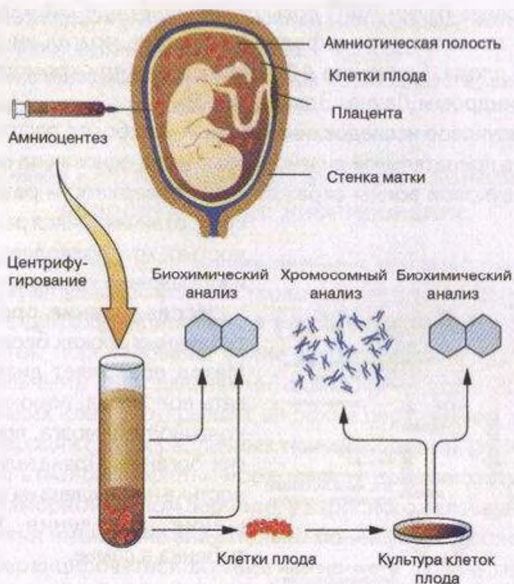


Рис. 221. Амниоцентез и методы пренатальной (до рождения) диагностики хромосомных и биохимических нарушений



Рис. 222. Отбор пробы амниотической жидкости у беременной женщины для пренатальной диагностики хромосомных или биохимических нарушений

плода. Уровень белка-АФП повышается при ряде аномалий развития плода, таких как анэнцефалия (отсутствие мозга), внутриутробная гибель плода. Снижение АФП происходит при хромосомной патологии (синдромы Дауна, Эдвардса и др.).

Ультразвуковое исследование плода — наиболее распространенный метод в пренатальной диагностике. Метод основан на способности ультразвуковой волны отражаться от поверхности раздела двух сред, отличающихся разной плотностью, что позволяет получить изображение на экране.

Исследование проводят на различных сроках беременности. Метод позволяет диагностировать пол плода, пороки развития конечностей, мозга, почек и других органов. Пренатальная диагностика направлена на предотвращение появления больного ребенка в семье.



Рис. 223. Получение инсулина методом генной инженерии и биотехнологии

Использование методов молекулярной биологии и генетики в медицине

Получение инсулина

Инсулин человека — первый человеческий белок, полученный с помощью метода генетической инженерии и использующийся для лечения болезней. Сейчас он используется в очень больших масштабах для людей, страдающих сахарным диабетом. Инсулин человека, полученный с помощью технологии рекомбинантной ДНК (рис. 223) дает значительно меньше побочных эффектов, чем инсулин, приготовленный из экст-

рактыв поджелудочной железы свиньи или коровы, которые ранее были основным источником инсулина.

Таким же методом были получены гормон роста, вакцины, белок шелка и др.

Стволовые клетки, терапевтическое клонирование, репродуктивное клонирование

В течение первых двух недель развития человеческого эмбриона существуют универсальные стволовые клетки — тотипотентные, способные дифференцироваться в любой из приблизительно 260 типов клеток тела человека. Такие стволовые клетки называются эмбриональными (зародышевыми) стволовыми клетками. Использование таких клеток открывает широкие перспективы для успешной регенерации самых различных тканей и органов (рис. 226, 227).

Однако стволовые клетки продолжают существовать у человека и в постэмбриональном периоде, у взрослого человека. Эти стволовые клетки имеют уже значительно более узкий потенциал и могут дифференцироваться во многие, но не в любые типы клеток организма. Такие стволовые клетки называются плюрипотентные. Типичным примером являются стволовые клетки красного костного мозга. Эти клетки дают начало всем типам клеток крови.

В любом организме в норме присутствует определенное количество стволовых клеток. Именно они обеспечивают возможность как физиологической, так и репаративной регенерации организма в любом возрасте.

Однако с возрастом общее число различных стволовых клеток снижается. Последние достижения в биотехнологии, в том числе в медицинской, представляют альтернативный путь получения эмбриональных стволовых клеток, которые могут быть использованы для трансплантации тканей и органов. Такие ткани и органы могут иметь максимальную идентичность, и риск отторжения при трансплантации будет минимальным. Процедура получения соответствующих тканей или органов называется терапевтическим, или нерепродуктивным, клонированием. Существует несколько технологий, позволяющих создавать пациент-специфические эмбриональные стволовые клетки. К ним относятся перенос ядра соматической клетки, метод партеногенеза, перенос цитоплазмы яйцеклетки и другие.

Рис. 224. Овечка (слева), развившаяся из клетки молочной железы, взятой от овцы беломордой породы и трансплантированной в овцу черномордой породы (справа)

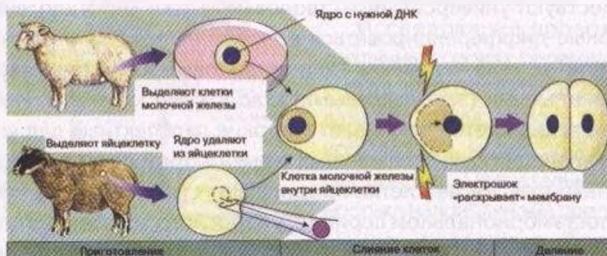


Рис. 225. Эксперимент Уилмута по клонированию животных. Уилмут подсаживал ядро из клетки молочной железы в энуклеированную яйцеклетку для получения клона овцы, названной Долли, которая выросла в нормальное взрослое животное и произвела здоровое потомство

При переносе ядра соматической клетки обычная соматическая клетка (например, эпителий кожи) помещается рядом с яйцеклеткой, у которой удалено ядро. Под воздействием электрического импульса происходит слияние клеток, и яйцеклетка активируется. Происходит перепрограммирование ДНК соматической клетки. Клетка приходит

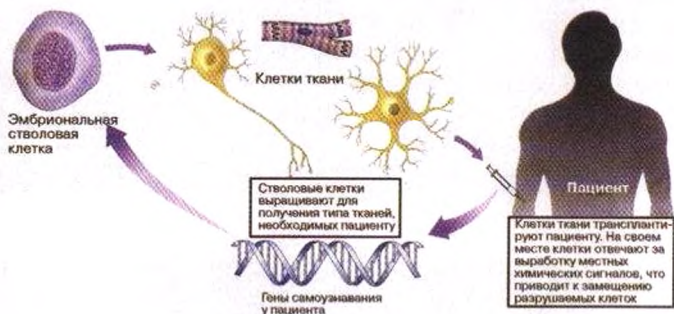


Рис. 226. Использование эмбриональных стволовых клеток для восстановления разрушенной ткани

в зародышевое состояние (зиготы) и начинает делиться. В течение нескольких дней происходит формирование бластулы (бластоцисты из 100—250 клеток). Из бластоцисты изолируют зародышевые клетки и культивируют на специальных средах, добываясь дифференцировки в те или иные необратимые типы клеток.

Клетка пациента сливается с яйцеклеткой донора, у которой удалено ядро. Зародышевые стволовые клетки выделяют из бластоцисты и выращивают на специальных средах. Важной характеристикой полученных таким путем стволовых клеток является активация фермента теломеразы. Активность этого фермента приводит к удлинению тело-

мерных участков хромосом. Известно, что в зрелых клетках происходит укорачивание теломер, что приводит к ограничению способности делиться, старению, гибели клетки. В полученных ЭСК теломеры удлинены до исходного состояния. Эта технология позволяет получать омоложенные здоровые клетки для пересадки, генетически идентичные клеткам пациента. Другим важным направлением является получение специфических дифференцированных типов клеток и тканей и их трансплантация пациенту. Дифференцировка в различные ткани, например кардиомиоциты, кровь и другие, происходит спонтанно при культивировании на средах. Некоторые химические вещества, например ретиноевая кислота, могут индуцировать дифференцировку ЭСК в нервные клетки. Поиск таких регуляторов продолжается.

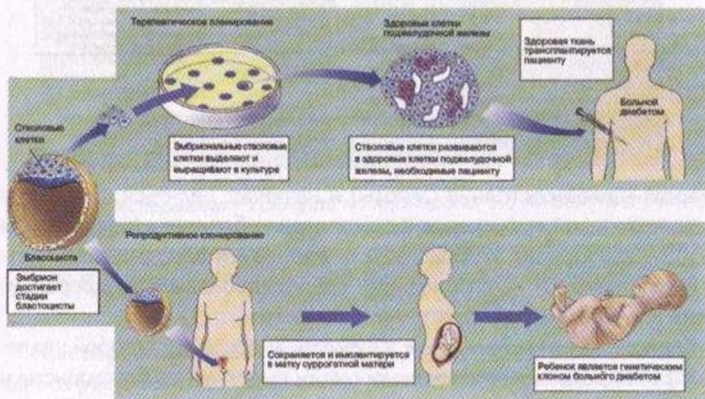
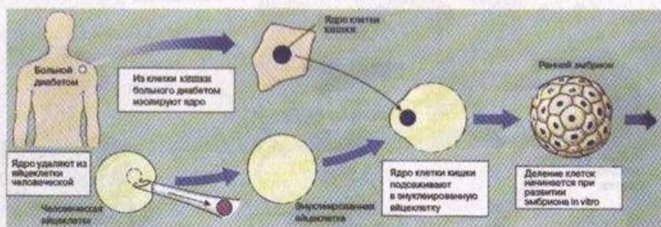


Рис. 227. Терапевтическое клонирование, репродуктивное клонирование

Терапевтическое клонирование отличается от репродуктивного клонирования тем, что после сходных начальных стадий образующийся эмбрион разрушается и выделяются эмбрионально стволовые клетки, выращиваемые в культуре и добавленные к тканям индивидуума, у которого брали ДНК. При репродуктивном клонировании, напротив, эмбрион сохраняется для имплантации и выращивания в суррогатной матери. Именно эта процедура была использована при клонировании овцы Долли. Клетки человека впервые были клонированы в ноябре 2001 г. с целью получить стволовые клетки для техники терапевтического клонирования, как показано на рис. 227.

Принцип генной терапии

В настоящее время известно более 4000 наследственных заболеваний человека, и только некоторые из них можно лечить постоянной терапией. Для многих из этих болезней отсутствующий или дефектный генный продукт может быть применен экзогенно, как, например,

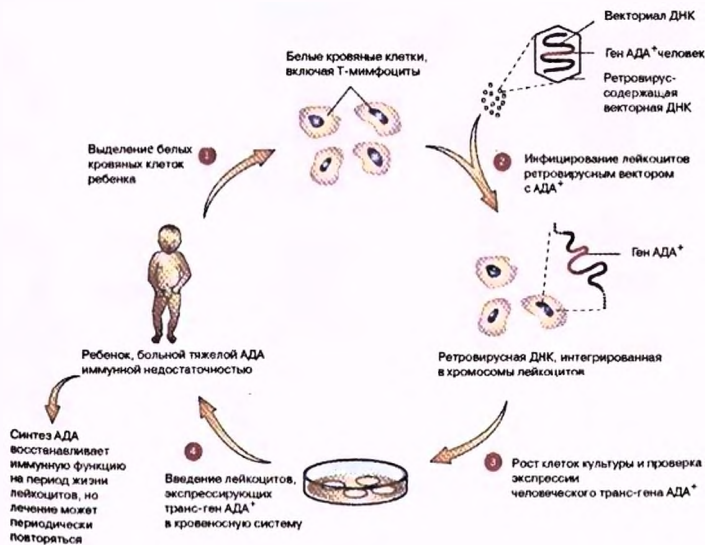


Рис. 228. Принцип генной терапии.
Лечение тяжелой иммунной недостаточности

инсулин применяется для диабетиков. Большинство ферментов являются нестабильными и не могут быть доставлены к месту действия в активной форме, кроме того, клеточные мембраны являются непроницаемыми для больших макромолекул, таких как белки, следовательно, ферменты должны синтезироваться в тех клетках, где они необходимы. Таким образом, лечение наследственных заболеваний ограничивается теми случаями, когда отсутствующий метаболит является небольшой молекулой, которая может попасть в соответствующие ткани тела через систему кровообращения. Для многих наследственных заболеваний генная терапия предлагает наиболее перспективный подход для успешного лечения. Генная терапия предполагает использование введения нормальной копии генов в геном индивидуума (рис. 228), несущего дефектные копии гена. Ген, который вводится в клетку и в организм, называется трансгеном, и организм, несущий введенный ген, называется трансгенным. Если генная терапия успешна, то трансген будет синтезировать недостающий генный продукт и восстанавливать нормальный фенотип.

Глава XIII

ГЕНОМИКА

Термин «геном» впервые был введен немецким ботаником Гансом Винклером для обозначения гаплоидного набора хромосом.

Основная функция генома — обеспечивать жизнедеятельность клеток, тканей и органов и передавать информацию о наследственных свойствах организма следующим организмам. В геноме не все его участки транскрибируются. Геномы прокариот и эукариот имеют сходства, но есть между ними и принципиальные различия. Наука, изучающая геномы всех организмов, называется геномикой.

Геном прокариот

Геном прокариот практически целиком состоит из генов и примыкающих к ним регуляторных элементов. Размер ДНК типичного представителя прокариот кишечной палочки *E. coli* составляет 4×10^6 п.н. Максимальный размер генома прокариот не превышает 8×10^6 п.н., что намного меньше, чем у эукариот. Плотность генов в геноме прокариот значительно выше, чем в геноме эукариот. Количество хромосомной ДНК, приходящейся на один ген, у бактерий — 1000 п.н., у дрожжей — 2000 п.н., у человека — 30 000 п.н. У прокариот последовательности перед и после белок-кодирующей части короче, чем у эукариот. ДНК прокариот представлена кольцевой двухцепочечной суперспирализованной хромосомой (рис. 229).

В настоящее время определены геномы более чем у 400 бактерий. Определение нуклеотидной последовательности позволяет определить структуры генома и связанные с его функционированием такие процессы, как репликация, транскрипция, трансляция, регуляция и эволюция геномов. У прокариот — оперонный принцип организации функционирования генов, кодирующих близко-



Рис. 229

родственные белки. Часто последовательность расположения генов в опероне совпадает с последовательностью метаболических этапов. У большинства бактерий, кроме хромосом, в состав генома входят плазмиды, способные к автономной репликации. Это двухцепочечная кольцевая ДНК размером от 0,1 до 5%, несущая гены, такие как устойчивость к антибиотикам, и гены, способные перемещаться из плазмиды в геном хромосомы. Некоторые плазмиды передаются от одной бактерии другой при конъюгации, другие не способны к конъюгативному переносу. Плазмиды *E. coli* относятся к конъюгативным и переносят *F*- и *R*-гены.

В состав генома прокариот входят мобильные генетические элементы, они подразделяются на *IS*-элементы (*insertion sequence*) и транспозоны (*Tn*).

Геном эукариот

Под геномом эукариотического организма в настоящее время понимают суммарную ДНК гаплоидного набора хромосом и ДНК внехромосомных генетических элементов — митохондрий и хлоропластов. Размеры генома эукариот в среднем на 2—3 порядка выше, чем у прокариот (рис. 230). Эукариотическая клетка содержит не намного больше генов, чем прокариотическая. Самые маленькие геномы име-

ют одноклеточные организмы эукариот, например дрожжи, а самые крупные имеют амфибии и покрытосеменные растения.

Геном человека по размеру занимает среди млекопитающих среднее место. Одной из особенностей эукариотической клетки является и то, что большая часть генома ДНК эукариот представлена некодирующими последовательностями нуклеотидов. Так, в гетерохроматиновых и теломерных районах хромосом содержится много ДНК, которые не транскрибируются. Американские ученые Р. Бриттен и Э. Девидсон в конце 1960-х гг. открыли в геноме эукариот наличие последовательностей нуклеотидов разной степени повторяемости.

В настоящее время геном эукариот можно подразделить на две группы: одна группа нуклеотидных последовательностей — это последовательности, которые входят в состав генов и включают в себя уникальные и умеренно повторяющиеся последовательности. Вторая группа нуклеотидных последовательностей — ДНК не входит в состав генов и их регуляторных элементов. Они разбросаны по всему геному (диспергированные повторы) (рис. 231) и встречаются в большом количестве копий, их называют высокоповторяющимися последовательностями.

Уникальные последовательности

Уникальные последовательности представлены в геноме в одном экземпляре. Уникальные последовательности — это наиболее сложный компонент генома эукариот. У разных организмов протяженность уникальных нуклеотидных последовательностей составляет около 2% всей ДНК генома.

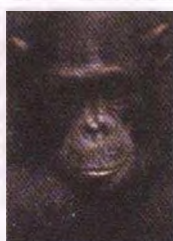
Во фракцию уникальных нуклеотидных последовательностей попадают многочисленные гены, кодирующие белки. Сюда же входят нуклеотидные последовательности интронов, размеры которых на порядок превышают размеры экзонов, содержащихся в гене. Кроме того, сюда относят псевдогены — это функционально неактивные гены, возникшие в результате мутаций обычных генов и в дальнейшем находящиеся в геноме, но в результате мутаций они не могут кодировать белки. Псевдогены — это исторические, археологические остатки прошлых генов. Псевдогены образуются двумя способами. В синтетический период интерфазы происходит удвоение генов, и в ходе данного процесса лишняя копия данного гена может включить дру-



1. *Homo sapiens* —
22 000 генов



2. *C. elegans* —
19 000 генов



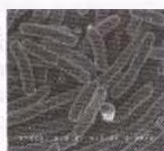
3. Шимпанзе —
1,2% различий
с геномом
человека



4. *Canis
domesticus* —
19 300 генов



5. *S. cerevisiae* —
6300 генов



6. *E. coli* —
4300 генов



7. *Danio rerio* —
22 000 генов



8. *Drosophila
melanogaster* —
13 600 генов



9. *Anopheles
gambiae* —
14 000 генов



10. *Mus
musculus* —
25 000 генов



11. *Arabidopsis
thaliana* —
25 000 генов

Рис. 230. Размеры геномов различных организмов

гую хромосомную область, что может привести к инактивации генов, превращая их в псевдогены. Новая копия гена способна появиться в результате обратной транскрипции: в ходе экспрессии гена мРНК она транскрибируется в ДНК, которая встраивается в геном. Такой процесс называют ретротранспозицией, и в нем участвует мобильный генетический элемент LINE. Дупликация и ретротранспозиция служат



Рис. 231. Схема расположения различных типов последовательностей в хромосоме

основными механизмами образования псевдогенов. Если в копии генов отсутствует такой важный элемент, как промотор, то этот ген становится псевдогеном. Те из них, что появились в результате дупликации всего гена, содержат как экзоны, так и интроны. В отличие от них, псевдогены, образовавшиеся в результате обратной транскрипции, не содержат интронов и называются процессированными псевдогенами.

Умеренно повторяющиеся последовательности

Умеренно повторяющиеся последовательности — до 1000 повторов в одном локусе, они представлены в геноме десятками или несколькими сотнями копий и участвуют в осуществлении жизненно важных общеклеточных функций. Это гены гистонов, тРНК, рРНК; их еще называют генами «домашнего хозяйства».

Большую группу умеренно повторяющихся последовательностей составляют подвижные (мобильные) генетические элементы. Они могут быть расставлены по всему геному или собраны в группы.

Высокоповторяющиеся последовательности

Высокоповторяющиеся последовательности — это последовательности (свыше 1000), представленные сателлитными (спутнико-

выми) ДНК. Сателлитные ДНК состоят из коротких тандемных повторов длиной 1—20 нм, организованных в блоки.

Главная повторяющаяся единица сателлитной ДНК, например у *D. melanogaster*, состоит из пяти или семи нуклеотидов: $(AATAT)_n$, $(AATAG)_n$, $(AATATC)_n$, $(AATAAC)_n$, $(AATAAC)_n$. Такие повторы называются микросателлитами. Другая последовательность сателлитной ДНК повторяется многократно, и повторы варьируются от 10 до 100 т.п.н., они называются мини-сателлитами. Мини- и микросателлитные тандемные повторы разбросаны по всему геному и представляют собой уникальную для каждой особи комбинацию по числу тандемных повторов в разных локусах и по числу таких локусов. У человека эти повторы используют в судебно-медицинской практике при исследовании индивидуальности особей и родственные связи любых живых существ. Таким образом, сателлитная ДНК образует протяженные геномные блоки. В хромосомах самых разных эукариот (дрозофила, млекопитающие) сателлитные ДНК преимущественно образуются в центромерных и теломерных районах хромосом. Это так называемые гетерохроматические районы, которые не экспрессируют образование РНК и белков. Локализация сателлитной ДНК в области центромеры указывает на выполняемую ею структурную функцию в хромосомах при митозе и мейозе и, возможно, связана с процессами расхождения хромосом. Количество некодирующих ДНК у разных организмов различно. У человека — 73—91%, у насекомых — 67, у цветковых растений — 69, у нематод — 75.

У растений и животных некодирующая часть ДНК является гетерогенным скоплением как одиночных, так и повторяющихся последовательностей (последовательности ДНК, производные от транспозонов).

Подвижные генетические элементы эукариот

Американская исследовательница Б. Мак-Клинтон в 1940-е гг. открыла существование гена, или локуса, который вызывал повышение частоты хромосомных перестроек у кукурузы. Как оказалось, этот ген может перемещаться из одного участка хромосомы в другой. Такое явление Мак-Клинтон назвала транспозицией. Сегодня мобильные элементы открыты у микроорганизмов, растений, животных и человека. Подвижные элементы, как правило, не су-

ществуют автономно, и для них характерно нахождение или в плазмидах, или в хромосомах. Мобильные генетические элементы, перемещаясь в хромосоме и генах, влияют на активность генов, расположенных рядом, и могут вызывать делеции, транслокации, транспозиции, инверсии, а также разрывы хромосом. В большинстве своем подвижные элементы прокариот и эукариот построены по сходному плану. В большинстве геномов эукариот встречаются транспозоны и производные от них последовательности. Например, короткие, разбросанные по геному ядерные элементы (*short interspersed nuclear elements* — SINE's) и длинные разбросанные ядерные элементы (*long interspersed nuclear elements* — LINE's), производные от ретротранспозонов и образующие большую часть генома человека. Ретротранспозоны представляют собой ДНК-последовательности, которые в процессе эволюции распространились через промежуточную ступень — РНК. Фермент — обратная транскриптаза — использует промежуточную ступень — молекулу РНК в качестве матрицы для синтеза новой копии ДНК, которая встраивается в хромосоме в новое место. SINE's и LINE's встречаются у разных видов эукариот, но наиболее хорошо они охарактеризованы у млекопитающих. Они образуют многие семейства, причем между членами одного семейства имеются различия в нуклеотидных последовательностях. Они разбросаны по геному. Наибольшее количество SINE's и LINE's-элементов расположено в областях, близких к теломерам хромосом. SINE's представляют собой короткие (100—500 нуклеотидов) повторяющиеся последовательности ДНК, разбросанные по геному. В геноме их присутствует от 100 до 1 млн копий. Нуклеотидные последовательности LINE's имеют большую длину (до 7000 нуклеотидов) и распределены по всему геному.

Геном человека

Геном человека состоит из 3164,7 миллиарда п.н. Большую роль в расшифровке генома человека сыграли молекулярные биологи К. Венгер и Ф. Коллинс (рис. 232). Основное количество ДНК генома человека локализовано в хромосомах — 99,5% и только 0,5% — в митохондриях. Геном митохондрий человека был секвенирован в 1981 г. и содержит 16 569 п.н. Средний размер одного гена — около 30 000 п.н., а самый большой сегодня ген — ген дис-



Рис. 232. Два основных участника в состязании по определению последовательности генома человека: Крейг Вентер и Френсис Коллинс



трофина — 2,7 миллиона п.н. Общее число генов человека предполагает 25 000 — 30 000. Идентифицировано более 19 000 псевдогенов.

Кодирующий белок ДНК в генах (экзоны) насчитывает только 1,2%, интроны — 21%, тогда как около 80% ДНК представлено повторяющимися нуклеотидными последовательностями различной протяженностью (рис. 234). Предполагают, что именно в повторяющихся участках геномной ДНК закодирована информация, обеспечивающая всю программу индивидуального развития. Другая особенность генома человека заключается в том, что структура генома людей разных национальностей, разных расовых и этнических групп на 99,9% идентична.

При секвенировании генов представителей белой, желтой и черной рас межиндивидуальная варибельность не превысила 0,1% и была обусловлена, главным образом, однонуклеотидными заменами — SNP (*single nucleotide polymorphisms*). Такие замены многочисленны, общее их число — 3,2 млн, и половина, 1,5 млн, всех SNP приходится на экспрессирующую часть генома.

В геноме человека присутствуют как короткие рассеянные последовательности, SINE's, так и длинные рассеянные последовательности LINE's. SINE's широко представлены семейством элементов Alu, встречающимся приблизительно в количестве 1 200 000 копий на геном, что составляет около 6% генома. Одна последовательность Alu встречается приблизительно на каждые 3000 п.н. на геном человека. Alu-последовательность является специфичной для генома приматов. Члены этого семейства имеют длину 300 п.н. и повторены в геноме от 300 000 до 500 000 раз. Около 3% генома человека приходится на долю этих повторов. Каждая Alu-последо-

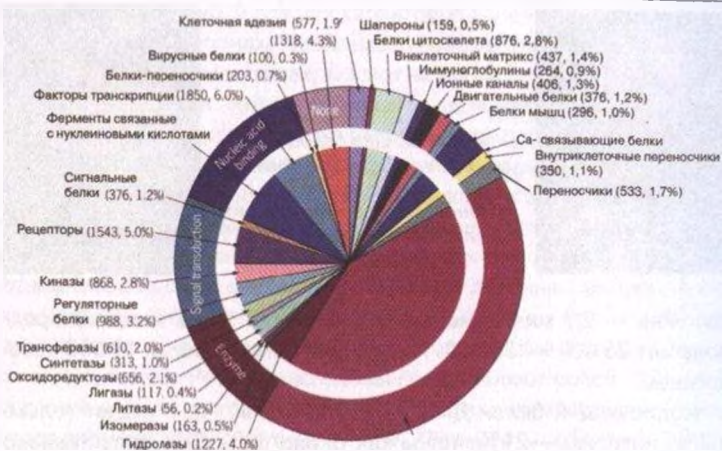


Рис. 233. Функциональная классификация 26 383 генов в геноме человека. Каждый сектор указывает число и процент генных продуктов

вательность фланкирована прямыми повторами длиной от 7 до 20 п.н. По этой причине полагают, что Alu-повторы являются мобильными элементами, скорее всего, ретротранспозонами. Одно из семейств, принадлежащих LINE's, это LINE-1 (или L1-элемент). Полагают, что в геноме человека присутствует 50—100 тыс. копий L1, т.е. он представляет около 5% генома. Максимальная длина этих элементов составляет 6500 п.н., хотя именно таких элементов в геноме не более 3500. L1-элементы имеют гомологию с известными обратными транскриптазами. Считают, что несколько очень редких случаев гемофилии обусловлены встраиванием последовательности L1 в ген VIII фактора свертывания крови, находящегося в X-хромосоме (рис. 234).

Геномная структура X- и Y-хромосом человека

X- и Y-хромосомы человека эволюционировали от пары предковых хромосом в течение последних 300 млн лет. В то время как X-хромосома сохраняет многие свойства аутосомы, Y-хромосома потеряла большую часть своих генов и сильно уменьшилась в раз-

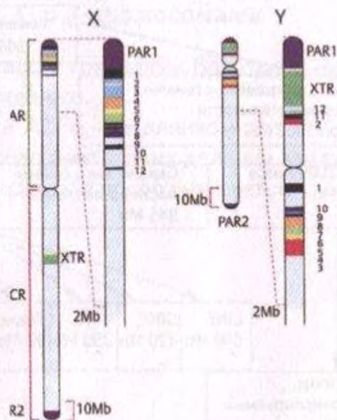


Рис. 234. Гомологии между X- и Y-хромосомами

мере. Ее генетическая функция в настоящее время ограничена индукцией развития мужчины во время эмбриогенеза и поддержанием сперматогенеза у взрослых мужчин. Две хромосомы подвержены спариванию и рекомбинации в дистальных концах их коротких плеч в *псевдоаутосомной области* (PAR1), тогда как другие области не участвуют в рекомбинации (рис. 234).

Большая часть короткого плеча (Xp) состоит из области, которая возникла из транслокации предковой аутосомы в Xp около 105 млн лет назад (X -добавочная область, XAR). Длинное плечо (Xq) состоит из области, которая осталась консервативной в ходе эволюции (XCR, X -консервативная область). X -хромосома человека содержит более 1000 генов, большинство из них не связаны с полом.

Структура генома Y-хромосомы человека

Y-хромосома человека имеет отличающуюся геномную структуру, представляющую пять различных областей в эухроматической части: две псевдо-аутосомных области в дистальных концах короткого (PAR1) и длинного плеч (PAR2), Y-специфический регион, определяющий мужской пол (MSY), около 35 т.п.н., около 8,6 Мб (38% эухроматической части), названной X -дегенерированной производной предковой аутосомы, 3,4 Мб производной от бывших X -сцепленных генов, образованных при транспозиции (X -transposed), которые возникли



Рис. 235. Структура генома человека

около 3—4 млн лет назад, 10,2 Мб амплифицированных Y-специфических последовательностей. Они, по-видимому, произошли от бывших XY-сцепленных генов, приобрели факторы мужской фертильности при транспозиции и ретроспозиции и называются амплионными, поскольку состоят из амплифицированных палиндромных последовательностей различного размера с замечательным сходством последовательностей ДНК 99,9% на всем протяжении молекулы ДНК (от 10 до сотен тысяч пар нуклеотидов). Они содержат как кодирующие, так и некодирующие гены. Большинство генов в амплионных сегментах экспрессируются исключительно в семенниках. Предположительно, эти гены необходимы для сперматогенеза.

Поскольку специфические последовательности, определяющие мужской пол на Y-хромосоме, не участвуют в кроссинговере, они защищены от механизма возникновения мутаций или структурных перестроек по сравнению с обычными последовательностями. Генная конверсия между этими палиндромными последовательностями (Y-конверсия) предположительно служит как механизм для сохранения нормальных последовательностей, которые были скомпенсированы нефункциональными последовательностями в одном плече палиндрома.

Гомология между X- и Y-хромосомами

X- и Y-хромосомы имеют области гомологии благодаря их общему эволюционному происхождению.

Три области — AZFa, AZFb и AZFc — в длинном плече Y-хромосомы связаны с мужским бесплодием при их делеции ввиду неспособности продуцирования нежизнеспособных клеток спермы (азооспермия).

Использованная литература

1. *Kent M.* Advanced Biology. Oxford: University press, 2000
2. *Pasarge E.* Color Atlas of Genetics, New York: Thieme Stuttgart, 2005.
3. *Raven P., Johnson G., Losos J., Singer S.* Biology. mcGraw Hill: Higher education, 2005.
4. *Айала Ф., Кайер Дж.* Современная генетика. М.: Мир, 1988.
5. Биология. Под ред. акад. РАМН проф. В.Н. Ярыгина. М.: Высшая школа, 2001.
6. *Бочков Н.П.* Клиническая генетика. М.: ГЭОТАР-Мед, 2001.
7. *Брей А., Льюис Дж., Рэфф М. Робертс К., Уотсон Дж.* Молекулярная биология клетки, в 3-х тт. М.: Мир, 1994.
8. Генетика. Под ред. акад. РАМН В.И. Иванова. М.: Академкнига, 2006.
9. *Дубинин Н.К.* Общая генетика. М.: Наука, 1970.
10. *Жимулев И.Ф.* Общая молекулярная генетика. Новосибирск, 2002.
11. *Коничев А.С., Севостьянова Г.С.* Молекулярная биология. М.: Академия, 2003.
12. *Сингер М., Берг П.* Генетика и геномика, в 2-х тт. М: Мир, 1998.
13. Современное естествознание, т. 8. М: Магистер-пресс, 2000.
14. Современное естествознание, т. 2. М.: Магистер-пресс, 2000.
15. Соросовский образовательный журнал, т. 6. 2000.
16. *Фогель Ф., Мотульски А.* Генетика человека, в 3-х тт. М.: Мир, 1990.
17. *Щипков В.П., Кривошенко Г.Н.* Общая и медицинская генетика. М.: Академия, 2003.